

Analytische Chemie

Festphasenmaterialien für die Analytik polarer organischer Analyten

Entwicklung und Charakterisierung mittels Linear Free-Energy Relationships
(LFERs)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung eines Doktorgrades
der Naturwissenschaften im Fachbereich Chemie und Pharmazie
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von
Sabine Werlich
aus Osnabrück

- 2000 -

Dekan:	Prof. Dr. Wulfhard Lange
Erster Gutachter:	Prof. Dr. Jan T. Andersson
Zweiter Gutachter:	Priv.-Doz. Dr. Uwe Karst
Tag der mündlichen Prüfung:	
Tag der Promotion:	

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Retentionsmodelle, Chemometrie und LFERs.....	5
2.1	Retentionsmodelle.....	7
2.1.1	Das Adsorptionsmodell	8
2.1.2	Das Verteilungsmodell	8
2.1.3	Die Solvophobe Theorie	10
2.2	Modelle stationärer Phasen und ihre Retentionstheorien	13
2.2.1	Das „flüssige Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell	13
2.2.2	Das „flüssig-kristalline Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell.....	15
2.2.3	Das „amorph-kristalline Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell	15
2.2.4	Das „monoschichtige Kohlenwasserstoffe“ Adsorptionsmodell	16
2.2.5	Das „isoliert solvatisierte Kohlenwasserstoffketten“ Modell (Solvophobe Theorie).....	17
2.3	Linear Free-Energy Relationships (LFERs).....	18
2.3.1	Was sind Linear Free-Energy Relationships (LFERs) ?	19
2.3.2	Analyt Deskriptoren basierend auf etablierten LFERs	20
2.3.3	Solvatochrome Parameter als empirische Analytdeskriptoren.....	21
2.3.4	Die generelle Solvatationsgleichung nach <i>Carr</i>	24
2.3.5	Die generelle Solvatationsgleichung nach <i>Abraham</i> (LSER-Modell)	26
2.4	Multiple Lineare Regression (MLR) und Clusteranalyse	31
2.4.1	Multiple Lineare Regression (MLR)	31
2.4.2	Clusteranalyse.....	32
3	Stand der Forschung.....	35
3.1	Festphasenmaterialien für die SPE und HPLC	35
3.1.1	Stationäre Phasen auf Kieselgel- und Aluminiumoxidbasis	36
3.1.2	Stationäre Phasen auf Polystyrenbasis	37
3.2	Charakterisierung von Festphasenmaterialien anhand LFER's.....	38
3.2.1	Charakterisierung von Festphasenmaterialien auf Kieselgelbasis	39
3.2.2	Charakterisierung von Festphasenmaterialien auf Polystyrenbasis	41
4	Problemstellung und Zielsetzung der Arbeit	43

5	Festphasenmaterialien auf Kieselgelbasis.....	45
5.1	Übersicht über die Verfahrensweise	45
5.2	Vorstellung und Synthese der verwendeten Festphasenmaterialien	47
5.2.1	Oktadecylsilyl-gebundenes 5µm Material für die HPLC (ODS-5µm)	47
5.2.2	Oktadecylsilyl-gebundenes 50µm Material für die SPE (ODS-50µm).....	47
5.2.3	Polyethersilyl-gebundenes 5µm Material für die HPLC.....	48
5.2.4	Phenylthiobutanosilyl-gebundenes 5µm Material für die HPLC (PBS)	51
5.2.5	Phenylsulfoxidbutanosilyl-gebundenes 5µm Material für die HPLC (PBSO)	52
5.2.6	Füllen und Konditionieren der HPLC-Säulen.....	52
5.2.7	Zusammenfassung und Übersicht über die verwendeten Festphasen-materialien	53
5.3	Bestimmung des Solvationsparameters „Retentionsfaktor“ ausgewählter acider Analyten in Abhängigkeit vom Laufmittel	54
5.3.1	Vorstellung der Analyten.....	54
5.3.2	Laufmittelbedingungen	55
5.3.3	Die Retentionsfaktoren	55
5.3.4	Elutionsreihenfolgen – ein Hinweis auf unterschiedliche und verschieden starke Wechselwirkungen.....	59
5.3.5	Zusammenfassung	61
5.4	Extrapolation von Retentionsfaktoren.....	62
5.4.1	Extrapolation von Retentionsfaktoren für die ODS-5µm-Phase.....	63
5.4.2	Extrapolation von Retentionsfaktoren für die PoEt-5µm-Phase.....	67
5.4.3	Extrapolation von Retentionsfaktoren für die PBS-5µm-Phase.....	71
5.4.4	Extrapolation von Retentionsfaktoren für die PBSO-5µm-Phase.....	73
5.5	Berechnung der LSER-Gleichungen für die fünf Festphasenmaterialien	75
5.5.1	Qualitative Analyse – Laufmittelabhängigkeit der Eigenschaften.....	75
5.5.2	Quantitative Analyse – Klassifizierung von stationären Phasen.....	86
5.6	Vorhersage chromatographischer Trennung acider Analyten und experimentelle Überprüfung..	101
5.7	Zusammenfassung	104
6	Festphasenmaterialien auf Polystyrenbasis.....	107
6.1	Übersicht über die Verfahrensweise	107
6.2	Vorstellung und Synthese der verwendeten Festphasenmaterialien	109
6.2.1	Die Friedel-Crafts-Acylierung	109
6.2.2	Isolute® ENV+ (ENV+).....	110
6.2.3	Amberchrom® CG 161c (AC)	111
6.2.4	Amberchrom-Acetyl (AC-A).....	112

6.2.5	Amberchrom-Monoetheracetyl (AC-COC1)	113
6.2.6	Amberchrom-Dietheracetyl (AC-COC2).....	114
6.2.7	Amberchrom-Trietheracetyl (AC-COC3).....	114
6.2.8	Amberchrom-Oktyl (AC-C8)	115
6.2.9	Amberchrom-Dodecyl (AC-C12)	115
6.2.10	Amberchrom-Chloracetyl (AC-CA)	116
6.2.11	Amberchrom-Trichloracetyl (AC-TCA).....	117
6.2.12	Amberchrom-Nitro (AC-NO ₂).....	118
6.2.13	Amberchrom-Sulfonsäure (AC-SO ₃ H)	119
6.2.14	Amberchrom-Thiocyanat (AC-SCN).....	120
6.2.15	Füllen von HPLC-Säulen.....	121
6.2.16	Zusammenfassung und Diskussion der Harzfunktionalisierungen	123
6.3	Bestimmung des Solvationsparameters „Retentionsfaktor“ für acide und basische Analyten	126
6.3.1	Acide Laufmittelbedingungen	126
6.3.2	Basische Laufmittelbedingungen.....	134
6.4	Die „aciden und basischen LSER-Gleichungen“ der Harze bei 70 % Methanol.....	140
6.4.1	Die „aciden LSER-Gleichungen“ der Harze bei 70 % Methanol	141
6.4.2	Die „basischen LSER-Gleichungen“ bei 70 % Methanol und Vergleich mit den aciden Systemeigenschaften	157
6.4.3	Zusammenfassung	170
6.5	Clusteranalyse.....	173
6.5.1	Clusteranalyse der aciden Retentionsfaktoren	174
6.5.2	Clusteranalyse der basischen Retentionsfaktoren	177
6.5.3	Zusammenfassung	178
6.6	Vorhersage und experimentelle Überprüfung von Extraktionsfähigkeiten ausgewählter Harze unter aciden und basischen Bedingungen	179
6.6.1	Acide Bedingungen	180
6.6.2	Basische Bedingungen.....	190
6.7	Zusammenfassung	198
7	Zusammenfassung.....	201
8	Summary.....	205

9	Anhang	209
9.1	Daten und Statistiken	209
9.1.1	Anhand Gleichung 5.3 b extrapolierte Retentionsfaktoren	209
9.1.2	Logarithmierte Retentionsfaktoren der experimentellen Daten	213
9.1.3	Regressionsergebnisse der MLR von Gleichung 2.30	217
9.2	Abbildung der Polystyrenmaterialien	224
9.3	Liste der verwendeten Chemikalien	225
9.4	Geräte und Geräteparameter	228
9.5	Liste der verwendeten Abkürzungen	230
10	Literatur	233
	Danksagung	241

1 Einleitung

Die zwei Fragen, die dem analytischen Chemiker sicher am häufigsten gestellt werden sind: „Was ist denn da drin?“ und „Wieviel?“. Sie sind vor allem in der Umweltanalytik von großem Interesse, wenn es um das Einhalten von Grenzkonzentrationen, oder z.B. in der Dopinganalytik, wo es um den Nachweis der Einnahme verbotener, leistungsfördernder Substanzen geht. Für den Analytiker ist es aber häufig nicht möglich, diese Fragen vollständig zu beantworten, da es keine universelle analytische Methode gibt, die bei *einer* Durchführung sämtliche Bestandteile der Probe angeben kann. Auch die Frage nach der Konzentration eines Stoffes in einer Probe, die in der Umweltanalytik besonders bei toxischen Substanzen interessant ist, kann häufig nur ungenau beantwortet werden, da der analytische Prozeß lang ist und viele Fehlerquellen beinhaltet. Er besteht aus fünf Stufen, die so ausgewählt werden müssen, daß sie am Ende die Beantwortung der gestellten Frage ermöglichen. Zum analytischen Prozeß gehören:

- ◆ Probennahme, Probentransport und Probenlagerung
- ◆ Probenvorbereitung (Extraktion, Aufkonzentration, Entfernung von Störstoffen)
- ◆ Trennung des Substanzgemisches
- ◆ Detektion der Analyten
- ◆ Identifizierung und/oder Quantifizierung

Die ersten vier Schritte, von denen auch mal einer wegfällt, weil eventuell die Probenvorbereitung oder die Trennung des Gemisches nicht erforderlich ist, richten sich in ihrer Art ganz nach der Zielsetzung der Analyse und der Natur des zu analysierenden Analyten. Aufgrund der vielfältigen Fragestellungen in der analytischen Chemie wurde im Rahmen der Methodenentwicklung ausgiebig auf allen fünf Schritten des analytischen Prozesses geforscht, um die Möglichkeiten des Analytikers zu verbessern und zu erhöhen. Dabei wurden besonders bei der Entwicklung leistungsstarker Geräte für die Detektion der Analyten große Fortschritte gemacht, die es ermöglichen, Substanzen im pg/ μ L-Bereich nachzuweisen. Die Fehler, die in diesem Bereich des analytischen Prozesses gemacht werden, sind inzwischen recht gering und vor allem abschätzbar. Geht man aber in chronologischer Reihenfolge bis zum Anfang des analytischen Prozesses zurück, also bis zur Probennahme, so sind sich die analytischen Chemiker einig, daß der Fehler zunehmend größer und nicht mehr kalkulierbar wird. Nachdem dieses Mißverhältnis erkannt war, wurden auch auf dem Gebiet der Probenvorbereitung und -trennung neue Methoden entwickelt und integriert. [1,2]

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Teilaspekten der Probenvorbereitung und -trennung, daher sollen im weiteren Verlauf diese beiden Schritte genauer vorgestellt werden.

Zur *Probenvorbereitung* zählen eine große Anzahl von Extraktionsmethoden wie Flüssig-Flüssig-, Soxhlet-, Mikrowellen-, Accelerated Solvent Extraktion (engl. Beschleunigte Lösungsmittelextraktion, ASE), Festphasen- und Festphasenmikroextraktion (SPME), einfache Filtrationsmethoden, Zentrifugation oder Derivatisierungen. Das Ziel der Analyse bestimmt die Wahl der vermeintlich „besten“ Probenvorbereitung. Generell verfolgt die Probenvorbereitung das Wechseln der Analytumgebung in ein für die weitere Analysenprozedur geeignetes Medium, die Aufkonzentrierung und das Entfernen von störenden Substanzen. Allen Extraktionsmethoden gemeinsam ist das Verteilungsprinzip, nach dem sich ein Analyt zwischen zwei Phasen verteilt und so von einem Lösungsmittel in ein anderes überführt werden kann.

In der Vergangenheit wurde ausschließlich die LLE (engl.: liquid-liquid extraction) in der Analytik verwendet. Ihre Nachteile sind allerdings der große Zeitaufwand und ein hoher Lösungsmittelverbrauch. Zu Beginn der 70er Jahre wurde dann die SPE (engl.: solid-phase extraction) entwickelt, die diese Nachteile der LLE minimiert. Ein weiterer großer Vorteil dieser Vorbereitungsmethode besteht in der Automatisierbarkeit, die für große Probenmengen von großer Bedeutung ist. In den letzten 15 Jahren hat sich die SPE zur führenden Vorbereitungstechnik in der Umwelt- und medizinischen Analytik entwickelt. [1] Ihr Prinzip basiert ebenfalls auf der Verteilung eines Analyten zwischen einer mobilen und einer stationären Phase.

Bei der *Trennung* von Substanzgemischen lassen sich sechs grundlegend verschiedene Techniken unterscheiden. Dazu gehören mechanische Verfahren (z.B. Dekantieren, Filtration), thermische Verfahren (z. B. Destillation, Sublimation), elektrische/magnetische Verfahren (z.B. Elektrophorese), chemische Verfahren (z.B. Stoffumwandlungen), Trennung durch unterschiedliche Verteilung zwischen zwei Phasen (z.B. Chromatographie) oder Trennung aufgrund unterschiedlicher Wanderungsgeschwindigkeiten in einer Phase (z.B. Kapillarelektrophorese). [3] Von diesen Verfahren hat sich die Chromatographie mit all ihren Varianten in den letzten 30 Jahren als die Trennmethode der Wahl in der analytischen Chemie etabliert. [4] Die zahlreichen Varianten der Chromatographie lassen sich zunächst grob in die Gas- und Flüssigchromatographie unterteilen. In der Gaschromatographie findet die Verteilung zwischen einer Gasphase (mobile Phase) und einer stationären Phase, bestehend aus einem hochsiedenden Flüssigkeitsfilm, statt. Die Anwendung der Gaschromatographie beschränkt sich auf Analyten, die sich unzersetzt bis ca. 450 °C verdampfen lassen, bzw.

einen ausreichend großen Dampfdruck besitzen. In der Flüssigchromatographie (z.B. Dünnschicht-, Säulen-, Papier- oder Ionenchromatographie) werden stationäre Phasen aus z.B. Kieselgel (Normalphasen), modifiziertem Kieselgel (Umkehrphasen), Polystyren oder Papier eingesetzt. Sie wird u.a. häufig für die Analytik polarer, hochsiedender Substanzen verwendet. Ein Spezialfall der Flüssigchromatographie, der heute am häufigsten verwendet wird, ist die zu Beginn der 60er Jahre entwickelte Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC, engl. high performance liquid chromatography). Sie hat sich aus der Schwerfraftsäulenchromatographie entwickelt, als man feststellte, daß die Verwendung sehr kleiner Partikel, heute 3-10 µm, zu besseren Trennleistungen führt. Sehr feines Material als stationäre Phase erfordert aber den Einsatz von hohem Druck für den Transport der mobilen Phase, weshalb sie auch lange als high pressure liquid chromatography (Hochdruck Flüssigchromatographie) bezeichnet wurde.

Ihre Attraktivität für den Analytiker erhalten SPE und HPLC durch die Vielfalt stationärer Phasen, die in den letzten Jahren entwickelt wurden. Die Materialien der beiden Techniken sind sich sehr ähnlich und unterscheiden sich zumeist nur in der Partikelgröße. Diese Vielfalt ermöglicht es, fast jedes Trenn- oder Extraktionsproblem durch Wahl einer geeigneten stationären und mobilen Phase zu lösen, wobei jedoch die Analytik sehr polarer organischer Substanzen bei der Extraktion und Trennung immer noch Defizite aufweist. Es erfordert sowohl in der HPLC als auch in der SPE viel Zeit und Aufwand, das geeignete chromatographische System, bestehend aus stationärer und mobiler Phase, zu finden. Viele Routinelaboratorien verwenden deshalb standardmäßig nur zwei oder drei Materialien. An genau dieser Stelle des analytischen Prozesses, die Verwendung von Festphasenmaterialien für die Probenvorbereitung (SPE) und Probentrennung (HPLC), setzt die hier vorliegende Arbeit an.

2 Retentionsmodelle, Chemometrie und LFERs

Chromatographie mit all ihren Varianten und Unterarten ist dem analytisch arbeitenden, aber auch allen anderen praktizierenden Chemikern, Biologen oder Medizinern, eine sehr nützliche Technik für die Trennung homogener Substanzgemische. Sie wird ebenso für Quantifizierungen wie auch für qualitative Analysen verwendet. Im letzten halben Jahrhundert hat sie sich zu einer unverzichtbaren Methode in Forschung und Wissenschaft entwickelt. Ein Grund dafür ist die enorme Vielseitigkeit der Chromatographie als analytische Trennmethode. Fast alle Arten von Molekülen lassen sich über chromatographische Methoden analysieren. Zum heutigen Zeitpunkt kann man sicher behaupten, daß es nahezu keine zwei sehr ähnlichen Strukturen gibt, die nicht über irgend eine Chromatographie getrennt werden können. Aufgrund dieser Vielfalt wurden Gelder und Zeit in die Entwicklung mannigfaltiger Methoden und Geräte für die Chromatographie investiert. [4]

Trotz des enormen Interesses und Einsatzes in die Entwicklung neuer Methoden sind bis heute die zugrundeliegenden physikalisch-chemischen Prinzipien der Chromatographie nicht vollständig und zufriedenstellend geklärt. [4] Versuche, diese Vorgänge zu erklären, beschäftigen sich zumeist mit einzelnen Fällen der Chromatographie, wobei besonders häufig die reversed-phase (Umkehrphase, RP) chromatography, insbesondere die RP-LC (RP-liquid chromatography), im Mittelpunkt des Interesses stand. Theorien und Modelle, die die Adsorption oder Verteilung der Moleküle beschreiben, wurden mit Hilfe großer Retentionsdatenmengen aufgestellt und überprüft.

Die RP-LC ist heute die meist genutzte Methode in der HPLC (engl.: high performance liquid chromatography, Hochleistungsflüssigchromatographie) für die Analyse und Reinigung einer großen Anzahl an Substanzen. Man geht davon aus, daß der Retentionsmechanismus eines Analyten von hydrophoben Wechselwirkungen zwischen Analyt und stationärer Phase dominiert wird, aber die genauen Zusammenhänge sind bis heute nicht geklärt. Die Solvophobe Theorie beschrieb 1976 als erste die energetischen Zusammenhänge in der RP-LC [5], basierend auf einer thermodynamischen Betrachtung der Lösungsmittelleffekte bei Molekülassoziationen. [6] In den folgenden 20 Jahren wurden viele Theorien und Modelle auf der Grundlage von Verteilung oder Adsorption [7,8], und theoretische Modelle auf der Basis thermodynamischer Prozesse [9,10] vorgeschlagen und untersucht. Die Diskussion ist bis heute nicht abgeschlossen. Verteilung und Adsorption sind sehr unterschiedliche Prozesse und Hinweise für beide Mechanismen wurden gefunden. Aufgrund der Komplexität der Vorgänge ist anzunehmen, daß nicht nur ein Mechanismus die treibende Kraft der Retention ist. Ein Grund für die verschiedenen Forschungsergebnisse ist die Verwendung sehr

unterschiedlicher stationärer Phasen und ihrer Modelle. [11,12,13]

Ebenfalls in den letzten 20 Jahren hat sich ein weiterer Zugang zur Problematik der Retentionsmechanismen etabliert. 1950 postulierte *Martin* [14], daß ein Substituent den Analyt-Retentionsparameter um einen von der Art des Substituenten, der mobilen und der stationären Phase abhängigen Faktor ändert. Es war die erste Veröffentlichung über Linear Free-Energy Relationships (LFERs, engl.: lineare freie energetische Beziehungen). Die ersten drei Veröffentlichungen über Quantitative Structure-Retention-Relationships (QSRRs, quantitative Struktur Retention Beziehungen) erschienen 1977 [15,16,17] und lösten umfangreiche Forschungen auf diesem Gebiet aus. LFERs ist ein Zugang, der detaillierte Retentionsmodelle mit ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften und die Theorien der thermodynamischen Vorgänge bei der Retention miteinander vereinigt. Man bezeichnet sie auch als „extrathermodynamischer Zugang“. [4] Mit den QSRRs hat auch die Chemometrie vermehrt Zugang in die Chromatographie erhalten. Chromatographische Daten gehören sicher zu den am häufigsten verwendeten Daten in chemometrischen Methoden. Sie sind heute, in Kombination mit QSRRs, ein beliebtes Handwerkzeug der Wissenschaftler, um

- ◆ die Retention eines Analyten vorherzusagen,
- ◆ die wichtigsten strukturellen Parameter eines Analyten zu identifizieren,
- ◆ Einblick in die wichtigsten molekularen Mechanismen der Trennung zu bekommen,
- ◆ andere physikalisch-chemische Eigenschaften, wie z.B. Hydrophobizität, zu bestimmen,
- ◆ relative biologische Aktivitäten und Chemikalieneigenschaften vorherzusagen. [4]

Der weitere Verlauf dieses Kapitels soll eine Einführung in die wichtigsten Retentionsmodelle, verwendeten QSRRs und chemometrische Methoden geben. Häufig ist es schwierig, eine klare Abgrenzung zu ziehen, da viele Bereiche bereits so stark ineinander verflochten sind, daß sie bereits in die jeweilige Idee integriert und assimiliert sind. Die folgende Abbildung 2.1 soll die Zusammenhänge zwischen QSRRs, Chemometrie und den Retentionsdaten der Analyten verdeutlichen.

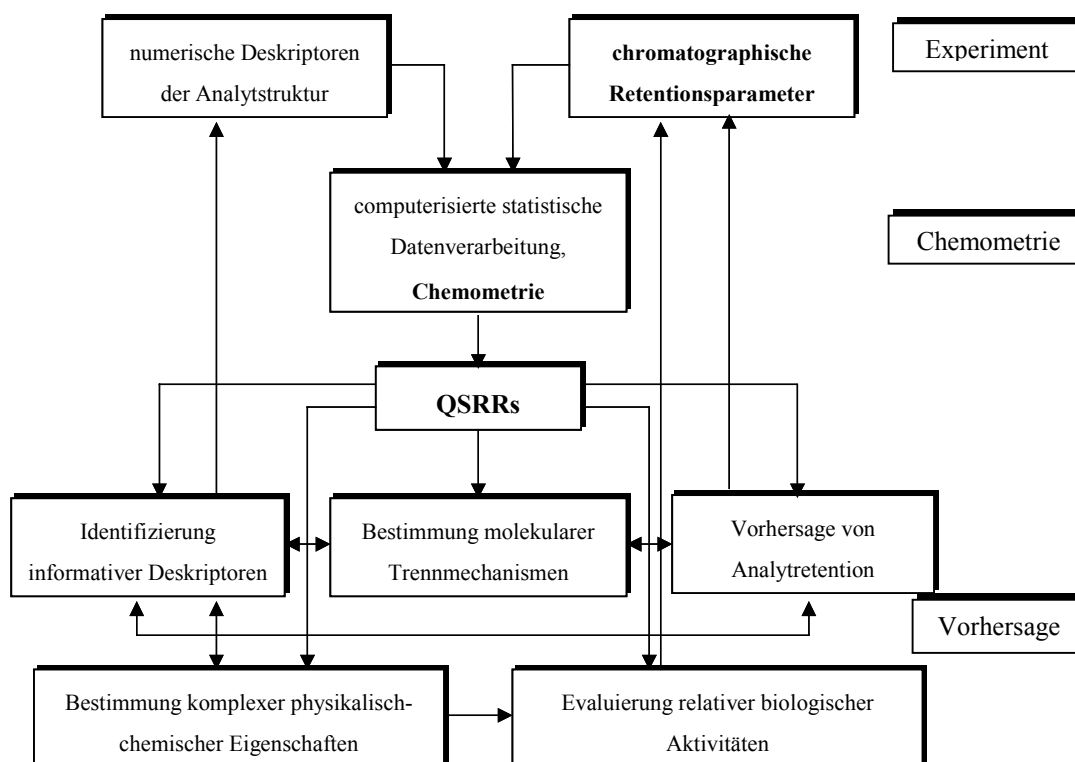


Abb. 2.1: Methodik und Ziele der Quantitative Structure-Retention Relationships (QSRRs); aus [4]

Die Abbildung verdeutlicht, welche Vielzahl an Informationen die Retentionsparameter in Kombination mit numerischen Analytdeskriptoren beinhalten können. Die computerisierte Datenverarbeitung, die es ermöglicht, umfangreiche Datenmengen vereinfacht darzustellen, und die QSRRs sind der Zugang zu allen Informationen, die im unteren Teil der Abbildung aufgelistet sind. Sie bergen die große Gefahr der Distanzierung von den eigentlichen Meßwerten, da gemessene Daten als Ausreißer (Outlier) interpretiert werden, wenn sie statistisch nicht in das berechnete Modell passen. Retentionsfaktoren sind aber sehr reproduzierbare Parameter und Abweichungen von den berechneten Daten zeigen lediglich, daß das verwendete Modell nicht die ausreichende Genauigkeit besitzt, um sämtliche Prozesse zu beschreiben. Es darf nicht der Schluß gezogen werden, daß der experimentelle Retentionsfaktor der Outlier ist.

2.1 Retentionsmodelle

Die chromatographische Trennung ist das Ergebnis unterschiedlicher Migration (Wanderung) von Substanzen. Auf der Suche nach der Ursache der unterschiedlichen Migrationsgeschwindigkeiten der Substanzen wurden in der Vergangenheit verschiedene Modelle vorgeschlagen und untersucht. In diesem Kapitel sollen die drei wichtigsten Retentionsmodelle vorgestellt werden. Viele weitere existieren, basieren aber zum größten Teil auf den hier vorgestellten Modellen.

2.1.1 Das Adsorptionsmodell

Das Adsorptionsmodell beschreibt den Retentionsmechanismus als ein Oberflächenphänomen, das sich an der Grenzfläche zwischen einer festen und einer flüssigen Phase abspielt. [18] Dabei wandert das adsorbierende Molekül aus der flüssigen Phase zur Grenzschicht und verdrängt die dort adsorbierten Moleküle des Lösungsmittels. Der Prozeß ist in Abbildung 2.2 schematisch dargestellt.

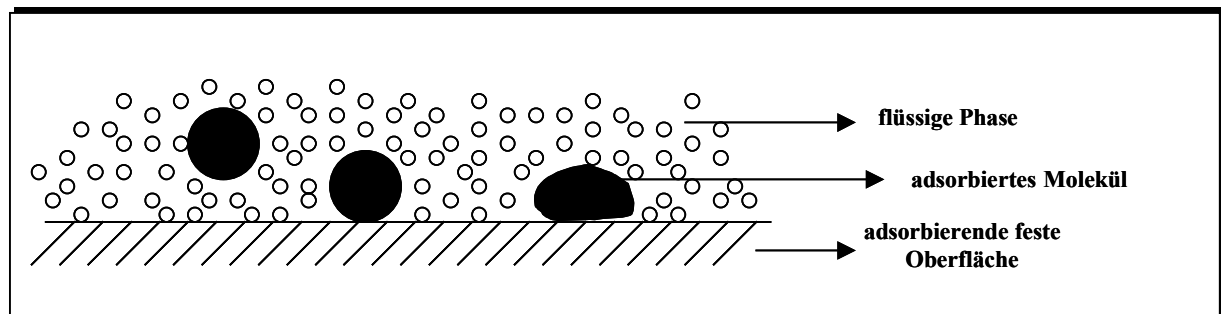


Abb. 2.2: Schematische Darstellung des Adsorptionsprozesses eines Moleküls an einer festen Oberfläche; aus [18]

Dieses Retentionsmodell wird besonders bei der Adsorption von organischen Verbindungen an Aktivkohle als dominanter Mechanismus angesehen.

2.1.2 Das Verteilungsmodell

Ein weiteres Modell geht von einer Verteilung des Analyten zwischen zwei im Idealfall nicht mischbaren Lösungen aus. Dabei stellt die Verteilungskonstante, also der Quotient aus der Konzentration des Analyten in Lösung A und B, einen sehr wichtigen physikalisch-chemischen Parameter dar, der häufig für die Bestimmung von Hydrophobizitäten organischer Substanzen herangezogen wird. [19] Die am häufigsten bestimmten Verteilungen sind die im Oktanol-Wasser-System. Dabei erfüllt auch dieses einfache Zweiphasen-System nicht die Voraussetzung der Unmischbarkeit, da sich ein gewisser Teil des Wassers im Oktanol löst und sich somit die thermodynamischen Eigenschaften der organischen Phase verändern. Dies ist besonders wichtig, da es sich bei der Verteilung eines Analyten zwischen zwei Phasen um einen thermodynamischen Prozeß handelt. Er beinhaltet die Bildung eines Lösungsmittelkäfigs in der organischen Phase, Transfer des Analytmoleküls von der wässrigen in die organische Phase und Schließen des Lösungsmittelkäfigs in der wässrigen Phase.

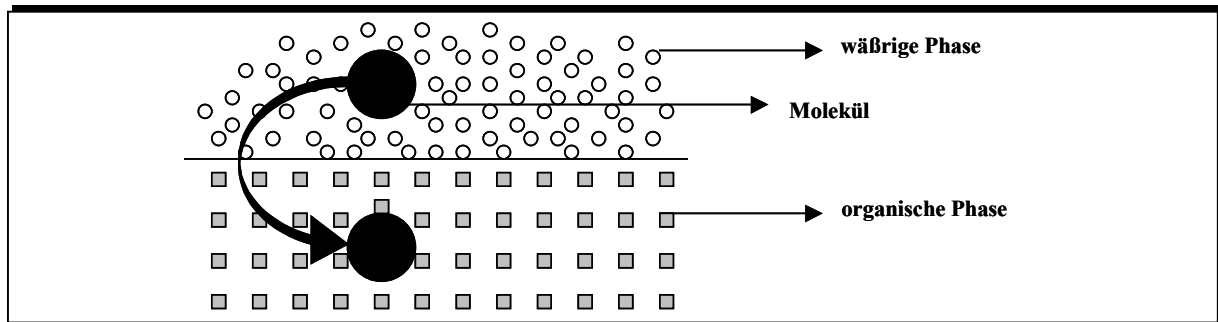


Abb. 2.3: Schematische Darstellung der Verteilung zwischen einer organischen und einer wässrigen Phase; aus [18]

Der Prozeß unterliegt den Gesetzen der Thermodynamik. Die Energie, die für die Verteilung aufgebracht werden muß, gehorcht dem 1. und 2. Hauptsatz der Thermodynamik:

$$dU = dQ + dW \quad \text{und} \quad dS \geq dQ / T \quad \text{Gl. 2.1}$$

wobei dW die vom System geleistete Arbeit und dQ die zugefügte Wärme angeben. Die Änderung der Entropie dS wird über die Änderung der Wärme des Systems in Abhängigkeit von der Temperatur beschrieben. Über die Enthalpie ($H = U + pV$) und freie Gibbs-Energie ($G = H - TS$) gelangt man zu folgender Gleichung:

$$dG \leq -S dT + V dp \quad \text{Gl. 2.2}$$

Diese Gleichung beschreibt geschlossene Systeme. Es wird deutlich, daß alle Prozesse, die unter konstantem Druck und konstanter Temperatur ablaufen, eine Änderung in G aufweisen, die gleich (im Gleichgewicht) oder kleiner Null (spontane Prozesse) ist. Offene Systeme dagegen, bei denen Stoffaustausch möglich ist, lassen sich über eine Ergänzung der letzten Formel beschreiben. In diesem Fall, bei konstantem T , p und n_j , hängt G von der Stoffmenge n_i ab, die das System passiert:

$$dG = \left(\partial G / \partial n_i \right)_{T,p,n_j} dn_i = \mu_i dn_i \quad \text{Gl. 2.3}$$

Die Änderung von G in Abhängigkeit von der Änderung der Stoffmenge n_i wird als das chemische Potential μ_i einer Substanz bezeichnet.

Es ist definiert über folgende Gleichung, bei der $\mu_i^\ominus$ das chemische Potential unter Standardbedingungen ist und c_i die Konzentration des Stoffes i in Lösung beschreibt. T steht für die Temperatur und R ist die Gaskonstante.

$$\mu_i = \mu_i^\ominus + RT \ln c_i \quad \text{Gl. 2.4}$$

Betrachtet man nun zwei Phasen α und β , zwischen denen sich der Stoff i verteilt, berechnet sich das resultierende chemische Potential aus: $\Delta\mu_i = \mu_i^\alpha - \mu_i^\beta$. Im Gleichgewicht ist $\Delta\mu_i = 0$. Daraus ergibt sich nach Bildung der Differenz und Umformen von Gleichung 2.4:

$$K = (c_i^\beta / c_i^\alpha)_{\text{Gl.}} = \exp (-\Delta\mu_i^\ominus / RT) \quad \text{Gl. 2.5}$$

Im Gleichgewicht ist der Quotient der beiden Konzentrationen der Verteilungskoeffizient K . Um die Bedingung von gleichen chemischen Potentialen im Gleichgewichtszustand zu erfüllen, erfolgt die Anpassung über unterschiedliche Konzentrationen. Die Trennung von verschiedenen Substanzen erfolgt des weiteren durch unterschiedliche Standardpotentiale, die aufgrund verschiedener intermolekularer Wechselwirkungen zustandekommen.

Dieses Modell gibt eine einfache Erklärung für die chromatographische Trennung und kann sehr universell auf alle Verteilungsprozesse angewendet werden. Es ist jedoch nicht sehr genau, da es auf Erklärungen auf molekularer Ebene verzichtet. Die Eigenschaften der Analyten bleiben bei diesem Modell unberücksichtigt, so daß es für weiterführende Einblicke nicht geeignet ist. Des weiteren weist es Fehler in seinen Voraussetzungen auf, da sich die meisten Phasen mischen. Besonders in der Chromatographie ist dieser Aspekt für die Retention von Analyten sehr wichtig, was später in Kapitel 2.2 genauer erläutert wird.

2.1.3 Die Solvophobe Theorie

Eine sehr viel genauere Theorie bezüglich der Retention in der RP-Chromatographie wurde 1976 vorgestellt. [5] Die Solvophobe Theorie liefert eine umfassende Behandlung der energetischen Zusammenhänge basierend auf einem thermodynamischen Zyklus [6] und betrachtet die Retention in RP-LC als Assoziation des Analyten **A** mit den Liganden der stationären Phase **L** in einer hypothetischen Gasphase mit anschließendem Transfer der beteiligten Retentionspartner **A**, **L** und **AL** in die wäßrige mobile Phase. Alle drei Retentionspartner werden von der mobilen Phase solvatisiert. [18] Man betrachtet den Vorgang der Assoziation in einer hypothetischen Gasphase, damit er über thermodynamische

Größen kalkulierbar ist. Dieser Prozeß wird weiter in verschiedene Unterprozesse für A, L und AL unterteilt, wodurch die Berechnung der Änderung der freien Energie für die Assoziation ΔG°_R für den Gesamtprozeß in Lösung möglich wird. Die Unterprozesse beschreiben verschiedene Wechselwirkungen wie van-der-Waals und elektrostatische Wechselwirkungen sowie Käfigbildung. Der hypothetische Vorgang ist in Abbildung 2.4 schematisch dargestellt. [20]

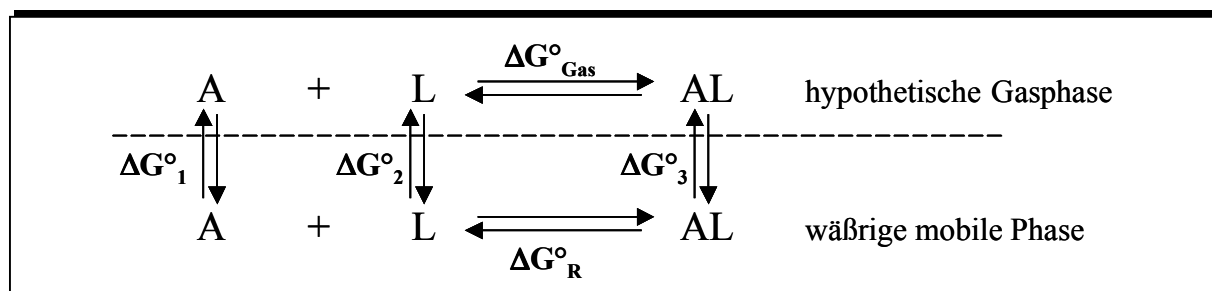


Abb. 2.4: Schematische Darstellung des thermodynamischen Zyklus des hypothetischen Assoziationsprozesses in der Gasphase mit anschließender Solvation in der flüssigen Phase, A = Analyt, L = Ligand der stationären Phase, AL = Analyt-Ligand Komplex; aus [20]

Die freie Reaktionsenergie ΔG°_R für die Bildung des Analyt-Ligand-Komplexes in der wäßrigen mobilen Phase berechnet sich aus den beiden konzeptuellen Prozessen zu:

$$\Delta G^\circ_R = \Delta G^\circ_{\text{solv}} + \Delta G^\circ_{\text{Gas}} \quad \text{Gl. 2.6}$$

Die Reaktionsenergie für den Solvationsprozeß $\Delta G^\circ_{\text{solv}}$ berechnet sich aus den Teilprozessen: $\Delta G^\circ_{\text{solv}} = \Delta G^\circ_3 - \Delta G^\circ_2 - \Delta G^\circ_1$. Der Vorgang der Solvation kann für jeden Reaktionsteilnehmer (A, L und AL) in zwei Schritte unterteilt werden. Dazu gehört zum einen die Formation eines Käfigs von passender Größe und Form für den Analyten (Liganden, Komplex) und zum anderen die Wechselwirkungen des Analyten mit den umgebenden Molekülen der flüssigen Phase. Die Energie für die Käfigbildung hängt von der Kohäsivität der flüssigen Phase und der Größe des Analyt- und Ligandmoleküls ab.

Betrachtet man nun die Retention eines Moleküls in RP-LC, läßt sich der Retentionsprozeß in zwei Schritte (Gl. 2.6) unterteilen: Transfer des Moleküls aus der wäßrigen in die Gasphase ($\Delta G^\circ_{A,\text{gas}}$) und Solvation des Analyt-Ligand-Komplexes in der wäßrigen mobilen Phase ($\Delta G^\circ_{A,\text{solv}}$). Jeder der beiden Schritte beinhaltet die bereits angesprochenen Unterprozesse wie Käfigbildung, zwischenmolekulare Wechselwirkungen und Änderung des freien Volumens.

Man erhält folgende Gleichung:

$$\Delta G^{\circ}_{\text{solv}} = (\Delta G_{\text{K}\ddot{\text{a}},\text{AL}} - \Delta G_{\text{K}\ddot{\text{a}},\text{A}} - \Delta G_{\text{K}\ddot{\text{a}},\text{L}}) + (\Delta G_{\text{WW},\text{AL}} - \Delta G_{\text{WW},\text{A}} - \Delta G_{\text{WW},\text{L}}) + \Delta \Delta G_{\text{mix}} + \Delta G_{\text{Red}} - RT \ln RT/V_E \quad \text{Gl. 2.7}$$

Dabei beschreibt $\Delta G_{\text{K}\ddot{\text{a}},i}$ ($i = \text{A}, \text{L}, \text{AL}$) die Energie für die Käfigbildung des Analyten i , $\Delta G_{\text{WW},i}$ die Energie für die intermolekularen Wechselwirkungen, wie z.B. Dipol-Dipol, Ion-Dipol, Dipol-induzierter Dipol, Wasserstoffbrückenbindungen oder hydrophobe Wechselwirkungen, $\Delta \Delta G_{\text{mix}}$ die Energie für das Mischen von Analyten unterschiedlicher Größe, ΔG_{Red} die Reduzierung von $\Delta G^{\circ}_{\text{Gas}}$ durch die Anwesenheit der flüssigen Phase und der letzte Term ($RT \ln RT/V_E$) die Änderung des freien Volumens (V_E = molares Volumen des Lösungsmittels) während des Prozesses. Für die Retention von unpolaren Analyten beträgt ΔG_{Red} ca. 25 % von ΔG_{Gas} und die freie Mischungsenergie $\Delta \Delta G_{\text{mix}}$ ist vernachlässigbar klein. *Vailaya und Horvath* [20] haben die Käfigbildung und die intermolekularen Wechselwirkungen in Termen der unpolaren Oberfläche des Analyten und der Oberflächenspannung ausgedrückt. Damit kann Gleichung 2.7 folgendermaßen formuliert werden:

$$\Delta G^{\circ}_{\text{R}} = - \underbrace{\kappa^{\text{g}}_{\text{S}} \gamma_{\text{S}} \Delta A_{\text{np}}}_{\text{Käfigbildung}} - (\underbrace{\kappa^{\text{g}}_{\text{AS}} \gamma_{\text{AS}}}_{\text{Analyt-Lösungsm.-WW}} - \underbrace{\kappa^{\text{g}}_{\text{A}} \gamma_{\text{A}}}_{\text{Analyt-Ligand.-WW}} - \underbrace{\kappa^{\text{g}}_{\text{S}} \gamma_{\text{S}}}_{\text{Reduzierung}}) \Delta A_{\text{np}} + \underbrace{\Delta G^{\circ}_{\text{Gas}}}_{\text{freies Volumen}} - 0,25 \Delta G^{\circ}_{\text{Gas}} - RT \ln(RT/V_{\text{S}}) \quad \text{Gl. 2.8}$$

In der Gleichung beschreibt γ_{S} die Oberflächenspannung des Lösungsmittels, γ_{A} die des unpolaren Analyten und γ_{AS} die der Interphasenspannung. Die κ^{g}_i -Werte sind Korrekturfaktoren, die die jeweilige Oberflächen- bzw. Interphasenspannung in mikrothermodynamische, durch Moleküldimensionen bestimmbare Werte konvertiert. Die molekulare Oberfläche wird durch ΔA_{np} beschrieben. Division bzw. Ableitung von Gleichung 2.8 nach ΔA_{np} ergibt die *normalisierte freie Energie der Retention* $a_{\text{g}}(\text{Retention})$ [18]:

$$a_{\text{g}}(\text{Retention}) = (\underbrace{\kappa^{\text{g}}_{\text{A}} \gamma_{\text{A}}}_{\text{Effekt der mobilen Phase}} - \underbrace{\kappa^{\text{g}}_{\text{AS}} \gamma_{\text{AS}}}_{\text{Effekt der stationären Phase}}) + 0,75 a_{\text{g}}(\text{Gas}) \quad \text{Gl. 2.9}$$

Die Solvophobe Theorie unterscheidet nicht zwischen Adsorption und Verteilung, da sich sowohl für den Adsorptions- als auch für den Verteilungsprozeß identische Gleichungen ergeben. Nach der Gittertheorie, die die stationäre Phase als kubisches Gitter und den Analyten als Würfel beschreibt, ist die freie Energie für die Verteilung sechsfach größer als

die für die Adsorption. Diese Vereinfachung resultiert aus der Annahme, daß beim Adsorptionsprozeß nur eine Seite des Moleküls mit der stationären Phase in Kontakt tritt, während bei der Verteilung alle sechs Seiten wechselwirken.

$$a_g(\text{Verteilung}) = 6a_g(\text{Adsorption}) \quad \text{Gl. 2.10}$$

Diese Gleichung 2.10 war lange ein Eckpfeiler bei der Unterscheidung zwischen Adsorptions- und Verteilungsmechanismus, wurde aber von *Vailaya und Horvath* grundlegend in Frage gestellt. Sie stellten fest, daß kein wesentlicher Unterschied in $a_g(\text{Verteilung})$ und $a_g(\text{Adsorption})$ besteht.

2.2 Modelle stationärer Phasen und ihre Retentionstheorien

Die Debatte über die verschiedenen Retentionsmechanismen resultiert vor allem aus der Verwendung unterschiedlicher stationärer Phasen. Die Frage, ob sich ein Analyt zwischen zwei Phasen verteilt oder an der Oberfläche adsorbiert wird, hängt nicht zuletzt davon ab, welche Möglichkeiten die stationäre Phase bietet. So ist zumeist die Annahme falsch, daß sich die wäßrige mobile Phase mit der organischen stationären Phase nicht mischt. Die stationäre Phase wird häufig zu einem hohen Grad von der mobilen Phase solvatisiert, wodurch ihre Eigenschaften verändert und somit andere thermodynamische Voraussetzungen geschaffen werden. So ist zu vermuten, daß die Retention eine Mischung aus Verteilung und Adsorption darstellt, mit unterschiedlichen Gewichtungen, je nachdem welcher Typ stationärer Phasen für die Untersuchungen verwendet wird. Im folgenden werden fünf Modelle stationärer Phasen und die dazugehörigen Retentionstheorien vorgestellt. [18]

2.2.1 Das „flüssige Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell

Das einfachste Modell von alkylsilica-gebundenen stationären Phasen wurde zuerst von *Lochmüller und Wilder* [13] 1979 vorgestellt. Es beschreibt die stationäre Phase als Schicht flüssiger Kohlenwasserstoffe über der Kieselgeloberfläche mit einem einfachen Verteilungsmechanismus der Analyten zwischen der organischen (stationären) und wäßrigen (mobilen) Phase, wie es unter 2.1.2 beschrieben wurde. Die Vorstellung der stationären Phase ist schematisch in Abbildung 2.5 dargestellt.

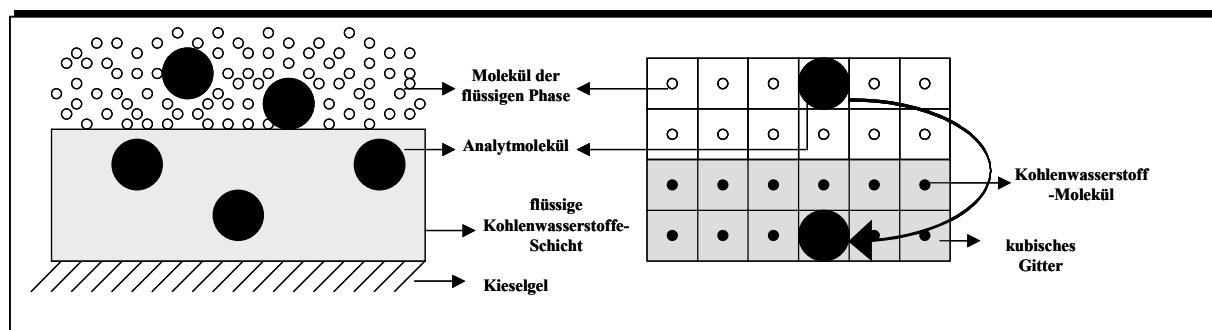


Abb. 2.5: Schematische Darstellung (links) und Gittermodell (rechts) der Retention in RP-Chromatographie nach dem „flüssige Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell; aus [8,13,21]

Lochmüller und Wilder vermuteten, daß gebundene Alkylketten in Methanol-Wasser Phasen aufgrund hydrophober Wechselwirkungen miteinander assoziieren und flüssige Tropfen in Form von Clustern bilden. Diese Cluster bilden eine lose flüssige Kohlenwasserstoffschicht. Für eine Überprüfung der Hypothese wurden die Verteilungskoeffizienten von methylsubstituierten Benzenen im Verteilungssystem Alkan/Methanol-Wasser (1:1) gemessen und mit den Retentionsdaten dieser Substanzen auf alkylsilica-gebundenen stationären Phasen bei der gleichen wäßrigen Phase verglichen. Sie fanden heraus, daß Alkylphasen mit Dodecyl- oder längeren Alkylketten ein Verhalten ähnlich einer Flüssigkeit zeigen und die Analytmoleküle nahezu vollständig in die stationäre Phase eingebunden werden. Für kürzere Ketten wurde eher ein Adsorptionsmechanismus vorgeschlagen, da sich die Selektivitäten deutlich von denen der Verteilungskoeffizienten unterschieden. Dies galt auch für große Moleküle, die selbst bei C_{18} -Phasen eine von den Verteilungskoeffizienten unterschiedliche Selektivität aufwiesen. Begründet wurde dieses Ergebnis mit der Schichtdicke der Kohlenwasserstoffschicht, die in diesen beiden Fällen nicht ausreicht, um eine komplette dreidimensionale Wechselwirkung zwischen Analyt und stationärer Phase zu gewährleisten. Resümierend wurde festgestellt, daß das vorgeschlagene „flüssige Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell nur für Alkylphasen mit mindestens C_{12} -Ketten zutreffend sei. [13]

Carr et al. [21] fanden heraus, daß die Energie für den Transfer von Alkylbenzenen von wäßrigen Phasen nach Hexadekan der für die Retention in RP-Chromatographie ähnlich ist. Dies gilt aber nur für eine Laufmittelzusammensetzung von 0-70 % organischen Anteil, woraus der Schluß gezogen wurde, daß die Retention von kleinen unpolaren Molekülen nach dem Verteilungsmodell geschieht und Hexadekan die organische stationäre Phase gut repräsentiert. Bei größeren Anteilen des organischen Lösungsmittels konnte keine gute Korrelation gefunden werden. [11,12]

2.2.2 Das „flüssig-kristalline Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell

Diese Variante des „flüssige Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodells wurde von *Martire und Boehm* [22,23] entwickelt und basiert auf einem einfachen Gittermodell. Es berücksichtigt die Organisation der Alkylketten der stationären Phase und beschreibt zwei Polaritätsbereiche der mobilen Phase, in denen sich die geometrische Anordnung, und somit die Eigenschaften der stationären Phase, ändern. Bei unpolaren Laufmitteln richten sich die Alkylketten bürstenähnlich auf und erlauben ein komplettes Eindringen der Analyten und Laufmittelmoleküle. In wasserreichen mobilen Phasen verändert sich die stationäre Phase zu einer quasi-flüssigen Schicht von zusammengefallenen Ketten, die das Eindringen von Laufmittelmolekülen verhindert, die Penetration der Analytmoleküle aber ermöglicht. Die Vorstellung der Retention wird dabei am besten durch eine „flüssig-kristallines“ Verteilungsmodell beschrieben, bei der die stationäre Phase als anisotrope kondensierte Phase ähnlich einer Wachsschicht verstanden wird.

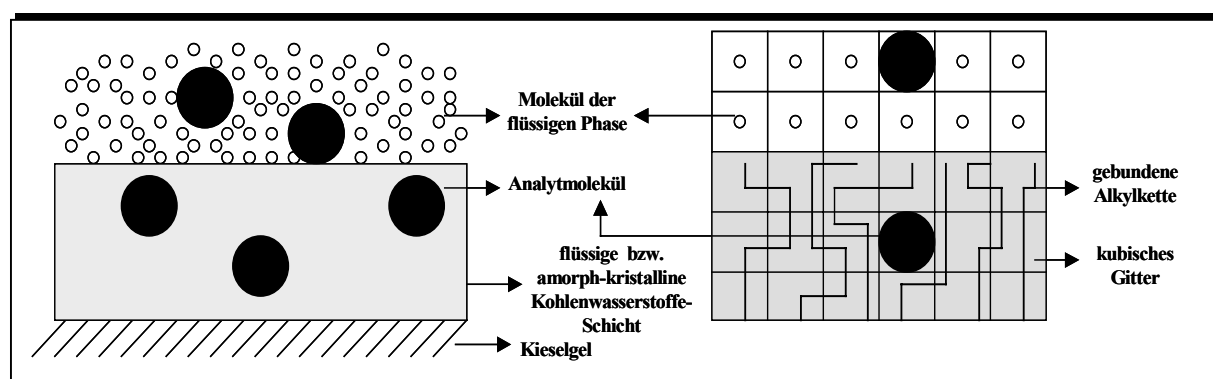


Abb. 2.6: Schematische Darstellung (links) und Gittermodell (rechts) der Retention in der RP-Chromatographie nach dem „flüssig-kristalline Kohlenwasserstoffe“ und dem „amorph-kristalline Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell; aus [7,8,22]

Dieses Modell stellt eine Verfeinerung des zuvor vorgestellten dar, da es die Organisation der stationären Phase in Form von Kettenlänge, Kettenflexibilität und Oberflächenbelegung sowie ihrer geometrischen Form in Abhängigkeit vom Laufmittel mit berücksichtigt. Abbildung 2.6 stellt das Modell der stationären Phase und den Retentionsmechanismus schematisch dar.

2.2.3 Das „amorph-kristalline Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell

Dieses Modell, daß 1987 von *Dill* vorgeschlagen wurde, wird auch als Interphasenmodell bezeichnet. [7,8] Es ist den zuvor vorgestellten Modellen sehr ähnlich, beschreibt die chromatographische Oberfläche aber als Interphase zwischen „lamellenartigen Kristallen und angrenzenden amorphen Regionen in einem semikristallinen Polymer“. [18] Diese Beschreibung ist eine Anlehnung an fettartige Monoschichten und Micellenbildung, die zuvor von

deGennes [24] vorgeschlagen wurden. Die schematische Darstellung entspricht der des „flüssig-kristallinen“ Verteilungsmodells in Abbildung 2.6. Nach *Dills* Vorstellung charakterisiert sich eine Interphase durch Alkylketten, die an einem Ende fest verankert sind und dadurch einen Gradienten bezüglich ihrer Unordnung aufweisen. Die Ordnung nimmt ab, wenn man sich vom Ankerpunkt an der Kieselgeloberfläche entfernt. Nach diesem Modell findet die Retention von Analyten über einen Verteilungsmechanismus statt, bei der die stationäre Phase nicht solvatisiert wird.

2.2.4 Das „monoschichtige Kohlenwasserstoffe“ Adsorptionsmodell

Neben dem Verteilungsmodell schlug *Dill* auch ein reines Adsorptionsmodell vor. [7] Er geht davon aus, daß die Retention von Analyten ausschließlich durch Adsorption erfolgt, wenn die Dichte der gebundenen organischen Liganden so groß ist, daß sie miteinander wechselwirken und ein Eindringen der Analyten verhindern. In diesem Fall bilden die Enden der Alkylketten eine unpolare Oberfläche, an der die Analytmoleküle adsorbieren. Das Modell ist in Abbildung 2.7 schematisch dargestellt.

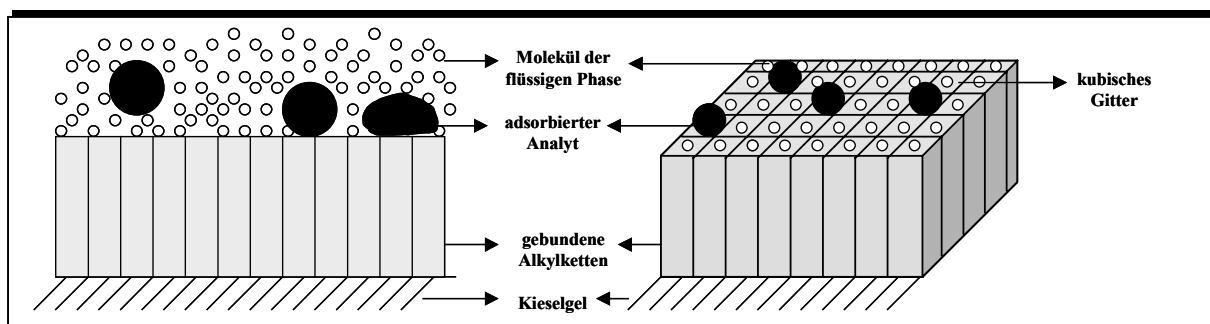


Abb. 2.7: Schematische Darstellung (links) und Gittermodell (rechts) der Retention nach dem „monoschichtigen Kohlenwasserstoffe“ Adsorptionsmodell; aus [7]

Näherungen der Gittertheorie für Monoschichten [25] wurden für Untersuchungen des Adsorptionsmechanismus verwendet. [7] Die Theorie besagt, daß der Logarithmus des Retentionsfaktors eine lineare Abhängigkeit zum Logarithmus der Gleichgewichts-Verteilungskonstante mit einem Proportionalitätsfaktor von $1/6$ aufweist. Der Wert $1/6$ entsteht aus der Annahme, daß nur eine der sechs Flächen des Analyten mit der Oberfläche der stationären Phase in Kontakt tritt und nicht wie beim Verteilungsmodell alle sechs Flächen. Das Ergebnis der Untersuchungen lieferte aber gleiche Werte für das Verteilungs- und Retentionsexperiment, was für einen großen Bereich der mobilen Phase einen Verteilungsmechanismus bedeutet.

2.2.5 Das „isoliert solvatisierte Kohlenwasserstoffketten“ Modell (Solvophobe Theorie)

Dieses Modell, das zuletzt vorgestellt werden soll, unterscheidet sich grundlegend von den vier anderen zuvor, da es nicht zwischen Verteilung und Adsorption unterscheidet. Die Solvophobe Theorie mit den „isoliert solvatisierten Kohlenwasserstoffketten“ ist keine Gittertheorie. In Abhängigkeit der mobilen Phase werden zwei Konfigurationen der stationären Phase unterschieden. Sie sind in Abbildung 2.8 schematisch dargestellt.

In Laufmitteln mit hohem organischen Anteil sind die Alkylketten aufgerichtet und die stationäre Phase von Laufmittelmolekülen solvatisiert. Die Retention der Analyten erfolgt durch vollständiges Eindringen der Analyten in die stationäre Phase und seiner Wechselwirkung mit dem gebundenen Liganden oder durch Adsorption des Analyten mit den Kettenspitzen oder durch beides. In sehr polaren mobilen Phasen dagegen fallen die Ketten zusammen und bilden einen engen Kontakt miteinander. Die Retention erfolgt auch hier durch eine Mischung der beiden Retentionsmechanismen Adsorption und Verteilung. Aufgrund dieser Tatsache repräsentiert der Retentionsfaktor stets einen Durchschnittswert der freien Bindungsenergie für Adsorption und Verteilung. [18]

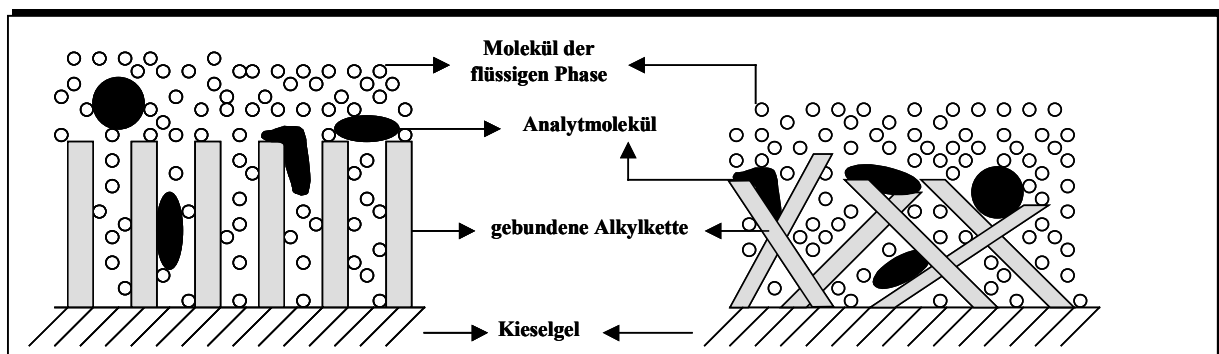


Abb. 2.8: Schematische Darstellung der „aufrechten“ (links) und „gestapelten“ (rechts) Konfiguration der stationären Phase nach dem „isoliert solvatisierte Kohlenwasserstoffketten“ Modell (Solvophobe Theorie); aus [5,18]

In Tabelle 2.1 ist noch einmal eine Übersicht über die fünf Modelle stationärer Phasen mit ihren Retentionstheorien zusammengestellt.

Tab. 2.1: Übersicht über fünf Modelle stationärer Phasen

Kap.	Modell	Theorie	Retentions- mechanismus	Beschreibung	Lit.
2.2.1	„flüssige Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell	Gitter	Verteilung	Die gebundenen Alkylketten bilden eine flüssige Kohlenwasserstoffschicht über der Kieselgeloberfläche.	[8,13,21]
2.2.2	„flüssig-kristalline Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell	Gitter	Verteilung	Die gebundenen Alkylketten bilden eine flüssig-kristalline Kohlenwasserstoffschicht über der Kieselgeloberfläche.	[22,23]
2.2.3	„amorph-kristalline Kohlenwasserstoffe“ Verteilungsmodell	Gitter	Verteilung	Die gebundenen Alkylketten bilden eine amorph-kristalline Kohlenwasserstoffschicht über der Kieselgeloberfläche.	[7]
2.2.4	„monoschichtige Kohlenwasserstoffe“ Adsorptionsmodell	Gitter	Adsorption	Gebundene Alkylketten bilden eine dichte Schicht, die kein Eindringen erlaubt.	[7]
2.2.5	„isoliert solvatisierte Kohlenwasserstoffketten“ Modell	Solvophobe Theorie	Verteilung/ Adsorption	Die Alkylketten bilden aufgrund geringer Dichte isolierte Stränge, die vom Laufmittel solvatisiert werden.	[5]

2.3 Linear Free-Energy Relationships (LFERs)

Trotz der mannigfaltigen Retentionsmodelle und vorgeschlagenen Retentionsmechanismen ist es immer noch sehr schwer oder nahezu unmöglich, die Retention von Analyten in der Flüssigchromatographie exakt zu beschreiben oder gar vorherzusagen. Die Solvophobe Theorie, die den Retentionsprozeß in viele kleine Unterprozesse, basierend auf intermolekularen Wechselwirkungen, aufgliedert, liefert dabei noch den vielversprechendsten Ansatz. Dennoch existiert bis heute kein vollständiges Modell, welches es erlaubt, chromatographische Parameter einzelner Analyten in einem gegebenen chromatographischen System zufriedenstellend vorherzusagen. Die Ursache liegt in der Komplexität und Vielseitigkeit molekularer Wechselwirkungen in kondensierten Phasen und der Ungenauigkeit der Thermodynamik sowie Quantenmechanik beim Bestimmen exakter Wechselwirkungspotentiale zwischen Molekülen. [4] Dies wurde schon 1979 von Prausnitz [26] in einem einfachen Satz ausgedrückt:

*„Classical thermodynamics is revered,
honored and admired, but in practice it is
inadequate“.*

Neben der thermodynamischen Betrachtung gibt es seit ca. 1950 einen weiteren Zugang zur Vorhersage der chromatographischen Retention. Er kombiniert detaillierte Modelle chemisch-

physikalischer Prozesse mit Konzepten der Thermodynamik und wird als „extrathermodynamischer Zugang“ oder auch Linear Free-Energy Relationships (LFERs) bezeichnet. Das folgende Kapitel soll einen Einblick in die Natur und Entwicklung der LFERs geben. Diese bilden die Grundlage der hier vorliegenden Arbeit.

2.3.1 Was sind Linear Free-Energy Relationships (LFERs) ?

Von LFERs in der Chromatographie wurde zum ersten Mal 1950 von *Martin* [14] berichtet. Er postulierte, daß ein Substituent den Analytretentionsparameter um einen Faktor ändert, der von der Natur des Substituenten, der mobilen und der stationären Phase abhängt. LFERs beschreiben lineare Beziehungen zwischen dem Logarithmus einer Reaktionsrate einer chemischen Reaktion oder Verteilungskonstante einer Reaktionsserie und denen einer zweiten. [4] Es wird davon ausgegangen, daß diese linearen Beziehungen auf tatsächlich existierenden Verknüpfungen korrelierter Daten beruhen, und daß die Natur dieser Verknüpfungen anhand der LFERs identifiziert werden kann. [27] Dies bedeutet, daß die Korrelation zwischen analytbezogenen Datenmengen unbekannten chemisch-physikalischen Beziehungen zugeschrieben werden kann. Trägt man den Logarithmus der Gleichgewichtskonstante der einen Versuchsserie gegen den der anderen auf, so erhält man einen linearen Zusammenhang, der über folgende Gleichung beschrieben werden kann,

$$\log k_i^B = m \log k_i^A + c \quad \text{Gl. 2.11}$$

bei der k_i^A und k_i^B die Gleichgewichtskonstanten von zwei Reaktionsreihen A und B sind. Dabei wird stillschweigend vorausgesetzt, daß der Retentionsparameter mit der Änderung der freien Energie für den Verteilungsprozeß linear korreliert. Tatsächlich sind aber nicht alle chromatographische Daten korrelierbar. Die Änderung der freien Energie steht nach dem 1. und 2. Hauptsatz der Thermodynamik mit der Enthalpie und Entropie in folgendem Zusammenhang:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad \text{bzw.} \quad \Delta H = \beta\Delta S + \Delta G_\beta \quad \text{mit } T = \beta \quad \text{Gl. 2.12}$$

Wenn LFERs zwischen realem und modelliertem System gefunden werden sollen, müssen entweder Änderungen in Entropie und Enthalpie gleich sein oder die Änderung der Enthalpie linear zu der der Entropie. Man bezeichnet diese Bedingung als Enthalpie-Entropie-Kompensation. [28,29] Für eine Familie von Substanzen in einer chemischen Reaktion

bedeutet dies, daß die Werte für β und ΔG gleichbleibend sind und β die sogenannte Kompensationstemperatur darstellt. Häufig wird diese Bedingung bei der Untersuchung von LFERs aber als selbstverständlich vorausgesetzt und nicht überprüft.

2.3.2 Analyt Deskriptoren basierend auf etablierten LFERs

Nachdem *Martin* 1950 von den ersten LFERs berichtete, folgte eine Vielzahl von Veröffentlichungen, in denen die Zunahme der Retention in Chromatographie durch Substituenten bestimmt wurde. Die Beiträge der Substituenten zur Retention waren zumeist konstant und additiv.

Tomlinson et al. bestimmten den Beitrag von funktionellen Gruppen zur Retention in der RP-HPLC von einer Serie von unsubstituierten Methyl- bis Decylbenzoaten und den o-, m-, p-OCH₃, -NO₂ und -Cl substituierten Alkylbenzoaten. [4,30] Der Substituentbeitrag τ wurde wie folgt definiert:

$$\tau = \log r_{ij} = \log (k_i / k_j) = \log [(t_i - t_0) / (t_j - t_0)] \quad \text{Gl. 2.13}$$

Dabei sind t_{ij} die Retentionszeiten der Substanzen i und j und t_0 die einer unretardierten Substanz. Die Substanzen i und j unterscheiden sich durch eine funktionelle Gruppe. Es wurde herausgefunden, daß die τ Werte für verschiedene funktionelle Gruppen an unterschiedlichen Positionen linear vom Laufmittel abhängen.

Weitere sehr bekannte LFER-Parameter von Substituenten sind die Hammett Konstanten. 1937 formulierte *Hammett* eine Gleichung für die Berechnung von Substituenteneffekten auf das chemische Gleichgewicht bzw. die Reaktionsrate basierend auf der Dissoziation von m- oder p-substituierten Derivaten der Benzoesäure in Wasser bei 25 °C. [4]

$$\log (K_x / K_H) = \rho \Sigma \sigma \quad \text{Gl. 2.14}$$

In dieser Gleichung ist K_x die Dissoziationskonstante des Derivats und K_H die der unsubstituierten Benzoesäure, ρ die Reaktionskonstante und σ die Hammett-Konstante für Substituenten in einem aromatischen System in meta- bzw. para-Position. Bei ortho-Substitution führen sterische Effekte zu Abweichungen bei den Bestimmungen. Da es sich um LFERs handelt, sind die Hammett-Konstanten additiv, wenn Mehrfachsubstitution vorliegt. Die sehr guten Leistungen der Hammett-Konstanten führten zu den Versuchen, zwischen weiteren elektronischen Konstanten, wie Mesomerie-, induktiven Effekten, Resonanz- oder Feldeffekten zu unterscheiden.

Analog zu den Hammett-Konstanten entwickelten *Hansch et al.* zu Beginn der 60er die Hydrophobizitätskonstante π . [31,32]

$$\pi_x = \log (P_{R-X}/P_{R-H}) \quad \text{Gl. 2.15}$$

Dabei definiert sich π über den Logarithmus des Quotienten des Wasser-Oktanol Verteilungskoeffizienten P einer substituierten und unsubstituierten Substanz. Die Standard- π -Werte basieren auf Benzenderivaten. Dieser Analytdeskriptor hat sich aufgrund seiner Additivität als besonders wichtig erwiesen.

2.3.3 Solvatochrome Parameter als empirische Analytdeskriptoren

Die Solvatochromie ist ein Teilgebiet der Spektroskopie und beschäftigt sich mit der Abhängigkeit der Bandenlage und -intensität eines Chromophors vom gewählten Lösungsmittel. Besonders wichtig für die Verlagerung einer Absorptionsbande sind dabei Dipol-Dipol- und charge-transfer-Komplexe. Ende der 70er Jahre beschäftigten sich *Kamlet, Taft, Abboud et al.* intensiv mit dem Effekt von verschiedenen Lösungsmitteln auf die spektroskopischen Eigenschaften von Substanzen. Sie entwickelten vier wichtige Skalen für die Lösungsmittleigenschaften wie die Kamlet-Taft π^* -Skala (Dipolarität/Polarisierbarkeit), die α -Skala (Wasserstoffbrückenacidität), die β -Skala (Wasserstoffbrückenbasizität) und den sogenannten δ -Parameter (Korrekturfaktor) [33,34,35,36,37], und verwendeten sie für eine systematische Untersuchung des Einflusses des Lösungsmittels auf die Analyteigenschaften, die Reaktionsrate sowie die Gleichgewichtskonstanten chemischer Reaktionen. [38,39] 1980 gelang es *Carr*, die solvatochromen Parameter für die Erklärung des chemisch-physikalischen Prozesses der Retention in der Gas-Flüssigchromatographie anzuwenden. [40]

Die Entwicklung der solvatochromen Parameter soll hier genauer vorgestellt werden, da sie die Grundlage des Linear Solvation Energy Relationship (LSER) Modells darstellen, welches die Basis der vorliegenden Arbeit ist.

2.3.3.1 Grundlagen der Solvatochromie

Unter dem Phänomen der Solvatochromie versteht man den Einfluß des Lösungsmittels auf die spektroskopischen Eigenschaften eines Moleküls. Zu diesen Eigenschaften gehören z.B. die Intensität einer Absorptionsbande, das Verhältnis von Intensitäten verschiedener Absorptionsbanden und die Lage der Absorptionsbande. Für die Anregung eines Moleküls von seinem Grundzustand in seinen angeregten Zustand wird die Energie ΔE benötigt. Diese

Energiedifferenz ist jedoch je nach Analytumgebung unterschiedlich, da die Analytmoleküle mit dem sie umgebenden Lösungsmittelmolekülen in Wechselwirkung treten. Wie in Abbildung 2.9 zu sehen ist, können beim Wechseln von Lösungsmittel 1 zu Lösungsmittel 2 oder 3 drei Effekte auftreten: A) die Energie des angeregten Zustandes, B) die des Grundzustandes und C) beide Energiewerte verändern sich in Abhängigkeit vom Lösungsmittel. Ist dies der Fall, ergibt sich eine Verschiebung der Absorptionswellenlänge (Hypsochromie und Bathochromie). Diese Verschiebung steht mit der Anregungsenergie in folgendem Zusammenhang:

$$\Delta E = h\nu = hc/\lambda \quad \text{und} \quad \lambda = hc/\Delta E \quad \text{Gl. 2.16}$$

Wenn sich die Absorptionswellenlänge vergrößert, wird ΔE kleiner und man beobachtet einen bathochromen Effekt, verkleinert sie sich, hat sich die Anregungsenergie erhöht und man erhält den hypsochromen Effekt. Verstärkt oder schwächt sich die Extinktion bei konstanter Wellenlänge bezeichnet man es als Hyper- und Hypochromie. Diese beiden Fälle werden über Gl. 2.16 nicht beschrieben.

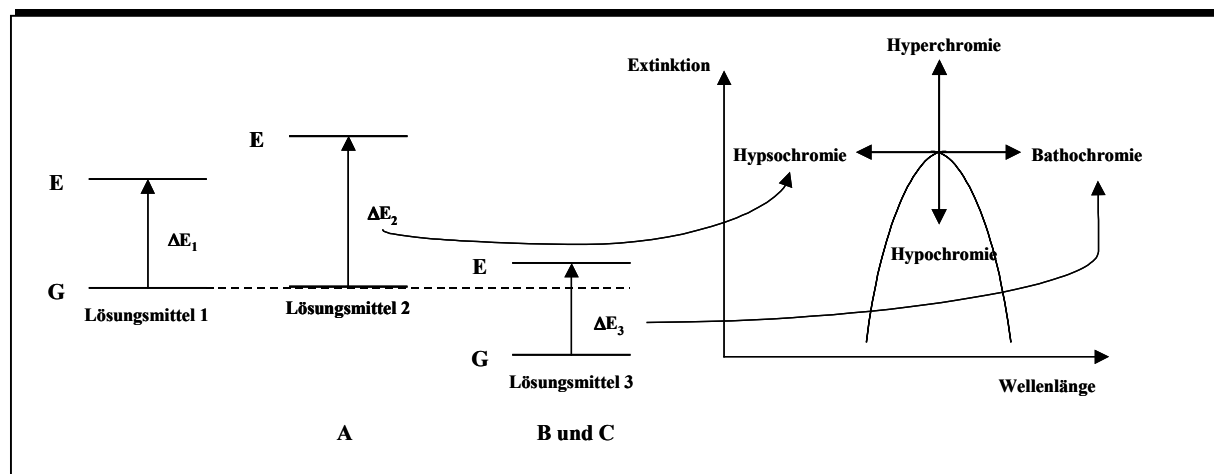


Abb. 2.9: Schematische Darstellung des Ursprungs solvatochromer Effekte und einiger Spezialfälle; aus [3,38]

Die Differenz in ΔE zwischen den verschiedenen Lösungsmitteln entsteht durch verschiedene intermolekulare Wechselwirkungen zwischen Analyt und Lösungsmittel. Wenn man nun ein Molekül betrachtet, das nur über seine Dipolarität mit dem Lösungsmittel wechselwirkt, ist die Energiedifferenz der Anregungsenergie, $\Delta\Delta E$, in Lösungsmittel 1 und 2 direkt der unterschiedlichen Dipolarität der Lösungsmittel zuzuordnen. *Kamlet und Taft* fanden eine Serie von Substanzen, die diese Bedingung erfüllen, womit es ihnen möglich war, Dipolaritäten von Lösungsmitteln zu bestimmen.

2.3.3.2 Die π^* -Skala der Lösungsmitteldipolarität/-polarisierbarkeit nach Kamlet und Taft

Die Skala der Lösungsmitteldipolarität/-polarisierbarkeit kann über zwei Wege aufgestellt werden. Zum einen läßt sie sich über die folgende Gleichung definieren:

$$\pi_i^* = (v_i - v_{\text{Cyclohexan}}) / (v_{\text{DMSO}} - v_{\text{Cyclohexan}}) \quad \text{Gl. 2.17}$$

Bei der Aufstellung der Skala wurde der π^* -Wert von Cyclohexan willkürlich als 0 und der von Dimethylsulfoxid (DMSO) als 1 definiert. Durch die Verwendung verschiedener Indikatoren (Farbstoffe, wie z.B. 4-Nitroanisol, N,N-Dimethyl-3-Nitroanilin oder 4-Ethyl-nitrobenzen) konnten die π^* -Werte von Lösungsmitteln bestimmt werden. Die Standardabweichung von π^* war dabei aber kleiner als die Standardabweichung des gemessenen Absorptionsmaximums des Indikators, was darauf hindeutete, daß nebenher noch andere, nicht identifizierte Prozesse stattfanden.

Aus diesem Grund wurde ein zweiter Zugang zur π^* -Skala gesucht und in den Linear Free-Energy Relationships (LFERs) gefunden. Da es sich hier um Wechselwirkungen zwischen Analyt und Lösungsmittel handelt, bezeichnet man sie auch als Linear Solvation-Energy Relationships (LSERs). Sie werden über Gleichung 2.18 beschrieben, die auch als Martin-Gleichung bezeichnet wird. Er stellte eine analoge Gleichung für die Retention homologer Reihen von Analyten auf.

$$v_{i,j} = v_{0,j} + s_j \pi_i^* \quad \text{mit} \quad s_j = (v_{j,\text{DMSO}} - v_{j,\text{Cyclohexan}}) / (\pi_{\text{DMSO}} - \pi_{\text{Cyclohexan}}) \quad \text{Gl. 2.18}$$

Die Frequenz der Lichtabsorption eines Indikators j in einem Lösungsmittel i wird durch eine lineare Abhängigkeit der Lösungsmitteldipolarität π_i^* und des s-Wertes des Indikators beschrieben. Letzterer wird über die relative Verschiebung der Absorptionsfrequenz in DMSO und Cyclohexan berechnet.

Neben sehr guten Korrelationen fanden *Kamlet und Taft* aber auch Datensätze, die keine gute Übereinstimmung zeigten, so z.B. Daten für aromatische oder polyhalogenierte Lösungsmittel. Aus diesem Grund führten sie den Polarisierbarkeitsfaktor δ , einen Korrekturfaktor, ein. Er beträgt 0 für aliphatische, 0,5 für polychlorierte und 1 für aromatische Lösungsmittel. Dennoch gibt es viele Anzeichen dafür, daß der berechnete π^* -Wert nicht nur die Dipolarität wiedergibt. Cyclohexan, das über keinen permanenten Dipol verfügt, besitzt per Definition den Wert 0, Benzen, ebenfalls ohne permanenten Dipol den Wert 0,6 und es

existieren noch weitere Unstimmigkeiten dieser Art. [38] Es wurde deshalb der Schluß gezogen, daß der π^* -Wert irgendeine komplexe Funktion der Dipolarität und Polarisierbarkeit darstellt.

Neben den schon angesprochenen Unstimmigkeiten in der π^* -Skala, gibt es noch ein weiteres fundamentales Problem. Aufgrund der Bestimmungsmethode waren nur die Dipolaritäten von Analyten zugänglich, die bei 298 K flüssig sind, was eine große Einschränkung der Skala bedeutet.

2.3.3.3 Die α und β Skala der Wasserstoffbrückenacidität und -basizität nach Kamlet und Taft

Da die Aufstellung der α - und β -Skala nach dem gleichen Prinzip durchgeführt wurde wie die zuvor ausführlich erläuterte π^* -Skala, sollen hier nur einige Beispiele aufgeführt werden.

Die die Wasserstoffbrückenacidität beschreibende α -Skala basiert auf dem Effekt des Lösungsmittels auf die NMR-Verschiebung von ^{31}P in Phosphinoxid. Der Sauerstoff stellt eine sehr starke Base dar, die in protischen Lösungsmitteln stark in Wechselwirkung tritt. Dies wirkt sich auf den Phosphor aus, was sich an einer NMR-Verschiebung zeigt.

Ebenfalls über NMR-Verschiebung wurde die β -Skala der Wasserstoffbrückenbasizität aufgestellt. Die Frequenz der Absorption vom ^{19}F -NMR von 4-Fluorphenol reagiert empfindlich auf die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der Hydroxylgruppe und dem umgebenden Lösungsmittel. Die α - und β -Skalen sind über eine große Anzahl von spektroskopischen Messungen (UV, IR, NMR) ermittelt worden. [38]

2.3.4 Die generelle Solvatationsgleichung nach Carr

Aus den Prinzipien der Solvophoben Theorie, den Analytdeskriptoren und den LFERs hat sich dann recht schnell die generelle Solvatationsgleichung entwickelt. Nach der Solvophoben Theorie (Kap. 2.1.3) werden alle chemischen Systeme, die nicht miteinander reagieren, von zwei grundlegenden Prozessen kontrolliert: a) Lösungsmittelkäfigbildung und b) intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den Analytmolekülen und denen des umgebenden Lösungsmittels. Dies läßt sich in folgender vereinfachter Gleichung ausdrücken:

$$X = X_0 + \Sigma \text{ Analyt-Lösungsmittel-Wechselwirkung} + \text{Käfigbildung} \quad \text{Gl. 2.19}$$

Dabei beschreibt X den Logarithmus einer meßbaren, analytsignifikanten Größe und X_0 ist der Achsenabschnitt, der sich aus der linearen Korrelation ergibt. *Kamlet und Carr*

entwickelten aus diesem Ansatz und der Idee, daß die zuvor aufgestellten solvatochromen Lösungsmittelskalen π^* , α und β unter gewissen Einschränkungen auch als Analyteigenschaften betrachtet werden können, die folgenden Solvatochromic Linear Solvation Energy Relationships [41]:

$$\log k = X_0 + s\pi_2^* + a\alpha_2 + b\beta_2 + mV_2 \quad \text{Gl. 2.20}$$

Diese Gleichung verwendeten sie für die Charakterisierung von C_{18} -Phasen in der HPLC, wobei $\log k$ für den Logarithmus des Retentionsfaktors (Definition siehe Gl. 5.2) eines Analyten im isokratischen System steht. Das Produkt mV_2 beschreibt den Prozeß der Käfigbildung, wobei V_2 das intrinsische molare van der Waals Volumen des Analyten repräsentiert. Die anderen drei Produkte beschreiben die intermolekularen Wechselwirkungen zwischen Analyt und stationärer Phase, bei denen die Variablen π_2^* , α_2 , und β_2 die Eigenschaften des Analyten vertreten. Dies wird durch die tiefgestellte zwei indiziert, da es sich hier um die solvatochromen Parameter eines Analyten handelt, dessen Eigenschaften aber zuvor als Lösungsmittel bestimmt wurden. Die Buchstaben s, a, b und m beschreiben die Komplementäreigenschaften des chromatographischen Systems: s ist die Dipolarität, a die Basizität, b die Acidität und m der sogenannte Cavity-Term. Durch multiple lineare Regression (MLR), auf die in Kapitel 2.4 eingegangen wird, von mindestens fünf dieser Gleichungen erhält man eine Lösung für die Eigenschaften des chromatographischen Systems.

Diese erste nennenswerte Gleichung, die aber noch viele Unzulänglichkeiten im Experiment aufwies, wurde nun von vielen Seiten verändert, verbessert und ergänzt. Dabei standen vor allem die Analytdeskriptoren im Mittelpunkt der Forschung. Kurze Zeit später ergänzte Carr diese Gleichung durch Kamlet's Polarisierbarkeitskorrekturfaktor δ , der schon in Kapitel 2.3.3.2 erwähnt wurde, und tauschte die reinen solvatochromen Parameter gegen neu berechnete bzw. besser abgestimmte Parameter aus gaschromatographischen Bestimmungen aus. [42,43] Er erhielt folgende Gleichung:

$$\log SP = c + d\delta_2 + s\pi_2^C + a\alpha_2^C + b\beta_2^H + mV_2 \quad \text{Gl. 2.21}$$

Für die Bestimmung der neuen mit C gekennzeichneten Parameter wurden 200 Analyten auf 19 gasflüssigchromatographischen Phasen untersucht und deren Retentionsdaten für die Bestimmung der Analytdeskriptoren verwendet. Das Prinzip gleicht dem, das zur

Bestimmung der solvatochromen Eigenschaften verwendet wurde. Es werden zunächst nur stationäre Phasen verwendet, auf denen nur eine oder zwei Wechselwirkungen vorherrschen. Eine genaue Erläuterung der gaschromatographischen Parameter befindet sich im folgenden Kapitel, in dem auch die mit einem H gekennzeichnete Basizität, die von *Abraham* aufgestellt wurde, erläutert wird.

2.3.5 Die generelle Solvatationsgleichung nach *Abraham* (LSER-Modell)

Parallel zum Modell von *Kamlet und Carr* entwickelte *Abraham* sein LSER-Modell unter der Verwendung neu ermittelter, gaschromatographischer Analytdeskriptoren, basierend auf den solvatochromen Parametern. Da sein Modell die Grundlage der hier vorliegenden Arbeit darstellt, soll es detailliert vorgestellt werden. [44]

Die Methode von *Abraham* beginnt mit der Einführung des Analytdeskriptors $\log L_i^{16}$, der den Verteilungskoeffizienten, oder auch Ostwald Löslichkeitskoeffizienten, eines Analyten zwischen einer Gasphase und Hexadekan beschreibt. [45,46]

$$\log L_i^{16} = C_{i, \text{Hexadekan}} / C_{i, \text{Gasphase}} \quad \text{Gl. 2.22}$$

Die Werte für $\log L_i^{16}$ können aus gaschromatographischen Messungen mit einer C_{16} -Phase erhalten werden. [46]

Die Molare Überschußrefraktion R_2

Als zweiten Analytdeskriptor definierten *Abraham et al.* die sogenannte Molare Überschußrefraktion R_2 . Sie beschreibt vereinfacht die Eigenschaft des Analyten mit freien Elektronenpaaren in Wechselwirkung zu treten und berechnet sich über folgende Gleichungen der Molaren Refraktion (MR) und der Differenz zu der MR eines Alkans gleicher Größe [47]:

$$\begin{aligned} \text{a) } R_2 &= MR_i - MR_{\text{Alkan mit gleichem } V_x} \\ \text{b) } MR_i &= V_x [(\eta^2 - 1) / (\eta^2 + 2)] \\ \text{c) } V_x &= \Sigma \text{ Atomvolumina} - 6,56 \text{ cm}^3 \text{mol}^{-1} / \text{Bindung} \\ \text{d) } B &= N - 1 + R \end{aligned} \quad \text{Gl. 2.23 a, b, c und d}$$

Der MR-Wert berechnet sich aus dem Brechungsindex η für die Natrium D-Linie bei 298 K und dem McGowan's Volumen V_x [48], das sich über die Summe der Atomvolumina abzüglich $6,56 \text{ cm}^3 \text{mol}^{-1}$ / Bindung errechnet. Dabei wird nicht zwischen Einfach- oder

Mehrfachbindungen unterschieden. Die Summe der Bindungen läßt sich deshalb bequem über Gleichung 2.23 d berechnen, bei der N die Summe der Atome und R die Anzahl der aromatischen Ringe darstellt. [48] Die Molare Überschußrefraktion R_2 berechnet sich schließlich aus der Differenz des MR-Wertes einer Verbindung und des MR-Wertes eines Alkans mit gleichem V_x .

Abraham nutzte einen umfangreichen Datensatz von $\log L^{16}$ - und R_2 -Werten und korrelierte sie nach folgender LSER-Gleichung [49,50]:

$$\log SP = c + rR_2 + l\log L^{16} \quad \text{Gl. 2.24}$$

SP kann dabei das Retentionsvolumen oder auch der Retentionsfaktor sein. Die Gleichung lieferte für unpolare stationäre Phasen sehr gute Ergebnisse. Bei der Verwendung von polaren Phasen, die über Dipolarität, Acidität und Basizität verfügen, mußten drei weitere Parameter in die LSER-Gleichung eingefügt werden. Diese Parameter sind die Dipolarität π_2^H , die Wasserstoffbrückenacidität α_2^H und die Wasserstoffbrückenbasizität β_2^H :

$$\log SP = c + rR_2 + s\pi_2^H + a\alpha_2^H + b\beta_2^H + l\log L^{16} \quad \text{Gl. 2.25}$$

Die 1:1 und die effektive Wasserstoffbrückenacidität und -basizität α_2^H und β_2^H

Parallel zum Ansatz von *Kamlet und Taft* eine sinnvolle Skala für die Wasserstoffbrückenacidität und -basizität aufzustellen (Kap. 2.3.3.3), gab es schon 1970 einen ersten Entwurf von *Sherry und Purcell* [51], den *Raevsky et al.* [45] zu Beginn der 80er Jahre aufgriffen. Er basiert auf folgendem Gleichgewicht:



Die Skala von *Raevsky et al.* verwendet das Massenwirkungsgesetz ($K = C_{AB}/(C_A C_B)$) und die freie Energie über die Gleichung $\Delta G^\circ_{AB} = 5,46 C_A C_B$ mit $C_A = -1,0$ für Phenol und $C_B = +1,0$ für Diethylether in Tetrachlorkohlenstoff. Aber ebenso wie bei den meisten anderen Skalen fehlt auch hier eine Definition des Nullpunktes: Für die Komplexbildung von Cyclohexan mit Diethylether in Tetrachlorkohlenstoff geht $K \rightarrow 0$, $\Delta G^\circ_{AB} \rightarrow \infty$ und somit $C_{A,Cyclohexan} \rightarrow -\infty$.

Der Ansatz von *Abraham* [45] geht auf Untersuchungen von *Hine et al.* [52] zurück. Er startet mit der Bestimmung der Acidität, indem er $\log K$ -Werte nach Gleichung 2.26 für eine 1:1 Komplexierung für eine Serie von Säuren gegen 45 Referenzbasen in Tetrachlor-

kohlenstoff bestimmte. Er fand heraus, daß bei der Auftragung von $\log K_{\text{Base1}}$ -Werten gegen $\log K_{\text{Base2}}$ lineare Zusammenhänge entstehen, die sich im sogenannten „magischen Punkt“ bei $-1,1/-1,1$ schneiden. Sie lassen sich durch folgende Geradengleichung beschreiben:

$$\log K_{(\text{Serie von Säuren gegen Referenzbase})} = L_B \log K_A^H + D_B \quad \text{Gl. 2.27}$$

Für eine einfachere und übersichtliche Skala wird der „magische Punkt“ auf Null verschoben und die Skala durch Division durch einen willkürlich gewählten Wert komprimiert:

$$\begin{aligned} \text{a) } \alpha_2^H &= (\log K_A^H + 1,1)/4,636 \\ \text{b) } \beta_2^H &= (\log K_B^H + 1,1)/4,636 \end{aligned} \quad \text{Gl. 2.28 a und b}$$

Durch diese Definition der Wasserstoffbrückenacidität haben alle Substanzen, die über keine aciden Eigenschaften verfügen, also mit einem $\log K_A^H$ von $-1,1$, die Acidität $\alpha_2^H = 0$. In exakt der gleichen Weise wurde die Skala der Wasserstoffbrückenbasizität β_2^H erstellt.

Die Aufstellung dieser beiden Skalen erfolgte unter der Annahme, daß eine 1:1 Komplexierung zwischen Säure und Base vorliegt. Im Solvatationsprozeß können Säuren bzw. Basen aber von mehreren Analyten komplexiert werden, wodurch andere Aciditäten bzw. Basizitäten vorliegen. Für eine Überprüfung der 1:1 Wasserstoffbrückenaciditäts/-basizitätsskala und zur Bestimmung der effektiven Skalen $\Sigma\alpha_2^H$ und $\Sigma\beta_2^H$ wandte *Abraham* die Methoden der „inversen Matrix“ und der „Rückberechnung“ an, die im folgenden Abschnitt näher erläutert werden. [45,53]

Die Dipolarität π_2^H nach Abraham

Die ursprünglich verwendete Dipolarität π_2^* von *Kamlet und Taft* erwies sich in vielen Fällen als ungeeignet. Zum einen konnten experimentelle π_1^* -Werte nur für bei 298 K flüssige nicht-assoziierte Substanzen ermittelt werden. Für alle andere Substanzen, z.B. Säuren, Alkohole, Phenole, wurden geschätzte Werte verwendet. Zum anderen war der Transfer vom reinen Lösungsmittel zur gelösten Substanz mit Fehlern im Dipolaritätswert behaftet. Aus diesem Grund suchte *Abraham* nach einer experimentellen π -Skala, die möglichst alle Substanzklassen beinhalten sollte. Für diese neue Skala benutzte er zwei sehr umfangreiche gaschromatographische Datensätze von *McReynolds* [54] und *Patte et al.* [55].

McReynolds bestimmte die Retentionsvolumina V_G^0 von bis zu 376 Analyten auf bis zu 77 verschiedenen stationären Phasen bei 120 °C. 75 dieser stationären Phasen besaßen keine Acidität, also $b = 0$, wodurch sich Gl. 2.25 um die Wechselwirkung $b\beta_2^H$ verkürzt.

Im ersten Schritt bestimmte *Abraham* durch multiple lineare Regression (MLR) unter Verwendung bekannter Analytdeskriptoren R_2 , π_2^* , α_2^H und $\log L$ ¹⁶ die Phaseneigenschaften von jeder der 75 stationären Phasen. Dafür konnte er bei jeder der Regressionen auf ca. 150 Analyten zurückgreifen. Er erhielt so 75 stationäre Phasen mit bekannten Eigenschaften. Im zweiten Schritt stellte er pro Analyt 75 Gleichungen auf, bei denen er den Achsenabschnitt c und die Polarisierbarkeit als kalkulierbare Eigenschaft in die abhängige Variable V_G verschob ($n = \text{stat. Phase 1 bis 75}$, $V_{G(n)} = V_G^0 - c - rR_2$):

$$\begin{aligned} \log V_{G(n)} &= s_n \pi_2^H + a_n \alpha_2^H + l_n \log L^{16} \\ \log V_{G(n+74)} &= s_{(n+74)} \pi_2^H + a_{(n+74)} \alpha_2^H + l_{(n+74)} \log L^{16} \end{aligned} \quad \text{Gl. 2.29}$$

Als nächstes führte *Abraham* eine MLR dieser 75 Gleichungen durch, wobei aber nun die Phaseneigenschaften als bekannt betrachtet und die Analyteigenschaften ermittelt wurden. Diese Methode der „inversen Matrix“ lieferte gute Ergebnisse, erfordert aber Retentionsdaten von Analyten auf mindestens 15 stationären Phasen. Ein weiterer Schwachpunkt dieser Methode besteht in der Ermittlung der Eigenschaften der stationären Phase. *Abraham* verwendete bekannte Analytdeskriptoren um die stationären Phasen zu charakterisieren und benutzte diese so ermittelten Eigenschaften dann, um neue Analytdeskriptoren zu berechnen. Beim Datensatz von *Patte et al.* verwendete *Abraham* die Methode der „Rückberechnung“, da in diesem Fall nur 5 stationäre Phasen untersucht wurden, eine Anzahl, die für eine MLR nicht ausreicht. [49] Auf diese Methode soll hier nicht weiter eingegangen werden.

Die so entwickelte LSER-Gleichung nach *Abraham* (Gl.2.25) galt für gasflüssig-chromatographische Systeme. Es stellte sich heraus, daß für Prozesse in kondensierten Phasen die folgende LSER-Gleichung bessere Ergebnisse lieferte:

$$\log SP = c + rR_2 + s\pi_2^H + a\Sigma\alpha_2^H + b\Sigma\beta_2^H + vV_x/100 \quad \text{Gl. 2.30}$$

Sie ist praktisch identisch mit Gl. 2.25. In dieser Gleichung wird der Prozeß der Lösungsmittelkäfigbildung allerdings durch den Analytdeskriptor „charakteristisches McGowans Volumen $V_x/100$ “ und die korrespondierende Eigenschaft des chromatographischen Systems beschrieben. Das McGowans Volumen wurde bereits bei der

Berechnung der Polarisierbarkeit R_2 verwendet und in Gl. 2.23c erläutert. Der Transfer der LSER-Gleichung von gaschromatographischen auf flüssigchromatographische Systeme führte zu einigen Problemen. Die Wechselwirkung zwischen Analyt und Umgebung wurde in der GC-Gleichung richtigerweise durch zwei Parameter, die Eigenschaft des Analyten und die der stationären Phase, beschrieben. In der Flüssigchromatographie treten jedoch drei Systeme in Wechselwirkung, der Analyt, die stationäre und die mobile Phase. Aus diesem Grund sind die aus der MLR zu erhaltenen Parameter r , s , a , b und v die Eigenschaften des chromatographischen Systems. Sie sind die Differenz aus der Eigenschaft der stationären und der mobilen Phase, wie Gl. 2.31 demonstriert:

$$\log SP = c + (r_s - r_m)R_2 + (s_s - s_m)\pi_2^H + (a_s - a_m)\Sigma\alpha_2^H + (b_s - b_m)\Sigma\beta_2^H + (v_s - v_m)V_x/100 \quad \text{Gl. 2.31}$$

Daraus wird klar, daß die Eigenschaften des chromatographischen Systems extrem von der Zusammensetzung des Laufmittels und von der Solvatisierung der Festphase durch das Laufmittel abhängen, wie in Kap. 2.2 verdeutlicht wurde.

Tab. 2.2: Übersicht über die Analytdeskriptoren und Phaseneigenschaften der LSER-Gleichung nach Abraham

Eigenschaft des chromatographischen Systems		Analytdeskriptor	
<i>Symbol</i>	<i>Erläuterung</i>	<i>Symbol</i>	<i>Erläuterung</i>
c	Achsenabschnitt	-	-
r	Polarisierbarkeit; Fähigkeit, mit freien Elektronenpaaren in Wechselwirkung zu treten	R_2	Molare Überschußrefraktion (Polarisierbarkeit); Fähigkeit, mit freien Elektronenpaaren in Wechselwirkung zu treten
s	Dipolarität; Fähigkeit, mit einem permanenten oder induzierten Dipol zu wechselwirken	π_2^H	Dipolarität; Fähigkeit, mit einem permanenten oder induzierten Dipol zu wechselwirken
a	Wasserstoffbrücken-Basizität	$\Sigma\alpha_2^H$	effektive Wasserstoffbrücken-Acidität
b	Wasserstoffbrücken-Acidität	$\Sigma\beta_2^H$	effektive Wasserstoffbrücken-Basizität
v	Cavity-Term; Maß für die Fähigkeit zur Ausbildung eines Lösungsmittelkäfts in der stationären oder mobilen Phase	$V_x/100$	Charakteristisches McGowans Volumen; Maß für die Analytgröße

2.4 Multiple Linear Regression (MLR) und Clusteranalyse

In diesem Kapitel sollen kurz die in dieser Arbeit verwendeten multivariaten Datenanalysen vorgestellt und erläutert werden.

Eine multivariate Datenanalyse beschäftigt sich im Prinzip mit der Systematisierung und Visualisierung von Merkmalsmustern, die die menschlichen Sinnesorgane ohne weiteres nicht erfassen können. Dabei umspannen die Methoden der Datenanalysen ein weites Feld, wie z.B. die multivariate lineare Regression, Hauptkomponentenanalyse (PCA), Clusteranalyse oder überwachte Klassifizierung. Für die Analyse der in dieser Arbeit vorliegenden Retentionsdatensätze wird vor allem die multiple lineare Regression (MLR) zur Ermittlung der LSER-Gleichungen und die Clusteranalyse verwendet. Letztere ermöglicht es, Ähnlichkeiten bzw. gleiche Muster aufzuzeigen.

2.4.1 Multiple Linear Regression (MLR) [56]

In Anlehnung an das Konzept der LFERs läßt sich ein meßbarer Retentionsfaktor eines Analyten (der Regressand) durch eine lineare Funktion von Analytdeskriptoren (die Regressoren) beschreiben.

$$y = f(a_1x_1, \dots, a_nx_n)$$

$$\text{z.B. } \log k = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + \dots + a_nx_n \quad \text{Gl. 2.32}$$

Die Koeffizienten a_1 bis a_n sind die sogenannten Regressionskoeffizienten, die durch die Regression ermittelt werden, die Koeffizienten x_1 bis x_n sind bekannte Eigenschaften der Analyten, die Analytdeskriptoren. Für die Lösung einer Gleichung mit n Gliedern werden $n+1$ Gleichungen benötigt. Das Datenmaterial bildet dann den sogenannten Regressandenvektor $\mathbf{y}$, die Regressormatrix $\mathbf{X}$ und Koeffizientenvektor $\mathbf{a}$:

$$\mathbf{a} = \begin{pmatrix} a_0 \\ a_1 \\ \vdots \\ \vdots \\ a_n \end{pmatrix} \quad \mathbf{y} = \begin{pmatrix} \log k_1 \\ \log k_2 \\ \vdots \\ \vdots \\ \log k_p \end{pmatrix} \quad \mathbf{X} = \begin{pmatrix} x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1n} \\ x_{21} & x_{22} & \dots & x_{2n} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ x_{p1} & x_{p2} & \dots & x_{pn} \end{pmatrix} \quad \text{Gl. 2.33}$$

In der Matrixschreibweise ergibt sich die Gleichung $\mathbf{y} = \mathbf{X}\mathbf{a} + \boldsymbol{\epsilon}$, wobei $\boldsymbol{\epsilon}$ ein Korrekturvektor ist. Das Lösen dieser Gleichung erfolgt bildlich betrachtet durch das Ermitteln der besten „Ausgleichsgerade“ im n -dimensionalen Raum. Praktisch werden wahlweise für $\mathbf{a}$

Zahlenwerte eingesetzt, und der resultierende Regressandenvektor $\hat{\mathbf{y}}$ berechnet ($\hat{\mathbf{y}} = \mathbf{X}\boldsymbol{\alpha}$). Aus der Differenz von $\mathbf{y}$ und $\hat{\mathbf{y}}$ errechnet sich die Fehlerquadratsumme, FQS:

$$\text{FQS} = \|\mathbf{y} - \hat{\mathbf{y}}\|^2 = \sum (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad \text{Gl. 2.34}$$

Die Berechnung der optimalen Schätzung von $\boldsymbol{\alpha}$ läuft auf die Minimierung der FQS hinaus. Analytisch berechnet sich $\boldsymbol{\alpha}^{\text{opt}}$ zu: $\boldsymbol{\alpha}^{\text{opt}} = (\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T \mathbf{y}$ bzw. $\mathbf{X}^T \mathbf{X} \boldsymbol{\alpha}^{\text{opt}} = \mathbf{X}^T \mathbf{y}$. Für eine genaue Herleitung wird auf die zitierte Literatur verwiesen.

Die Anwendung der MLR erfolgt über Statistikprogramme, die inzwischen sehr zahlreich kommerziell erhältlich sind. Das in dieser Arbeit verwendete Programm ist STATISTICA/w 5.0., das auch für die folgende Clusteranalyse verwendet wird. Die Statistikprogramme liefern sämtliche für das Ergebnis interessanten Standardabweichungen. Da der Solvatationsparameter bei den in dieser Arbeit untersuchten Daten ein logarithmischer Wert ist, errechnet sich die Standardabweichung des entlogarithmierten Wertes nach einer von *Rohrschneider* entwickelten Gleichung. [57] Dabei ist E der Fehler des k-Wertes und S die Standardabweichung des log k-Wertes:

$$E = (100 \cdot 10^S) - 100 \quad \text{Gl. 2.35}$$

2.4.2 Clusteranalyse [56]

Die Clusteranalyse ist eine chemometrische Methode, die zur Unterteilung der Objektmenge eines Datensatzes in homogene Klassen verwendet wird, innerhalb derer alle Objekte ähnliche Variablenmuster aufweisen. Die Einteilung der Klassen, sogenannter Cluster, erfolgt objektiv nach unterschiedlichen, über die jeweilige Methode definierten Kriterien, die alle auf dem Abstandsbegriff basieren, mit dem die Verschiedenheit der Variablenmuster gemessen wird. Dabei sind durch die Clusteranalyse zwei Dinge zu klären: zum einen die Ermittlung einer glaubwürdigen Clusterzahl und zum anderen eine sinnvolle Bestimmung der Clusterzusammensetzung.

Bei dem Verfahren der Clusteranalyse wird die zu analysierende Objektmenge, die durch n Variablen beschrieben wird, in einem n-dimensionalen Raum dargestellt. Die Abstände der einzelnen Objektpunkte, Vektoren, sind ein Maß für die Ähnlichkeit der Objekte. Die Objekte werden dann zu Clustern zusammengefaßt und in Form eines hierarchischen Baumdiagrammes (Dendrogramm) dargestellt. Dabei lassen sich zwei Vorgehensweisen zur

Clusterung unterscheiden: die *divisive Clusterung*, bei der das Dendrogramm von oben nach unten durch fortwährende geeignete Aufspaltung der Objektmenge konstruiert wird und die *agglomerative Clusterung*, bei der genau umgekehrt mit jedem Einzelobjekt beginnend durch Zusammenschluß passender Objektgruppen das Dendrogramm von unten nach oben entwickelt wird. Letztere ist dabei das häufiger verwendete Verfahren.

Die Clusterung erfolgt zyklisch nach folgendem Schema:

1. Berechnung der Abstandsmatrix **D** zum zumeist standardisierten Datensatz **X**
2. Auffinden des kleinsten Elementes d_{ij} in **D** (außerhalb der Diagonalen)
3. Zusammenfassung der Objekte i und j zu einem neuen Objekt
4. Aktualisierung der Abstände zwischen den anderen Objekten und dem neuen Element d_{ij}
5. Neubeginn bei Punkt 2, bis alle Objekte im Dendrogramm aufgenommen sind....

Für die Abstandsbestimmung gibt es acht klassische hierarchische Verfahren, die sich lediglich in der Art der Abstandsaktualisierung (Schritt 4) unterscheiden. Nach der Fusionierung zweier Cluster A und B, oder auch Objektpunkte, entsteht ein neuer Cluster [AB] mit $n_A + n_B$ Einzelobjekten. Um den Abstand dieses neuen Clusters [AB] zum nächsten Objektpunkt zu bestimmen, muß definiert werden, von wo aus im Cluster [AB] der Abstand gemessen wird. Die acht Methoden sind in Tabelle 2.3 zusammengefaßt:

Tab. 2.3: Formeln zur Abstandsbestimmung der acht klassischen Verfahren der hierarchischen Clusterung. min und max stehen für minimal bzw. maximal, d für Distanz, α für freie Parameter [56]

Methode	D [AB], C)
Single Linkage	$\min [d(A, C), d(B, C)]$
Complete Linkage	$\max [d(A, C), d(B, C)]$
Average Linkage	$[d(A, C) + d(B, C)] / 2$
Average Linkage, gewichtet	$[n_a d(A, C) + n_b d(B, C)] / (n_a + n_b)$
Median	$[d(A, C) + d(B, C)] / 2 - [d(A, B)] / 4$
Centroid Linkage	$[n_a d(A, C) + n_b d(B, C)] / (n_a + n_b) - [n_a n_b d(A, B)] / (n_a + n_b)^2$
Wards Methode	$[(n_c + n_a)d(A, C) + (n_c + n_b)d(B, C) - n_c d(A, B)] / (n_a + n_b + n_c)$
Flexible Strategie	$\alpha[d(A, C) + d(B, C)] + (1 - 2\alpha)d(A, B)$

Die Abstandsmessung erfolgt zumeist über fünf verschiedene Verfahren, die euklidischen, die quadratisch euklidischen, die Manhattan-, die Chebychev- und die Power Abstände. [58] Dabei findet der euklidische Abstand am häufigsten Anwendung. Er ist der einfache geometrische Abstand im n-dimensionalen Raum und wird über die Formel $\{\sum(x_i - y_i)^2\}^{1/2}$ berechnet.

Entscheidend bei der Clusteranalyse für diese Arbeit ist die objektive Verarbeitung von experimentellen Daten. Sie kann somit als Vergleichsmethode zum LSER-Modell herangezogen werden, da dieses die experimentellen Daten mit vorgegebenen physikalisch-chemischen Eigenschaften verknüpft, deren Auswahl mehr oder weniger willkürlich ist. Beide Methoden zeigen durch unterschiedliche Vorgehensweise Ähnlichkeiten, die im Idealfall identisch sein müßten, da sie auf dem gleichen Datensatz beruhen.

3 Stand der Forschung

In diesem Kapitel gibt der erste Teil eine Übersicht über die aktuellen Festphasenmaterialien für die HPLC und SPE. Da sich die in der HPLC und SPE verwendeten Materialien bezüglich ihrer chemischen Struktur und Selektivität sehr ähnlich sind, werden die Phasenmaterialien parallel betrachtet.

Im zweiten Teil werden die Ergebnisse der Charakterisierung von Festphasenmaterialien mittels Linear Solvation-Energy Relationships (LSERs) nach *Abraham* vorgestellt.

3.1 Festphasenmaterialien für die SPE und HPLC

Die Selektivität einer stationären Phase gibt an, welche Wechselwirkung zwischen Analyt und stationärer Phase vorliegen. Sie hängt maßgeblich von der chemischen Struktur des Materials ab, da die funktionellen Gruppen für die chemisch-physikalischen Eigenschaften der Phase verantwortlich sind. Je nach Charakter der funktionellen Gruppen unterscheidet man zwischen polaren, unpolaren oder Ionenaustauscher-Materialien, oder nach den vorherrschenden Trennmechanismen. Eine weitere Einteilung der Phasen kann über ihre Herstellung erfolgen. Man unterscheidet die Normalphasen (engl.: normal-phase, NP) von den Umkehrphasen (engl.: reversed-phase, RP). Zu den polaren NP-Materialien zählen Kieselgel und Aluminiumoxid. Von ihnen ausgehend haben sich die RP-Phasen entwickelt, zu denen alle anderen Phasen zählen.

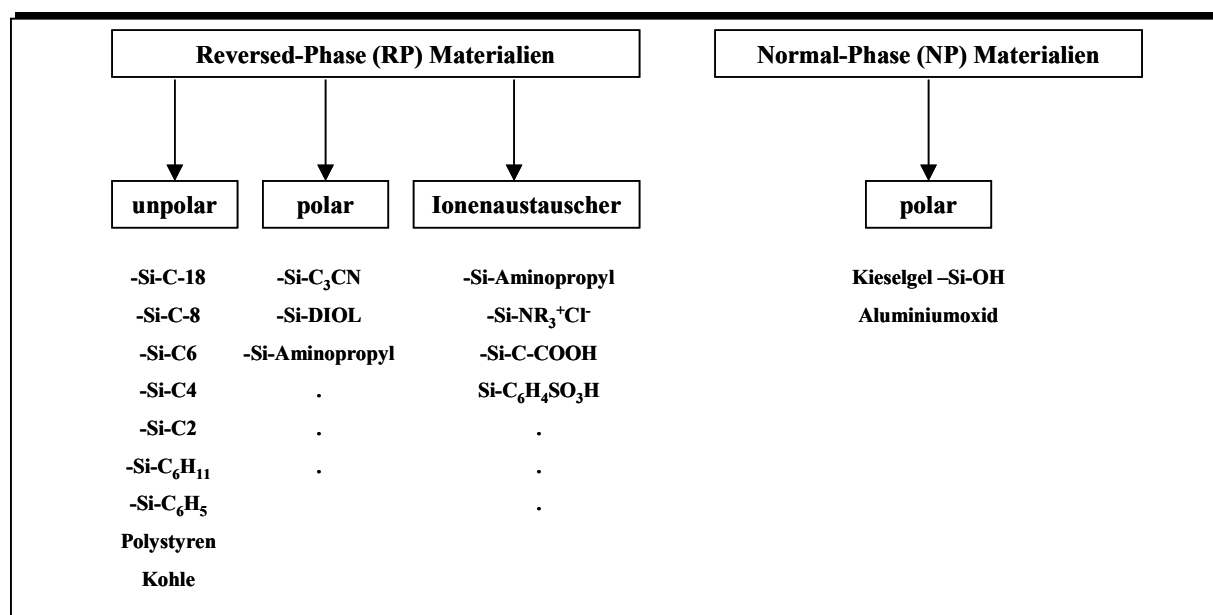


Abb. 3.1: Übersicht über die Zuordnung und Beispiele von Festphasenmaterialien für die HPLC und SPE; aus [59]

Durch Derivatisierung von Kieselgel mit Silanen entstehen unpolare Materialien mit Eigenschaften, die durch das eingesetzte Silan bestimmt werden. [60,61,62] In Abbildung 3.1 ist eine Übersicht über die verschiedenen Klassen stationärer Phasen dargestellt. Zu jeder Klasse sind einige Beispiele von häufig verwendeten Vertretern der Gruppe angegeben. [59] Die Phantasie bei der Synthese neuer Materialien kennt dabei jedoch keine Grenzen, wodurch weitaus mehr Phasen für die HPLC und SPE entwickelt wurden als in der Abbildung aufgelistet sind. Aus diesem Grund sollen die wichtigsten Gruppen von stationären Phasen näher vorgestellt werden, wobei es ausschließlich um RP-Phasen geht.

3.1.1 Stationäre Phasen auf Kieselgel- und Aluminiumoxidbasis

Unter diese Phasen fallen alle Materialien, die als Grundlage Kieselgel oder Aluminiumoxid verwenden und durch substituierte Silane derivatisiert sind. Entscheidend für die Selektivität der Phase ist die chemische Struktur des eingesetzten Chlorsilans.

Die wohl am meisten verwendeten Phasen in der HPLC sind alkylsubstituierte Kieselgele. Die Alkylkette besteht dabei aus 2 bis 30 Methyleneinheiten. [63] Neben n-Alkanen werden auch zyklisierte aliphatische Gruppen, wie z.B. Cyclohexylphasen, verwendet. Diese Materialien zeichnen sich aufgrund fehlender polarer funktioneller Gruppen durch eine sehr unpolare Oberfläche aus. Kleine Unterschiede bestehen in der Anzahl freier Silanolgruppen an der Kieselgeloberfläche. Man unterscheidet die endcapped von den non-endcapped Materialien. Letztere werden nach der Derivatisierung nicht weiter behandelt, wodurch noch freie polare Silanolgruppen auf der Kieselgeloberfläche zurückbleiben. Diese Materialien werden hauptsächlich in der SPE eingesetzt. Die in der HPLC verwendeten Materialien werden nach der Derivatisierung noch mit z.B. Hexamethyldisilazan umgesetzt, um den Silanolgruppenanteil weiter zu verringern. Dies nennt man Endcapping.

Neben den alkylsubstituierten Phasen ohne funktionelle Gruppen werden auch aliphatische polare Phasen wie 2,3-Dihydroxypropoxypropyl-, Aminopropyl und Cyanopropylphasen verwendet. [59]

Des weiteren finden aromatisch substituierte Materialien Anwendung, die aufgrund des ausgeprägten π -Elektronensystems der aromatischen Gruppen deutlich andere Selektivitäten aufweisen als aliphatische Phasen. [64]

Da Kieselgelmaterialien eine deutliche Instabilität bei pH-Werten der mobilen Phase kleiner zwei und größer neun aufweisen, wurde nach einer anderen Basis für die stationären Phasen gesucht. Dabei erwies sich Aluminiumoxid als geeignetes Material für eine Oberflächenderivatisierung, auf dessen Basis *Forgács und Cserhádi* 1994 eine polyethylen-

beschichtete Phase herstellten. [65] Aufgrund der schlechten Derivatisierungsmöglichkeiten von Aluminiumoxid werden solche Phasen nur selten verwendet. Als weiteres Basismaterial wird Zirkoniumdioxid verwendet. Neben polystyrenbeschichteten Zirkoniumphasen kommen auch Polybutadienmaterialien auf Zirkoniumoxiddbasis zum Einsatz. [66,67]

3.1.2 Stationäre Phasen auf Polystyrenbasis

Die Verwendung von Polystyrenmaterialien in der HPLC und besonders in der SPE begann in den 60er Jahren. *Rohm and Haas Company* stellten ein quervernetztes Harz, *Amberlite XAD-1*, als Extraktionsmaterial vor. [68] Die erste Veröffentlichung über die Verwendung von XAD-1 zum Anreichern organischer Verbindungen aus Wasser erschien 1969 von *Riley und Taylor*. [69] In den folgenden Jahren wurden weitere Polystyrenmaterialien (*Amberlite XAD-2*, *XAD-4*, *XAD-7* und *XAD-8*) hergestellt, die auch für die Extraktion polarer Substanzen (schwache organische Säuren und Basen) verwendet wurden. Diese verbesserte Extraktionskraft lag an der Verwendung von Ethylen-Dimethylacrylaten als Basismaterial. 1974 veröffentlichten *Junk et al.* [70] eine umfangreiche Studie über die Anreicherung organischer Substanzen aus Wasser auf XAD-2. Eine große Zahl von Substanzen konnte zwischen 10 und 100 ppb, einige Pestizide sogar im ppt-Bereich, zufriedenstellend extrahiert werden. Diese Untersuchung führte zu einer weiten Verbreitung der SPE-Materialien in der Probenvorbereitung und aufgrund der große Nachfrage zur Entwicklung neuer Polystyrenmaterialien.

Die heute gängigen Materialien sind hoch quervernetzte Polymere wie *Envi-Chrom P* (*Supelco*, *Bellefonte*, PA, USA), *LiChrolut EN* (*Merck KGaA*, *Darmstadt*, Deutschland) oder *PLRP-s* (*Polymer Labs.*, *Amherst*, MA, USA). Sie haben einen hohen Grad an Vernetzung und eine offenere Struktur (große Porosität), wodurch sich die Oberfläche stark erhöht. Neben diesen normalen Divinylbenzen-Polystyrenmaterialien (DVB-PS) gibt es aber auch bereits derivatisierte Phasen, die durch polare Gruppen bessere Extraktionseigenschaften für polare Analyten besitzen. Dazu gehören *ENV+* (*IST*, *International Sorbent Technology Ltd.*), das Hydroxylgruppen besitzt und *Oasis HLB* (*Waters Corporation*, USA), welches ein Divinylbenzen-n-vinylpyrrolidin Copolymer ist. Sie zeichnen sich durch eine bessere Benetzbarkeit und reproduzierbarere Wiederfindungsraten aus. *Sun und Fritz* verwendeten *Amberchrom CG 161* (*Supelco*, *Bellefonte*, PA, USA), ein reines DVB-PS, zur Herstellung eines acetylierten und hydroxylierten Harzes. [71,72] Das gleiche Ausgangsmaterial wurde sulfoniert, wodurch eine starke Vergrößerung der Polarität des Materials erreicht werden konnte. [73,74]

Masqué et al. verwendeten Amberchrom, um ein Benzoyl- und o-Carboxybenzoylderivat herzustellen. [75,76,77,78]

Neben polar funktionalisierten Harzen werden auch sogenannte Immunosorbentien auf PS-Basis verwendet. Die Extraktion von Analyten erfolgt nach dem Antigen-Antikörper-Prinzip, wobei die Antikörper auf dem SPE-Material immobilisiert sind. [79,80,81] Neben der selektiven Extraktion kommt es aber auch zu Kreuzreaktionen, wodurch auch Analyten mit einer ähnlichen Struktur extrahiert werden.

Ein weiterer Versuch, sogenannte analytselektive Materialien herzustellen, sind die molekular geprägten Polymere (MIP, engl.: molecular imprinted polymers). Bei der Herstellung dieser Polymere werden Zielmoleküle der Polymerisation beigelegt, die später ausgewaschen werden und eine analytstruktur-selektive „Lücke“ im Polymer hinterlassen. [82,83]

Die hohe Variabilität der PS-Materialien und die daraus resultierenden hervorragenden Eigenschaften als Extraktionsmaterial haben zu einer weiten Verbreitung in der SPE geführt. Im Vergleich zu vielen anderen Materialien sind sie retentiver, ermöglichen es aber gleichzeitig, die Analyten wieder zu eluieren. Eine gute Übersicht über zahlreiche SPE-Materialien findet man in zahlreichen Übersichtsartikeln. [1,2,68,84,85] Die hier und unter 3.1.1 vorgestellten Phasen und die dazu zitierte Literatur sind nur ein kleiner Teil der tatsächlich existierenden, und es sollte nur eine kurze Übersicht über die gängigsten Materialien gegeben werden. Gerade in der HPLC werden sehr viele Spezialphasen für die Trennung von chiralen oder besonders große Substanzen, wie z.B. Proteinen verwendet, die hier nicht vorgestellt werden.

3.2 Charakterisierung von Festphasenmaterialien anhand LFER's

In den letzten zehn Jahren wurde das Interesse an neuen stationären Phasen immer größer, wodurch viele neue Phasentypen mit neuen Selektivitäten entwickelt wurden. Gleichzeitig kam aber auch immer mehr die Frage nach dem Zusammenhang zwischen chemischer Struktur und Retention auf. So gibt es bis heute eine ausgiebige Diskussion über den dominanten Retentionsmechanismus in der Chromatographie, besonders in der Flüssigchromatographie. Das LSER-Modell nach *Abraham* ist eine Möglichkeit zur Aufklärung dieser Fragen. Es schlüsselt die in einem chromatographischen System vorherrschenden Wechselwirkungen in konkrete Zahlenwerte auf und ermöglicht so ein besseres Verständnis von z.B. Phasenselektivitäten. Der Einfluß einer vorgenommenen

Veränderung kann anhand der physikalisch-chemischen Eigenschaften direkt nachvollzogen werden, wodurch gezielt Synthesen möglich sind. Die Anwendung des LSER-Modells für gezielte Phasensynthesen steckt jedoch noch in den Anfängen, da wenig über die Bedeutung und Größe der physikalisch-chemischen Parameter bekannt ist. Auch der Einfluß der mobilen Phase auf diese Eigenschaften wird z.Z. noch erforscht. Dabei werden zumeist alkylsubstituierte Phasen auf Kieselgelbasis verwendet. Sie lieferten die ersten Erfahrungswerte für die LSER-Parameter. Neben diesen Phasen wurden in den letzten Jahren vermehrt auch funktionalisierte Festphasenmaterialien charakterisiert. Die durchgeführten Untersuchungen und deren Ergebnisse sollen in diesem Kapitel kurz vorgestellt werden.

3.2.1 Charakterisierung von Festphasenmaterialien auf Kieselgelbasis

Die Charakterisierung von stationären Phasen anhand LFERs wird von verschiedenen Arbeitsgruppen durchgeführt. Die meisten beschäftigen sich mit der Untersuchung von aliphatischen Phasen ohne funktionelle Gruppen unter Verwendung verschiedener mobiler Phasen. Im folgenden soll eine kurze Übersicht über die aktuelle Literatur zu diesem Thema gegeben werden.

Im Rahmen der Entwicklung seines Modells untersuchte *Abraham* einen umfangreichen Satz von C₁₈-Phasen verschiedener Hersteller, wobei er auf Untersuchungen unterschiedlicher Arbeitsgruppen zurückgriff. [86,87] Als mobile Phasen wurden unterschiedliche Zusammensetzungen von Methanol, Acetonitril oder Tetrahydrofuran mit Wasser verwendet. 1997 veröffentlichten *Abraham et al.* zwei universelle LSER-Gleichungen für C₁₈-Phasen mit Acetonitril bzw. Methanol als organisches Laufmittel. Er mittelte dabei die Eigenschaften von mehreren stationären Phasen über einen großen Polaritätsbereich der mobilen Phase und erhielt für die chromatographischen Systeme a) C₁₈-Methanol-Wasser und b) C₁₈-Acetonitril-Wasser folgende Gleichungen [87]:

$$\text{a) } \log k_{\text{MeOH}} = c + v (0,13R_2 - 0,32\pi^H_2 - 0,22\Sigma\alpha^H_2 - 0,90\Sigma\beta^H_2 + 1,00V_x/100) \quad \text{Gl. 3.1a}$$

$$\text{b) } \log k_{\text{ACN}} = c + v (0,18R_2 - 0,33\pi^H_2 - 0,26\Sigma\alpha^H_2 - 0,92\Sigma\beta^H_2 + 1,00V_x/100) \quad \text{Gl. 3.1b}$$

Diese Arbeit nimmt einen wichtigen Stellenwert ein, da *Abraham* die „normalisierten Eigenschaften“ einführte. Sie ermöglichen einen direkten Vergleich von Eigenschaften stationärer Phasen.

Weitere Untersuchungen wurden von *Carr et al.* durchgeführt. Neben horizontal polymerisierten Phasen [88] wurden auch C₈-Phasen charakterisiert. Es wurde dabei u. a. der Einfluß von aliphatischen, aromatischen oder aliphatischen und aromatischen Analyten auf die Ermittlung der LSER-Eigenschaften sowie der Einfluß der mobilen Phase getestet. [89,90] 1999 veröffentlichten *Carr et al.* eine Studie über aromatische, fluoraromatische und fluoraliphatische stationäre Phasen unter Verwendung von Methanol/Wasser als mobile Phase. [91]

Carr, Kaliszan und andere beschäftigten sich auch mit Phasen, die andere Basismaterialien haben. Darunter fallen Phasen auf Aluminiumoxid- und Zirkoniumoxidbasis. Sie sind u.a. mit Polystyren, Polybutadien oder Polyethylen beschichtet und häufig pH-stabiler als ihre analogen Kieselgelphasen. [67,92,93,94]

Ebenfalls mit der Analyse von C₈- und C₁₈-Phasen beschäftigten sich *Sándi et al.* Neben der Betrachtung von Selektivitäten und dem Einfluß der mobilen Phase verwendeten sie chemometrische Methoden für einen Vergleich mit dem LSER-Modell. [95,96,97]

Eine sehr umfangreiche Untersuchung von C₈- und C₁₈-Phasen präsentierten 1999 *Kaliszan et al.* Sie verwendeten Methanol und Acetonitril als organischen Laufmittelbestandteil zum Bestimmen von Retentionsfaktoren. Die gemessenen log k-Werte wurden dann linear auf 100 % Wasser extrapoliert. Mit den so erhaltenen k_w-Werten erfolgte die Bestimmung der Phaseigenschaften. [98]

Im Rahmen einer Studie über Lipophilieparameter wurde schon recht früh eine C₈-Phase im Methanol/Wassersystem charakterisiert. [99]

Sehr umfangreiche Forschungen auf diesem Thema werden auch von *Poole et al.* durchgeführt. Die Untersuchungen beschränken sich dabei nicht nur auf HPLC-Materialien, sondern beziehen auch SPE-Phasen mit ein. Als Solvatationsparameter werden deshalb nicht nur Retentionsfaktoren, sondern z.B. auch Durchbruchvolumina in der SPE verwendet. [100,101,102,103,104,105] Neben C₁₈- und C₄-Materialien untersuchen *Poole et al.* auch polare RP-Phasen, wie Cyanopropyl- oder Propandiolmaterialien. [100,106,107,108]

Neben umfangreichen Studien über RP-Phasen, von denen hier nur ein Ausschnitt vorgestellt wurde, wurden auch NP-Materialien mittels des LSER-Modells charakterisiert. Als mobile Phase fanden dabei 2-Propanol und Hexan Verwendung, bei den stationären Phasen handelte es sich um Kieselgel, Aminopropyl-, Dihydroxypropyl und Cyanopropylphasen. Aufgrund der vertauschten Eigenschaften von mobiler und stationärer Phase im Vergleich zu RP-Phasen besitzen die physikalisch-chemischen Parameter gegensätzliche Werte. [109,110,111]

Die LSER-Gleichung einer Aminopropylphase in Hexan hat folgende Eigenschaften [110]:

$$\log k_{\text{Hexan}} = -1,14 + 0,72 (1,31\pi_2^* + 4,08\Sigma\alpha_2^H + 1,67\Sigma\beta_2^H - 1,00V_x/100) \quad \text{Gl. 3.2}$$

Im Vergleich zu den Eigenschaften von chromatographischen Systemen im RP-Modus sind die Dipolarität, Basizität und vor allem Acidität nun stark positiv, während der Cavity-Term v negativ ist und Lösungsmittelkäfigbildung in der mobilen Phase favorisiert.

Die bislang erwähnten Charakterisierungen von stationären Phasen beziehen sich alle auf isokratische Laufmittelbedingungen. Für analytische Trennprobleme wird aber überwiegend ein Gradient in der Polarität der mobilen Phase benötigt, wodurch die Phaseneigenschaften für eine Berechnung von Trennungen unbrauchbar sind. 1997 führten *Valkó et al.* den chromatographischen Hydrophobizitätsindex (CHI) ein, der die Retentionszeit einer Substanz direkt einer Konzentration der organischen mobilen Phase zuordnet, wenn mit einem Gradienten gearbeitet wird. Der CHI steht in einem linearen Zusammenhang mit den isokratischen $\log k$ -Werten und kann somit als Solvatationsparameter angesehen werden. [112,113,114]

3.2.2 Charakterisierung von Festphasenmaterialien auf Polystyrenbasis

Mit der Analyse der physikalisch-chemischen Eigenschaften von Polystyrenmaterialien haben sich bislang nur wenige Arbeitsgruppen beschäftigt. Dies liegt vor allem an der praktischen Bestimmung eines geeigneten Solvatationsparameters. Polystyrenmaterialien sind ausgesprochen retentiv, wodurch eine Bestimmung von Retentionsfaktoren in der HPLC nur mit sehr polaren Analyten bei unpolaren mobilen Phasen durchgeführt werden kann. Eine sehr wichtige Arbeit zu diesem Thema wurde 1997 von *Bolliet und Poole* veröffentlicht. [115,116] Sie füllten zwei Polystyrenmaterialien (PLRP-S 100 und PLRP-S 300) nach der tap and fill Methode in 35 x 4,6 mm HPLC Säulen. Unter Verwendung von 2-Propanol, Methanol und Acetonitril wurden bei verschiedenen Zusammensetzungen der mobilen wäßrigen Phasen die Retentionsfaktoren von 30 Analyten bestimmt. Für die beiden Materialien ergaben sich bei 50 % Methanol folgende LSER-Gleichungen:

$$\text{a) } \log k_{\text{PLRP-S 100}} = -0,25 + 2,77 (0,16R_2 - 0,40\Sigma\alpha_2^H - 1,07\Sigma\beta_2^H + 1,00V_x/100)$$

$$\text{b) } \log k_{\text{PLRP-S 300}} = -0,24 + 2,88 (0,09R_2 - 0,15\pi_2^H - 0,46\Sigma\alpha_2^H - 0,92\Sigma\beta_2^H + 1,00V_x/100)$$

Gl. 3.3

Die Ergebnisse sind denen von C₁₈-Phasen, bei denen v bei 50 % Methanol bei ca. 2-2,3 liegt, sehr ähnlich. Neben eines größeren Cavity-Terms ist vor allem die Basizität auffallend kleiner als bei C₁₈-Phasen.

Weitere Untersuchungen von Polystyrenmaterialien wurden von *Abraham et al.* durchgeführt. [117] Sie verglichen die LSER-Eigenschaften von Polystyrenmaterialien mit denen von Wasser/Oktanol- bzw. Wasser/Alkan-Verteilungssystemen. Bei ähnlichen Eigenschaften wird ein annähernd gleicher Mechanismus postuliert, wodurch die RP-HPLC Messung das Verteilungsexperiment ersetzen könnte.

4 Problemstellung und Zielsetzung der Arbeit

Problemstellung

Chemiker sind sich einig, daß es generell leichter ist, eine Substanz mit einer definierten chemischen Struktur als eine mit konkreten physikalisch-chemischen Eigenschaften zu synthetisieren. Die Vorhersage von Analyteigenschaften ist bis heute ein „wissenschaftliches Ratespiel“. [118] Dies ist einer der Gründe, warum die Retention und Retentionsmechanismen in der Flüssigchromatographie immer noch nicht zufriedenstellend aufgeklärt sind. Es existiert noch kein Modell, welches die Retentionszeiten von vielen Analyten exakt berechnen könnte. Die Ursache sind die fehlenden Kenntnisse über die physikalisch-chemischen Eigenschaften von Analyt, stationärer und mobiler Phase, und deren Wechselwirkungen untereinander. Die Entwicklung neuer Festphasenmaterialien für die Flüssigchromatographie oder Extraktion von Analyten geschieht deshalb nur durch die bewährte Methode „trial and error“. Dabei wird im Anschluß an die Herstellung einer neuen stationären Phase nach einem analytischen Trennproblem gesucht, das diese Phase lösen kann.

In der Praxis der analytischen Chemie werden Festphasenmaterialien sowohl für Probenvorbereitung (SPE) als auch für die Probentrennung (HPLC, Schwerkraftflüssigchromatographie, usw.) verwendet. Die große Nachfrage und Vielzahl unterschiedlicher analytischer Trenn- und Extraktionsprobleme hat zu der Entwicklung einer enormen Anzahl stationärer Phasen mit unterschiedlichen Selektivitäten geführt. In Routinelaboratorien werden aber dennoch nur zwei bis vier Phasentypen in der SPE und HPLC verwendet. Der Grund ist der große Zeitaufwand bei der Auswahl des geeigneten chromatographischen Systems, denn dieses geschieht fast ausschließlich empirisch. Häufig wird zugunsten der Zeit und auf Kosten der Genauigkeit auf eine optimale Trennung verzichtet.

Die Verwendung neuer Materialien hat es ermöglicht, vorhandene Probleme in der Probenanreicherung zu lösen. Gleichzeitig haben sie aber auch zu neuen Fragen geführt, denn durch die verbesserten Eigenschaften konnten Substanzen angereichert werden, die zuvor nicht extrahiert wurden und somit für den Analytiker praktisch auch nicht vorhanden waren. Eines der neuen Probleme, welches einer Lösung zugeführt werden soll, ist die Anreicherung sehr polarer organischer Substanzen aus Wasser. Es ist bislang immer noch notwendig, gewisse Substanzklassen, z.B. Sulfonsäuren, und Abbauprodukte von Herbiziden oder Pestiziden, z.B. Triazinderivate, vor ihrer Analyse zu derivatisieren, da sie sich sonst nicht extrahieren lassen.

Zielsetzung

Da wenig über Ursache und Wirkung von chemischen Strukturen auf chromatographische Eigenschaften bekannt ist, soll eine Methode zur Charakterisierung von stationären Phasen anhand ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften unter Verwendung des LSER-Modells von *Abraham* entwickelt werden.

Anhand der gesammelten Erkenntnisse sollen dann gezielt stationäre Phasen für die HPLC und SPE für die Analytik polarer Verbindungen synthetisiert und charakterisiert werden. Insbesondere der Einfluß von polaren Wechselwirkungen wie Acidität, Basizität und Dipolarität soll bei den Untersuchungen im Vordergrund stehen.

Eine Klassifizierung der untersuchten Materialien kann dann ein erster Schritt zur Vereinfachung der Auswahl chromatographischer Systeme für Trenn- und Extraktionsprobleme sein.

Die Funktionalität des LSER-Modells und der Klassifizierung soll in praktischen Versuchen überprüft werden.

5 Festphasenmaterialien auf Kieselgelbasis

Dieses Kapitel beschäftigt sich ausschließlich mit der Charakterisierung von Festphasenmaterialien, die auf der Grundlage von Kieselgel hergestellt wurden. Dabei handelt es sich bei allen fünf untersuchten stationären Phasen um reversed-phase Materialien, also um Phasen mit unpolarer Oberfläche. Sie unterscheiden sich jedoch in der chemischen Struktur des zur Oberflächenmodifizierung verwendeten Chlorsilans, in der Korngröße des Kieselgels und in der Anzahl freier Hydroxylgruppen an der Kieselgeloberfläche. Vier der fünf Festphasenmaterialien, ein Oktadecylsilyl-gebundenes 5µm (ODS-5µm), ein Polyethersilyl-gebundenes 5µm (PoEt), ein Phenylthiobutanosilyl-gebundenes 5µm (PBS) und eine Phenylsulfoxidbutanosilyl-gebundenes 5µm (PBSO) Material sind stationäre Phasen für die HPLC. Eine Oktadecylsilyl-gebundene 50µm Phase wird in der Festphasenextraktion eingesetzt.

Für eine qualitative und quantitative Analyse der chemisch-physikalischen Eigenschaften dieser fünf Festphasenmaterialien werden zunächst die Retentionsfaktoren ausgewählter Analyten in Abhängigkeit vom Laufmittel bestimmt. Diese werden dann verwendet, um eine der Analytenanzahl entsprechende Menge von LSER-Gleichungen mit unbekannten Phaseigenschaften aufzustellen. Bei der Auswahl der Analyten wird der Schwerpunkt auf polare acide Verbindungen gelegt, da sich diese Arbeit auf die Analytik dieser Substanzen konzentriert. Über eine multiple lineare Regression der 20 Gleichungen erhält man dann eine Lösung der Gleichung für jede stationäre Phase, die die chemisch-physikalischen Eigenschaften des chromatographischen Systems enthalten. Durch die Kenntnis der bei der Retention eines Analyten vorherrschenden Wechselwirkungen kann dann gezielt eine neue stationäre Phase mit den zur Wechselwirkung beitragenden Elementen synthetisiert werden. Die so berechneten Daten werden für eine Vorhersage von Elutionsreihenfolgen polarer Analyten verwendet und diese experimentell überprüft. Der größte Teil dieser Ergebnisse ist bereits veröffentlicht. [119]

5.1 Übersicht über die Verfahrensweise

Zu Beginn dieses Kapitels soll die Verfahrensweise vorgestellt und erläutert werden. In Abbildung 5.1 ist die Vorgehensweise der Charakterisierung der Festphasenmaterialien zusammenfassend dargestellt.

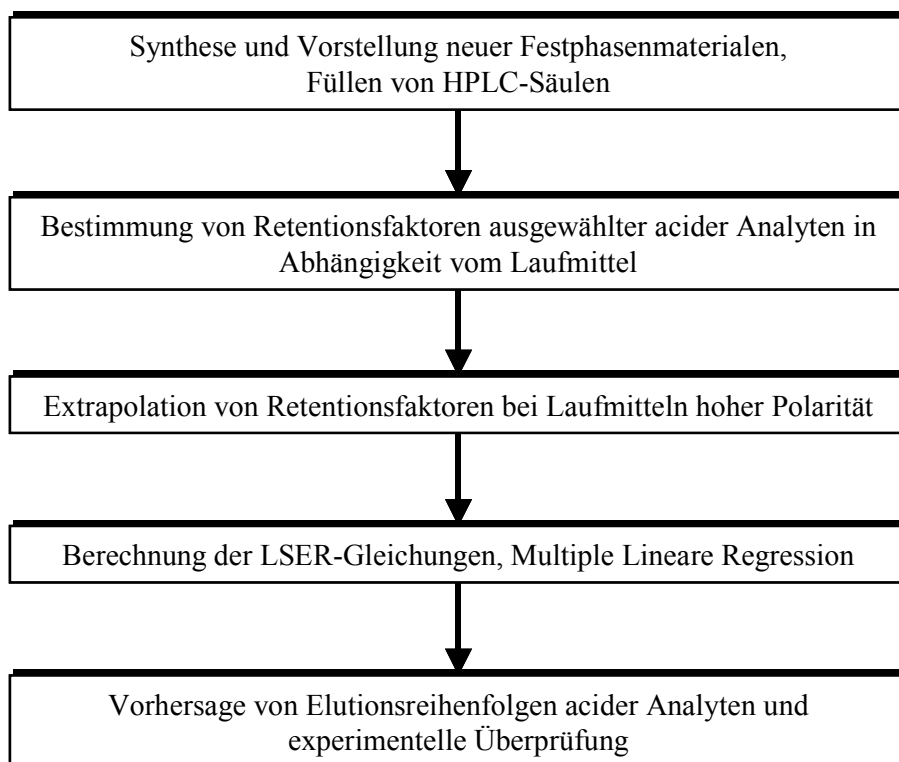


Abb. 5.1: Die Verfahrensweise zur Untersuchung und Charakterisierung von Festphasenmaterialien auf Kieselgelbasis

Zu Beginn werden die verwendeten Festphasenmaterialien vorgestellt. Dabei handelt es sich zum Teil um kommerziell erhältliche, aber auch um synthetisierte stationäre Phasen für die HPLC. Die synthetisierten HPLC und die kommerzielle SPE Phase werden dann über zwei verschiedene Methoden in HPLC-Säulen gefüllt und konditioniert.

Im weiteren Prozeß werden dann die Retentionsfaktoren von 20 polaren aromatischen Analyten bei unterschiedlichen Laufmittelzusammensetzungen gemessen. Beim Laufmittel handelt es sich stets um Methanol/Phosphatpuffer (pH 2) mit variierenden Methanolanteilen. Aus den gemessenen Retentionsfaktoren der Analyten lassen sich dann durch eine polynomische Regression Retentionszeiten bei sehr polaren Laufmitteln berechnen. Mit den so gemessenen und extrapolierten Retentionsfaktoren läßt sich nun im vierten Arbeitsschritt eine multiple lineare Regression zur Bestimmung der LSER-Gleichung jeder stationären Phase bei jedem Laufmittel durchführen. Die Laufmittelabhängigkeit der Phaseneigenschaften erlaubt es nicht, nur eine einzige LSER-Gleichung für jedes Festphasenmaterial aufzustellen. Im fünften und letzten Schritt werden die bekannten Eigenschaften der stationären Phasen für die Berechnung und somit Vorhersage von Elutionsreihenfolgen acider Analyten genutzt. Die Qualität der Vorhersage wird im Experiment überprüft.

5.2 Vorstellung und Synthese der verwendeten Festphasenmaterialien

An dieser Stelle sollen die hier untersuchten und charakterisierten stationären Phasen vorgestellt werden. Die ODS-Phasen sind kommerziell erhältlich; die PoEt, PBS und PBSO-Phasen werden synthetisiert.

5.2.1 Oktadecylsilyl-gebundenes 5µm Material für die HPLC (ODS-5µm)

Bei dieser stationären Phase handelt es sich um ein reversed-phase Material von Macherey-Nagel in Düren. Als Kieselgel wird Nucleosil HD (high density) mit einer Partikelgröße von 5 µm und einer Oberfläche von 350 m²/g verwendet. Es zeichnet sich durch eine sphärische Partikelform und eine durchschnittliche Porengröße von 100 Å aus. Die Oberflächenbelegung beträgt laut Herstellerangaben 2,4 µmol/m². Nach der Belegung wird das Material einem Endcapping unterzogen, so daß nur noch wenige freie Silanolgruppen vorhanden sind. Die Struktur des Festphasenmaterials ist in Abbildung 5.2 dargestellt.

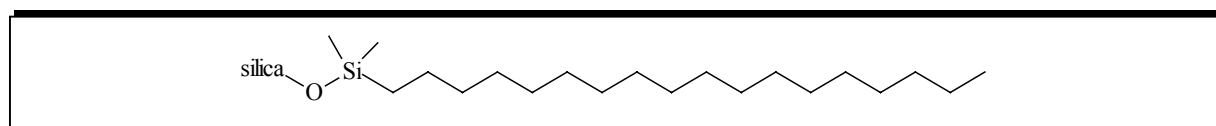


Abb. 5.2: Struktur der ODS-5µm-Phase

Das Material wird in einer HPLC-Säule mit den Dimensionen 125 x 3.0 mm Innendurchmesser und einer Vorsäule des selben Materials von 10 x 3.0 mm geliefert.

5.2.2 Oktadecylsilyl-gebundenes 50µm Material für die SPE (ODS-50µm)

Diese stationäre Phase ist ein reversed-phase Material von International Sorbent Technology (IST), das in der Festphasenextraktion (engl.: solid-phase extraction, SPE) eingesetzt wird. Es handelt sich um ein C₁₈-modifiziertes Kieselgel mit der Produktbezeichnung ISOLUTETM C18. [120] Die durchschnittliche Porengröße beträgt 50 µm, variiert aber zwischen 30 und 75 µm, die Oberfläche umfaßt 521 m²/g. Laut Herstellerangaben beträgt die Oberflächenbelegung 1,5 µmol/m², was einem Kohlenstoffgehalt von 17,3 % entspricht. Das Kieselgel wird nach der Belegung keinem Endcapping unterzogen, wodurch sich noch freie Silanolgruppen auf der Oberfläche befinden. Die Struktur der stationären Phase entspricht der in Abbildung 5.2.

Füllen der HPLC-Säule

Das Material wird trocken nach der „tap and fill“ Methode [115,116] in eine 50 x 4.0 mm Innendurchmesser dimensionierte HPLC-Säule gefüllt. Dabei wird die Säule ständig leicht

auf den Tisch geklopft, wodurch die Packung verdichtet wird. Erst wenn sich die Füllhöhe durch ständiges Klopfen nicht mehr verändert, wird die Säule bis zum oberen Rand gefüllt und verschraubt. Die eingefüllte Menge Kieselgel beträgt 463 mg, was durch eine Differenzwägung vor und nach dem Füllen der Säule ermittelt wird.

Konditionieren der Säule

Das Konditionieren erfolgt bei einem Fluß von 1 mL/min 30 Minuten mit Methanol, 30 Minuten mit Methanol/Wasser (1:1) und wieder mit Methanol, bis im UV-Detektor eine konstante Absorption erreicht ist. Anschließend wird die Säule am Säulenanfang vorsichtig aufgeschraubt und auf ein eventuell vorhandenes Totvolumen hin überprüft. Ist keines vorhanden, wird sie wieder verschraubt; im anderen Fall aufgefüllt und erneut konditioniert.

5.2.3 Polyethersilyl-gebundenes 5µm Material für die HPLC

Das für die Synthese verwendete Kieselgel ist LiChrospher mit einer Oberfläche von 300 m²/g. Die Partikelform ist sphärisch und die Partikelgröße beträgt 5 µm. Ebenso wie beim ODS-5µm Material beträgt die Porengröße 100 Å. Der Ligand für die Oberflächenbelegung wird über eine zweistufige Synthese hergestellt, an deren Ende ein Chlorsilan steht, das dann für die Belegung des Kieselgels eingesetzt wird.

5.2.3.1 Synthese von 4,7,10,13-Tetraoxatetra-1-decen

Bei dieser Reaktion handelt es sich um eine Williamson-Ethersynthese [121] aus 3-Brompropen und Triethylenglycolmonomethylether. Der Reaktionsweg ist in Abbildung 5.3 dargestellt. Es handelt sich dabei um eine neue Verbindung.

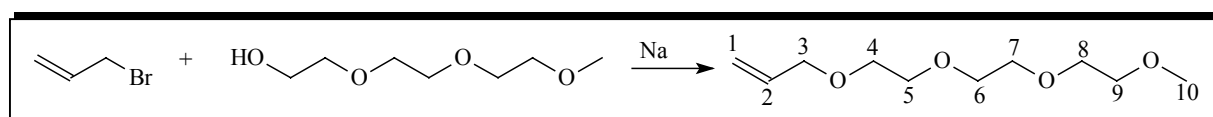


Abb. 5.3: Reaktionsweg der Synthese von 4,7,10,13-Tetraoxatetra-1-decen

In einem Dreihalskolben mit Rührer und Rückflußkühler werden 6 g (0,25 mol) Natrium in kleinen Stücken vorgelegt und langsam unter Kühlung 164 g (1 mol) Triethylenglycolmonomethylether zugetropft. Zu der Lösung wird 1 Spatelspitze wasserfreies Kaliumjodid gegeben und langsam werden 61 g (0,25 mol) Allylbromid zugetropft. Nach Beendigung des Zutropfens wird die Lösung 5 h unter Rückfluß erhitzt. Danach wird die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und in 1 L Wasser gegeben. Die wäßrige Phase wird

dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach der Destillation erhält man eine farblose Flüssigkeit.

Ausbeute: 21 g (41 %)

Siedepunkt: 160 °C_{20 mbar}

$n_D^{20} = 1,4362$

Elementaranalyse: 57,2 % C (58,8 % ber.), 8,7 % H (9,8 % ber.)

¹H-NMR: δ (CDCl₃) = 6,00-5,85 (m, 1 H, H₂); 5,3-5,15 (m, 2 H, H_{1,1'}); 4,05 (m, 2 H, H_{3/3'}); 3,7-3,55 (m, 12 H, H_{4/4'-10/10'}) ppm.

¹³C-NMR: δ (CDCl₃) = 135 (s, C₁); 117 (s, C₂); 72,7 (m, C₄₋₉); 69 (s, C₁₀) ppm.

5.2.3.2 Synthese von Chlorodimethyl-(4,7,10,13-tetraoxatetradecyl)-silan

Bei dieser Synthese handelt es sich um eine Hydrosilylierung, bei der Dimethylchlorsilan unter der Einwirkung von Katalysatoren, Hexachloroplatinsäure und Kupfer, an eine Doppelbindung addiert wird. [122] Der Reaktionsweg dieser Synthese ist in Abbildung 5.4 dargestellt.

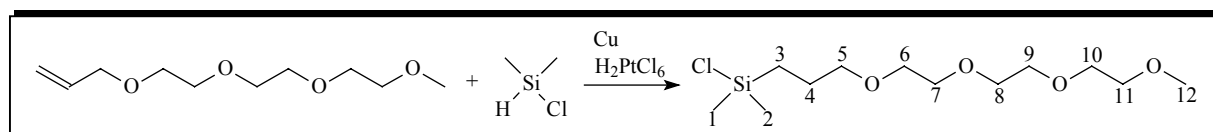


Abb. 5.4: Reaktionsweg der Synthese von Chlorodimethyl-(4,7,10,13-tetraoxatetradecyl)-silan

In einer trockenen und mit Stickstoff gespülten Apparatur bestehend aus einem Dreihalskolben mit Rührer, Rückflußkühler und Innenthermometer werden 10 g (50 mmol) 4,7,10,13-Tetraoxatetra-1-decen vorgelegt und 2 mL trockener Isopropylalkohol, eine Spatelspitze Kupferpulver und eine Spatelspitze Hexachloroplatinsäure zugefügt. Unter Kühlung werden langsam 10 g (0,1 mol) Dimethylchlorsilan zugetropft, wobei die Innentemperatur nicht über 35 °C steigen darf. Nach Beendigung des Zutropfens wird die Suspension 1 h unter Rückfluß erhitzt. Für die Aufarbeitung wird die Suspension nach Abkühlung auf Raumtemperatur durch einen Papierfilter filtriert und anschließend das Produkt destilliert. Man erhält eine farblose Flüssigkeit.

Ausbeute: 8,4 g (56 %)

Siedepunkt: 140 °C_{0,01 mbar}

$n_D^{20} = 1,4286$

Elementaranalyse: 46,5 % C (48,3 % ber.), 8,7 % H (9,1 % ber.)

$^1\text{H-NMR}$: δ (CDCl_3) = 3,9-3,5 (m, 16 H, $\text{H}_{4/4'-11/11'}$); 3,4 (s, 3 H, H_{12}); 1,2 (m, 2 H, $\text{H}_{3/3'}$); 0,2-0,1 (m, 6 H, $\text{H}_{1/2}$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: δ (CDCl_3) = 73,5-71,6 (m, C_{6-11}); 62,6 (s, C_5); 60,0 (s, C_{12}); 27,0 (s, C_4); 2,0 (s, C_3); 1,0 (m, $\text{C}_{1/2}$) ppm.

5.2.3.3 Reaktion des Kieselgels mit Chlorodimethyl-(4,7,10,13-tetraoxatetradecyl)-silan

Die Belegung des Kieselgels mit einem Chlorsilan erfolgt über die Abspaltung von Salzsäure, wodurch eine feste chemische Bindung zum Kieselgel entsteht. [60,61,62,64]

In einem ausgeheizten Dreihalskolben mit KPG-Rührer und Tropftrichter werden 5 g bei 120 °C getrocknetes LiChrospher Kieselgel in 40 mL trockenem Toluol suspendiert. Dann werden langsam 4,6 g (15,5 mmol) Chlorodimethyl-(4,7,10,13-tetraoxatetradecyl)-silan zugetropft. Nach Beendigung der Zugabe werden 3,1 g (31 mmol) Triethanolamin zugetropft. Die Suspension wird 12 h unter Rückfluß und ständigem Rühren erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Kieselgel über eine Glasfritte abfiltriert und mit Toluol, Tetrahydrofuran, Ethanol und Ethanol/Wasser (1:1) gewaschen. Nachdem das Kieselgel für 24 h bei 120 °C getrocknet wurde, wird der Kohlenstoffgehalt mittels Elementaranalyse bestimmt.

Elementaranalyse: 5,4 % C; 1,6 % H

Aus dem Kohlenstoffgehalt läßt sich über folgende Gleichung die Belegung in mol/g berechnen [123]:

$$\theta = \frac{\text{CG}}{M_{\text{C}} \cdot n_{\text{C}} - \text{CG} \cdot (M_{\text{S}} - M_{\text{HCl}})} \quad \text{Gl. 5.1}$$

mit	θ	Oberflächenbelegung in mol/g
	CG	Kohlenstoffgehalt in %
	M_{C}	Molmasse Kohlenstoff in g/mol
	n_{C}	Anzahl der Kohlenstoffatome im Silan
	M_{S}	Molmasse des eingesetzten Silans in g/mol
	M_{HCl}	Molmasse der freiwerdenden Salzsäure in g/mol

Aus den Ergebnissen der Elementaranalyse ergibt sich eine Oberflächenbelegung von 0,41 mmol/g, was bei einer Oberfläche von 300 m²/g einer Belegung von 1,3 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$

entspricht. Unter der Annahme, daß sich ca. $9 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ freie Silanolgruppen auf der Oberfläche befinden [124], entspricht dies einer Umsetzung von 14 % der Silanolgruppen.

5.2.3.4 Endcapping des Kieselgels

Beim Endcapping werden noch freie Silanolgruppen auf der Kieselgeloberfläche mit Trimethylsilylgruppen besetzt. Als Reagenz wird Hexamethyldisilazan eingesetzt. [64,125,126]

In einer Apparatur, wie sie unter 5.2.3.3 beschrieben wurde, werden 2,0 g Kieselgel in 20 mL trockenem Toluol suspendiert. Dann werden langsam 1,0 g (6,2 mmol) Hexamethyldisilazan zugetropft. Nach Beendigung des Zutropfens wird die Suspension 12 h unter Rückfluß und Rühren erhitzt. Anschließend wird das Kieselgel abfiltriert und mit den unter 5.2.3.3 angegebenen Lösungsmitteln gewaschen. Das Kieselgel wird dann 24 h bei 120°C getrocknet und der Kohlenstoffgehalt mittels Elementaranalyse ermittelt.

Elementaranalyse: 4,3 % C; 1,7 % H

Das Ergebnis deutet darauf hin, daß ein Teil der Belegung durch Hydrolyse abgelöst wurde, da der Kohlenstoffgehalt geringer ist als vor dem Endcapping (5,4 %). Allerdings müßte dann auch der Wasserstoffanteil verringert sein. Da dies nicht der Fall ist, besteht ein deutlicher Widerspruch in den beiden Elementaranalysen.

5.2.4 Phenylthiobutanosilyl-gebundenes $5\mu\text{m}$ Material für die HPLC (PBS)

Bei dieser stationären Phase handelt es sich um ein in unserer Arbeitsgruppe synthetisiertes Material mit variabler Polarität. Als Kieselgel wird LiChrospher verwendet, dessen Materialeigenschaften bereits unter 5.2.3 aufgeführt wurden. Die Herstellung der Phase erfolgt über bereits veröffentlichte Methoden. [64,123] Die Belegung des Kieselgels beträgt $3,1 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ und das Kieselgel wird nach der Belegung noch einem Endcapping unterzogen. Die Struktur der PBS-Phase ist in Abbildung 5.5 dargestellt.

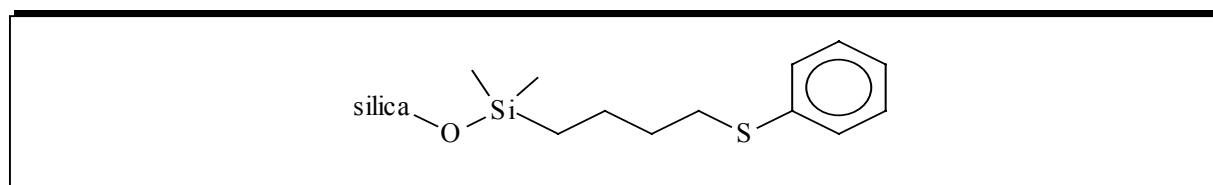


Abb. 5.5: Struktur der Phenylthiobutanosilyl-gebundenen Phase (PBS)

5.2.5 Phenylsulfoxidbutanosilyl-gebundenes 5µm Material für die HPLC (PBSO)

Diese stationäre Phase wird über die selektive Oxidation des Sulfids zum Sulfoxid hergestellt. [64,123] Dies geschieht in der gepackten Säule unter Verwendung eines Oxidationsrohres, das zwischen die Pumpe der HPLC-Anlage und die Säule geschaltet wird. Das Oxidationsrohr enthält Jodosobenzen in Ethanol gelöst. [127] Die Struktur der PBSO-Phase ist in Abbildung 5.6 dargestellt. Durch eine Analyse der PBSO- und PBS-Phase wurde festgestellt, daß die Oxidation der Sulfidgruppe nur zu ca. 35 % gelingt. Die PBSO-Phase ist demnach eine Mischphase aus Sulfid- und Sulfoxidgruppen. [128]

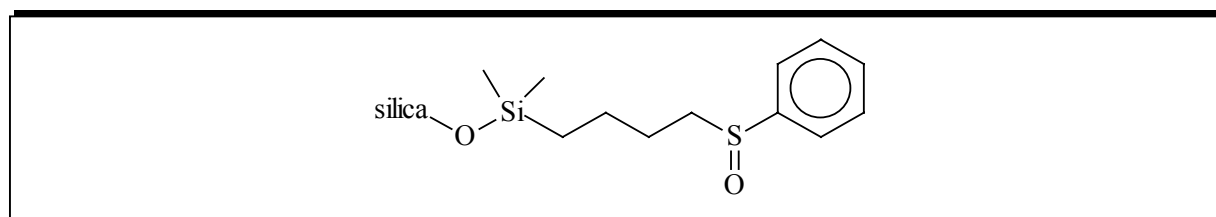


Abb. 5.6: Struktur der Phenylsulfoxidbutanosilyl-gebundenen Phase (PBSO)

Die Belegung der PBSO-Phase ist demnach identisch mit der der PBS-Phase, besteht aber nur zu einem Drittel aus Phenylbutanosulfoxidgruppen.

5.2.6 Füllen und Konditionieren der HPLC-Säulen

Füllen der Säulen

Die 5 µm Materialien werden außer der kommerziellen ODS-Phase (vergl. 5.2.2) nach dem Slurry-Verfahren, oder auch Naßpack- bzw. Druckfiltrationsmethode in die HPLC-Säule gefüllt. [129,130] Das Kieselgel wird in Aceton suspendiert und mit Methanol als Packflüssigkeit bei 500 bar Druck mit Hilfe einer pneumatischen Pumpe in die HPLC-Säule gepreßt.

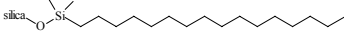
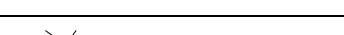
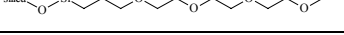
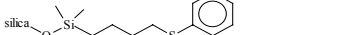
Konditionieren der Säulen

Das Konditionieren der gepackten Säulen erfolgt über folgenden Laufmittelgradienten bei einem Fluß von 1 mL/min: 0-40 min. Methanol (100 %), 50 bis 60 min. Methanol/Wasser (10:90) und ab 90 min. Methanol (100 %), bis eine konstante UV-Absorption erreicht ist.

5.2.7 Zusammenfassung und Übersicht über die verwendeten Festphasenmaterialien

Die hier vorgestellten Festphasenmaterialien auf Kieselgelbasis zeichnen sich durch sehr unterschiedliche Eigenschaften aus. Als gemeinsame Basis haben sie lediglich das Material Kieselgel. Drei Phasen werden mit LiChrospher, eine mit Nucleosil HD und eine mit einem Kieselgel ohne besondere Angaben hergestellt. Vier der fünf Phasen sind endcapped, während das SPE-Material freie Silanolgruppen besitzt. Die vier HPLC-Materialien haben eine Partikelgröße von 5 μm , während das SPE-Material eine durchschnittliche Partikelgröße von 50 μm besitzt. Neben den Unterschieden in ihren physikalischen Eigenschaften besitzen die HPLC-Phasen chemisch sehr unterschiedlich strukturierte Liganden. Es gibt eine „unpolare“ aliphatische Oktadecylkette, eine aliphatische Polyetherkette, und zwei Phasen mit aromatischen Anteilen, die aber jeweils unterschiedlich polarisiert sind. Die chemischen Strukturen der Phasen und ihre physikalischen Eigenschaften sind in Tabelle 5.1 zusammenfassend dargestellt.

Tab. 5.1: Übersicht über die Festphasenmaterialien auf Kieselgelbasis, EC = endcapped

Phase		Kieselgel	Partikelgröße [µm]	Porengröße [Å]	Oberfläche [m ² /g]	Partikel-form	Belegung [µmol/m ²]	EC
	ODS	Nucleosil HD	5	100	350	sphärisch	2,4	ja
	ODS	unbekannt	50	54	520	sphärisch	1,5	nein
	PoEt	LiChrospher	5	100	300	sphärisch	1,3	ja
	PBS	LiChrospher	5	100	300	sphärisch	3,1	ja
	PBSO	LiChrospher	5	100	300	sphärisch	3,1	ja

5.3 Bestimmung des Solvatationsparameters „Retentionsfaktor“ ausgewählter acider Analyten in Abhängigkeit vom Laufmittel

Der Logarithmus des Retentionsfaktors ist ein möglicher Solvatationsparameter der LSER-Gleichung (Gl. 2.30) und somit entscheidend für alle weiteren Analysen. Da die Retention einer Substanz stark von der Zusammensetzung der mobilen Phase abhängt, werden die Retentionsfaktoren der Analyten isokratisch über einen möglichst großen Polaritätsbereich bestimmt. Der Bereich hängt dabei von der Retentionsstärke der jeweiligen stationären Phase ab, liegt aber immer zwischen 80 und 25 % Methanol. Man erhält deshalb nicht nur eine LSER-Gleichung, sondern für jede stationäre Phase jeweils eine Gleichung für jedes Laufmittel.

5.3.1 Vorstellung der Analyten

Für die Bestimmung der Retentionsfaktoren von Analyten werden 20 polare aromatische Substanzen ausgewählt. Sie repräsentieren Verbindungen, die häufig in der Umweltanalytik eine Rolle spielen, da sie Zwischen- oder Endstufen vieler Abbauprozesse sind. Es handelt sich dabei um Phenole mit unterschiedlichen Substitutionen, Carbonsäuren oder Alkohole, deren Analytdeskriptoren literaturbekannt sind [45] oder nach Gl. 2.23 c berechnet werden können.

Tab. 5.2: Physikalisch-chemische Eigenschaften von 20 aciden Analyten [45,48]

Analyt	R_2	π_2^H	α_2^H	β_2^H	$V_x/100$
Benzoessäure	0,730	0,90	0,59	0,40	0,932
Benzylalkohol	0,803	0,87	0,33	0,56	0,916
Benzaldehyd	0,820	1,00	0,00	0,39	0,873
m-Tolylsäure	0,730	0,90	0,59	0,38	1,073
Acetophenon	0,818	1,01	0,00	0,48	1,014
Phenol	0,805	0,89	0,60	0,30	0,775
2-Chlorphenol	0,853	0,88	0,32	0,31	0,897
2-Nitrophenol	1,015	1,05	0,05	0,37	0,949
4-Nitrophenol	1,070	1,72	0,82	0,26	0,949
2-Methylphenol	0,840	0,86	0,52	0,30	0,916
3-Methylphenol	0,822	0,88	0,57	0,34	0,916
4-Methylphenol	0,820	0,87	0,57	0,31	0,916
2-Fluorphenol	0,660	0,69	0,61	0,26	0,793
3-Bromphenol	1,060	1,15	0,70	0,16	0,950
2-Iodphenol	1,360	1,00	0,40	0,35	1,033
2-Methoxyphenol	0,837	0,91	0,22	0,52	0,975
4-Methoxyphenol	0,900	1,17	0,57	0,48	0,975
2-Nitrotoluen	0,866	1,11	0,00	0,27	1,032
3-Nitrotoluen	0,874	1,10	0,00	0,25	1,032
4-Nitrotoluen	0,870	1,11	0,00	0,28	1,032

Von den 20 Analyten werden Stammlösungen in Methanol mit einer Konzentration von 1000 ng/ μ L angesetzt und im Kühlschrank aufbewahrt. Die Injektionslösungen haben eine Konzentration von ca. 20 ng/ μ L in Methanol/Wasser (20:80) und werden maximal 1 Woche im Kühlschrank gelagert. Für die Messung erfolgt eine Injektion von 20 μ L über eine 20 μ L Probenschleife.

5.3.2 Laufmittelbedingungen

Es sei noch einmal darauf hingewiesen, daß die Messungen unter isokratischen Bedingungen erfolgen. Als mobile Phase kommen dabei Methanol/Phosphatpuffer-Mischungen zum Einsatz. Da es sich zum größten Teil um acide Analyten handelt, besitzt der Phosphatpuffer einen pH-Wert von 2, um Ionisation der Analyten zu verhindern. Von dem Phosphatpuffer wird eine Stammlösung mit einer Phosphatkonzentration von 120 mmol/L hergestellt, die für die Messungen 1:10 verdünnt wird.

Der Meßbereich der Laufmittelzusammensetzung ist für jede stationäre Phase unterschiedlich. Der Grund ist die verschieden starke Retentionskraft der Festphasenmaterialien. Für die ODS-5 μ m-Phase liegt die Zusammensetzung der mobilen Phase zwischen 80 und 40 % Methanol, bei der PoEt zwischen 50 und 25 %, bei der PBS-Phase zwischen 75 und 40 % und bei der PBSO zwischen 70 und 40 % Methanol. Die Zusammensetzung des Laufmittels wird in 5 % Schritten variiert. Die ODS-50 μ m-Phase, das SPE-Material, wird nur bei einer mobilen Phase gemessen (Methanol/Puffer (40:60)).

Da die Temperatur ebenfalls einen Einfluß auf die Retentionszeiten der Analyten besitzt, wird diese stets konstant auf 30 °C gehalten. Dadurch wird die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gewährleistet.

5.3.3 Die Retentionsfaktoren

Die Retentionsfaktoren sind die entscheidenden Werte für alle weiteren Berechnungen. Die Berechnung des Retentionsfaktors erfolgt aus zwei gemessenen Werten, der Retentionszeit t_R des Analyten und der Durchflußzeit t_0 einer unretardierten Substanz:

$$k = (t_R - t_0)/t_0 \quad \text{Gl. 5.2}$$

mit

- k = Retentionsfaktor eines Analyten
- t_R = Retentionszeit eines Analyten
- t_0 = Retentionszeit einer unretardierten Substanz

Der Fehler des Retentionsfaktors entsteht durch Fehler in der Bestimmung der Durchflußzeit und der Retentionszeit des Analyten. Als unretardierte Substanz wird Thioharnstoff verwendet, dessen Durchflußzeit sehr reproduzierbar ist. Für die Bestimmung der Abweichung der Retentionszeit werden zu Beginn die Analyten drei Mal injiziert und aus der Abweichung vom Mittelwert der Fehler berechnet. Er beläuft sich für alle Retentionsfaktoren der HPLC-Phasen auf 2 %. Die gemessenen Retentionszeiten auf dem ODS-50µm-Material besitzen einen Fehler von 3 %.

In den Tabellen 5.3 bis 5.7 sind die Retentionsfaktoren aller Analyten auf allen fünf Festphasenmaterialien zusammengefaßt. Die Zahl hinter dem Retentionsfaktor k indiziert den prozentualen Anteil von Methanol im Laufmittel.

ODS-5µm-Phase

Tab. 5.3: Retentionsfaktoren k von 20 Analyten auf der ODS-5µm-Phase

Analyt	k 80	k 75	k 70	k 65	k 60	k 55	k 50	k 45	k 40
Benzoessäure	0,258	0,358	0,498	0,763	1,050	1,484	2,352	3,268	4,785
Benzylalkohol	0,191	0,281	0,370	0,525	0,684	0,922	1,277	1,671	2,243
Benzaldehyd	0,288	0,384	0,518	0,745	0,981	1,326	1,888	2,521	3,497
m-Tolylsäure	0,417	0,593	0,864	1,366	1,998	3,073	5,027	7,493	11,793
Acetophenon	0,329	0,444	0,606	0,863	1,169	1,650	2,412	3,339	4,839
Phenol	0,210	0,279	0,378	0,536	0,715	0,957	1,346	1,761	2,363
2-Chlorphenol	0,311	0,462	0,664	0,998	1,406	2,055	3,093	4,324	6,309
2-Nitrophenol	0,436	0,603	0,834	1,199	1,623	2,265	3,212	4,260	5,953
4-Nitrophenol	0,269	0,369	0,548	0,762	1,041	1,473	2,165	2,934	4,167
2-Methylphenol	0,349	0,498	0,696	1,021	1,416	2,018	2,961	4,059	5,845
3-Methylphenol	0,329	0,462	0,622	0,921	1,278	1,840	2,688	3,724	5,451
4-Methylphenol	0,319	0,449	0,619	0,913	1,276	1,829	2,678	3,700	5,461
2-Fluorphenol	0,230	0,321	0,426	0,592	0,812	1,117	1,523	2,090	2,928
3-Bromphenol	0,508	0,765	1,110	1,682	2,489	3,801	5,674	8,537	13,173
2-Iodphenol	0,479	0,713	1,040	1,564	2,312	3,513	5,252	7,924	12,333
2-Methoxyphenol	0,213	0,295	0,399	0,545	0,725	0,989	1,336	1,833	2,583
4-Methoxyphenol	0,173	0,210	0,289	0,398	0,518	0,693	0,931	1,261	1,783
2-Nitrotoluen	0,632	0,919	1,327	1,959	2,856	4,228	6,169	9,119	13,745
3-Nitrotoluen	0,734	1,066	1,564	2,294	3,358	4,967	7,271	10,748	16,163
4-Nitrotoluen	0,686	1,000	1,456	2,126	3,113	4,602	6,751	9,929	14,999

*PoEt-5 μ m-Phase*Tab. 5.4: Retentionsfaktoren von 20 Analyten auf der PoEt-5 μ m-Phase

Analyt	k 50	k 45	k 40	k 35	k 30	k 25
Benzoessäure	0,434	0,505	0,574	0,646	0,713	0,765
Benzylalkohol	0,334	0,364	0,395	0,413	0,434	0,444
Benzaldehyd	0,445	0,516	0,584	0,651	0,735	0,815
m-Tolylsäure	0,528	0,635	0,755	0,885	1,034	1,165
Acetophenon	0,515	0,586	0,686	0,795	0,914	1,054
Phenol	0,335	0,365	0,394	0,416	0,426	0,436
2-Chlorphenol	0,436	0,495	0,563	0,623	0,683	0,724
2-Nitrophenol	0,444	0,502	0,565	0,625	0,673	0,735
4-Nitrophenol	0,364	0,416	0,466	0,505	0,535	0,544
2-Methylphenol	0,398	0,444	0,496	0,535	0,575	0,591
3-Methylphenol	0,405	0,455	0,505	0,555	0,595	0,623
4-Methylphenol	0,404	0,452	0,503	0,542	0,584	0,615
2-Fluorphenol	0,364	0,405	0,441	0,474	0,504	0,514
3-Bromphenol	0,514	0,596	0,695	0,784	0,854	0,885
2-Iodphenol	0,505	0,595	0,695	0,794	0,885	0,954
2-Methoxyphenol	0,362	0,406	0,446	0,486	0,526	0,555
4-Methoxyphenol	0,343	0,386	0,436	0,484	0,516	0,544
2-Nitrotoluen	0,643	0,755	0,905	1,051	1,214	1,362
3-Nitrotoluen	0,644	0,765	0,915	1,064	1,244	1,404
4-Nitrotoluen	0,632	0,763	0,915	1,074	1,253	1,431

*ODS-50 μ m-Phase*Tab. 5.5: Retentionsfaktoren von 20 Analyten auf der ODS-50 μ m-PhaseODS-50 μ m-Phase

k 40
7,6096
4,3987
2,6262
4,5648
10,6279
2,1013
5,6445
7,5548
2,6063
5,1179
4,7309
4,8688
2,6545
11,4302
10,9319
2,8488
1,7691
18,1030
21,3704
20,0681

*PBS-5 μ m-Phase*Tab. 5.6: Retentionsfaktoren von 20 Analyten auf der PBS-5 μ m-Phase

Analyt	k 75	k 70	k 65	k 60	k 55	k 50	k 45	k 40
Benzoessäure	0,251	0,354	0,481	0,632	0,857	1,158	1,555	2,089
Benzylalkohol	0,214	0,289	0,384	0,480	0,594	0,755	0,937	1,162
Benzaldehyd	0,343	0,491	0,616	0,769	1,012	1,312	1,691	2,188
m-Tolylsäure	0,334	0,481	0,689	0,940	1,352	1,924	2,719	3,902
Acetophenon	0,400	0,544	0,725	0,923	1,245	1,787	2,212	2,972
Phenol	0,201	0,280	0,372	0,463	0,595	0,752	0,951	1,190
2-Chlorphenol	0,297	0,415	0,580	0,752	1,036	1,407	1,877	2,511
2-Nitrophenol	0,436	0,580	0,789	1,021	1,355	1,778	2,294	2,961
4-Nitrophenol	0,318	0,454	0,614	0,806	1,101	1,479	1,959	2,591
2-Methylphenol	0,290	0,398	0,535	0,697	0,920	1,226	1,588	2,084
3-Methylphenol	0,273	0,373	0,499	0,651	0,890	1,181	1,552	2,037
4-Methylphenol	0,273	0,372	0,498	0,651	0,883	1,172	1,543	2,022
2-Fluorphenol	0,228	0,291	0,385	0,507	0,665	0,864	1,108	1,343
3-Bromphenol	0,373	0,526	0,770	1,069	1,543	2,186	3,054	4,266
2-Iodphenol	0,437	0,593	0,860	1,195	1,714	2,421	3,398	4,786
2-Methoxyphenol	0,274	0,346	0,443	0,562	0,719	0,937	1,198	1,533
4-Methoxyphenol	0,226	0,290	0,376	0,478	0,629	0,810	1,045	1,361
2-Nitrotoluen	0,616	0,832	1,173	1,619	2,297	3,207	4,439	6,144
3-Nitrotoluen	0,661	0,923	1,312	1,810	2,582	3,607	4,990	6,924
4-Nitrotoluen	0,652	0,870	1,240	1,719	2,440	3,399	4,691	6,480

*PBSO-5 μ m-Phase*Tab. 5.7: Retentionsfaktoren von 20 Analyten auf der PBSO-5 μ m-Phase

Analyt	k 70	k 65	k 60	k 55	k 50	k 45	k 40
Benzoessäure	0,180	0,272	0,385	0,548	0,767	1,110	1,494
Benzylalkohol	0,092	0,127	0,190	0,279	0,369	0,499	0,637
Benzaldehyd	0,152	0,238	0,311	0,426	0,573	0,792	1,038
m-Tolylsäure	0,238	0,372	0,556	0,796	1,165	1,764	2,539
Acetophenon	0,147	0,235	0,334	0,475	0,646	0,907	1,224
Phenol	0,182	0,263	0,360	0,491	0,644	0,884	1,118
2-Chlorphenol	0,338	0,516	0,720	1,029	1,394	2,000	2,718
2-Nitrophenol	0,317	0,467	0,636	0,882	1,127	1,541	2,000
4-Nitrophenol	0,423	0,629	0,867	1,233	1,624	2,319	3,125
2-Methylphenol	0,279	0,415	0,573	0,800	1,046	1,459	1,926
3-Methylphenol	0,217	0,344	0,483	0,695	0,915	1,303	1,739
4-Methylphenol	0,233	0,361	0,508	0,711	0,955	1,346	1,789
2-Fluorphenol	0,198	0,295	0,417	0,565	0,750	0,980	1,275
3-Bromphenol	0,508	0,761	1,105	1,617	2,318	3,305	4,659
2-Iodphenol	0,595	0,891	1,258	1,829	2,611	3,697	5,238
2-Methoxyphenol	0,163	0,247	0,327	0,455	0,603	0,784	1,012
4-Methoxyphenol	0,174	0,239	0,336	0,465	0,622	0,818	1,086
2-Nitrotoluen	0,418	0,612	0,875	1,240	1,755	2,425	3,346
3-Nitrotoluen	0,450	0,655	0,930	1,340	1,877	2,596	3,566
4-Nitrotoluen	0,434	0,630	0,891	1,266	1,771	2,433	3,336

Die Retentionsfaktoren der 20 Analyten sind auf den fünf stationären Phasen unterschiedlich groß. Auf dem SPE-Material haben die Substanzen die größten Retentionsfaktoren, gefolgt von der ODS-Phase, der PBS-, PBSO- und der PoEt-Phase. Das bedeutet, daß in dieser Reihenfolge die Retentionskraft, also die Summe der Wechselwirkungen mit der stationären Phase, abnimmt. Dies liegt zum einen an der zunehmenden Hydrophilie der Phasen durch die polaren funktionellen Gruppen, Sulfid-, Sulfoxid- und Ethergruppen, aber auch an der zum Teil schlechteren Belegung des Kieselgels (vergl. Tab. 5.1). Besonders die PoEt-Phase zeichnet sich durch kurze Retentionszeiten aus, was vermutlich daran liegt, daß sie zu einem hohen Maß vom Laufmittel solvatisiert ist. Der Unterschied zwischen stationärer und mobiler Phase wird so sehr klein.

Neben der zurückgehenden Retentionskraft der Phasen ist aber auch eine Veränderung in der Elutionsreihenfolge der Analyten zu beobachten. Auf diesen Punkt wird im folgenden Kapitel näher eingegangen. Es liefert eine qualitative Charakterisierung der fünf Phasen.

5.3.4 Elutionsreihenfolgen – ein Hinweis auf unterschiedliche und verschieden starke Wechselwirkungen

Die Frage, warum eine Substanz A vor oder nach einer Substanz B von einer Säule eluiert, ist nicht ganz einfach zu beantworten. Die Retention eines Analyten hängt von den Wechselwirkungen mit der stationären und der mobilen Phase ab. Eine Wechselwirkung zwischen zwei Substanzen kann nur zustandekommen, wenn beide die gleiche Fähigkeit zu genau derselben Interaktion haben. Die Retention eines Analyten kommt aber nicht nur durch eine einzige Wechselwirkung zustande, sondern ist das Ergebnis vieler Interaktionen und Konkurrenzsituationen zwischen Analyt, stationärer und mobiler Phase während der Passage durch die Säule. Eine Betrachtung von Elutionsreihenfolgen kann Hinweise auf unterschiedliche und verschieden stark ausgeprägte Wechselwirkungen geben. In Abbildung 5.7 werden die Elutionsreihenfolgen der 20 Analyten auf den fünf stationären Phasen bei 40 % Methanol verglichen, wobei die Analyten mit den größten Retentionsfaktoren oben stehen.

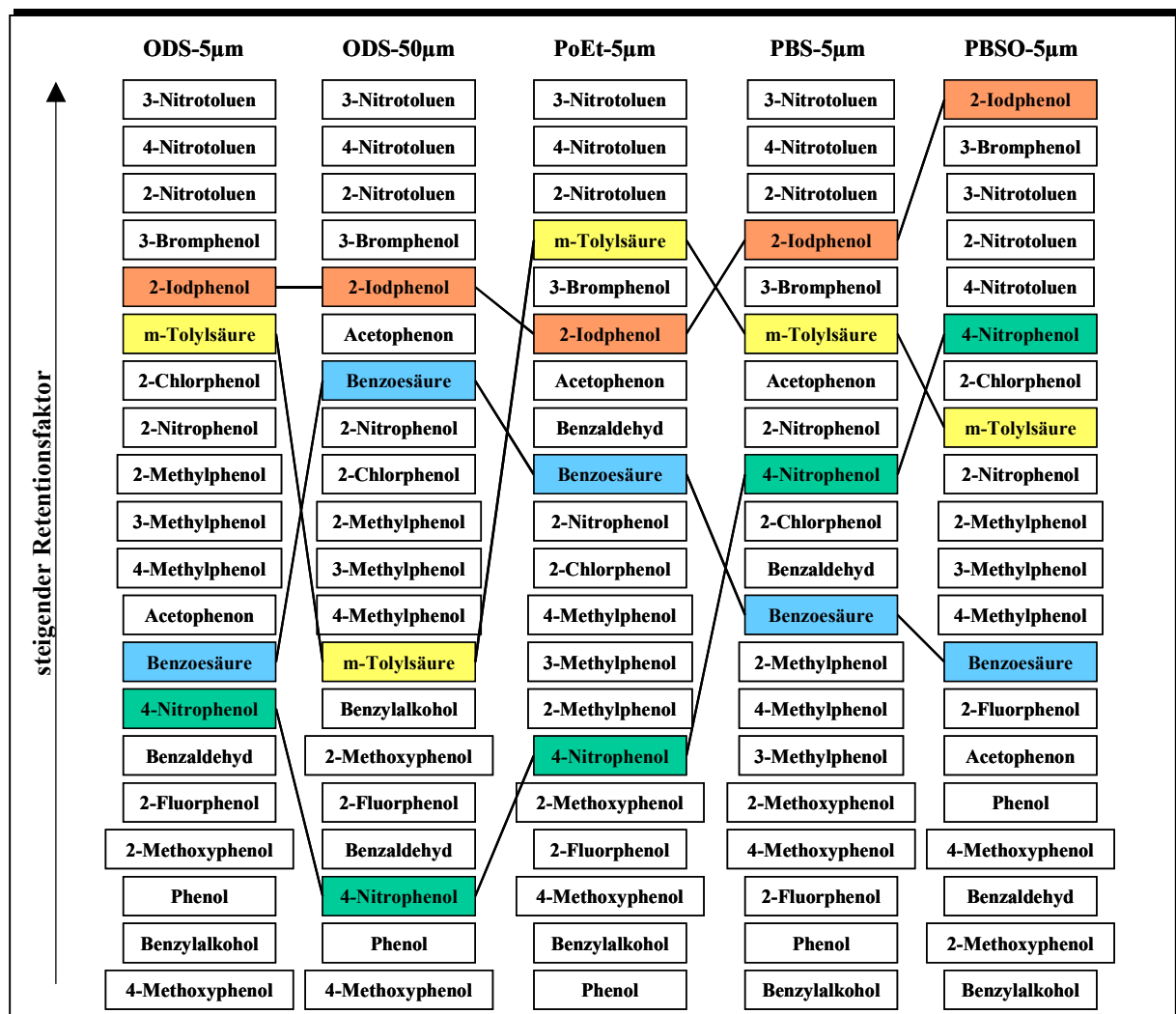


Abb. 5.7: Vergleich der Elutionsreihenfolgen der 20 Analyten auf fünf stationären Phasen bei 40 % Methanol

Betrachtet man die beiden ODS-Phasen, so ergeben sich bereits bei diesen chemisch sehr ähnlichen Phasen (der einzige Unterschied liegt im Endcapping) große Unterschiede in der Elutionsreihenfolge. Die fünf Substanzen mit den größten Retentionsfaktoren eluieren in der gleichen Reihenfolge. Ab dann ergeben sich jedoch einige Unterschiede, die besonders die Analyten betreffen, die die Fähigkeit haben, Wasserstoffbrücken auszubilden. Acetophenon wird auf dem SPE-Material, welches über freie Silanolgruppen verfügt, länger zurückgehalten als auf dem HPLC-Material. Den gleichen Effekt kann man bei der Benzoesäure und beim Benzylalkohol beobachten. Die ODS-50 μ m-Phase besitzt aufgrund ihres geringeren Belegungsgrades und den daraus resultierenden größeren Anteil an Silanolgruppen eine größere Hydrophilie als die ODS-5 μ m-Phase, was eine Ursache dieses Effektes sein kann. Große unpolare Moleküle (die m-Tolylsäure besitzt eine Methylgruppe mehr als die Benzoesäure) werden auf solchen Phasen weniger retardiert.

Die PoEt-Phase, zeigt ein ähnliches Retentionsmuster wie die ODS-5 μ m-Phase, mit der sie strukturell sehr verwandt ist. In der Kohlenstoffkette sind lediglich vier Kohlenstoff- durch Sauerstoffatome ausgetauscht und sie ist um vier Methylenheiten kürzer. Auffällig ist die veränderte Position der m-Tolylsäure in der Retentionsreihenfolge. Die Phase bietet eine Wechselwirkungsmöglichkeit über Wasserstoffbrückenbildung. Dies gilt aber auch für die Moleküle des Laufmittels. Es ist anzunehmen, daß die Phase stark solvatisiert ist. Da sie nur zu einem geringen Grad belegt ist, werden vermutlich nur große Moleküle mit den Liganden in Wechselwirkung treten, wenn man von einer gleichmäßigen Verteilung der Polyetherketten auf der Kieselgeloberfläche ausgeht. Diese Vermutung wird durch die allgemein extrem kurzen Retentionszeiten verstärkt. Aufgrund dieser kleinen Retentionsfaktoren darf die Elutionsreihenfolge nur sehr vorsichtig betrachtet werden, da viele Retentionsfaktoren praktisch identisch sind.

Die PBS- und die PBSO-Phasen zeichnen sich in besonderem durch ein aromatisches System aus, das je nach Oxidationszustand des Schwefels einen elektronenarmen (PBSO) oder einen elektronenreichen (PBS) Aromaten besitzt. Die Sulfidgruppe übt einen starken +M- und einen eher schwachen -I-Effekt auf den Aromaten aus, wodurch dieser elektronenreich ist. Die Sulfoxidgruppe dagegen zeichnet sich durch einen -M und einen starken -I-Effekt aus, wodurch die Polarisierung des Aromaten umgekehrt ist. Durch die jeweilige Polarisierung des Aromaten können charge-transfer-Komplexe mit Aromaten umgekehrter Polarisierung eingegangen werden. Neben den induktiven und Mesomerieeffekten besitzt die PBSO-Phase zusätzlich einen ausgeprägten Dipol, der sich zwischen dem Aromat und dem Sauerstoffatom bildet. Die Phase hat dadurch auch die Möglichkeit, als Elektronenakzeptor oder -donator zu

fungieren. Diese Effekte lassen sich an den Elutionsreihenfolgen der beiden Phasen zeigen. Die größte Retentionszeit auf der PBSO-Phase besitzt 2-Iodphenol, das sonst immer vor den drei Nitrotoluenen und häufig auch vor 3-Bromphenol eluiert. 2-Iodphenol besitzt durch das Iod einen ausgeprägten +M-Effekt, wodurch der aromatische Ring negativ polarisiert ist und mit dem positivierten Ring der PBSO-Phase wechselwirken kann. Die Wirkung des charge-transfer-Komplexes auf die Retention läßt sich bei allen Halogenphenolen (2-Iod-, 3-Brom-, 2-Chlor- und 2-Fluorphenol) beobachten, die in der Elutionsreihenfolge im Vergleich zur PBS-Phase im Verhältnis länger retardiert werden. Die negative Polarisierung der Aromaten nimmt in genau dieser Reihenfolge ab, da die Elektronegativität der Halogene vom Iod zum Fluor zunimmt.

Der zweite Effekt, der Dipol der PBSO-Phase, läßt sich sehr gut an den Nitrophenolen zeigen. Es sind elektronenarme Aromaten, die aber auf den beiden Schwefelphasen in umgekehrter Reihenfolge eluiert werden. Da 4-Nitrophenol über den ausgeprägteren Dipol verfügt, wird es auf der Sulfoxidphase länger retardiert als 2-Nitrophenol.

Die Nitro- und die Halogenphenole sind sehr schöne Beispiele, um die Effekte von charge-transfer-Komplexen und Dipolen auf die Retention von Analyten zu zeigen. Allerdings ist es nicht immer so einfach, beobachtete Elutionsreihenfolgen genau zu erklären, da sich viele Effekte, die die Retention eines Analyten beeinflussen, addieren oder aufheben. Elutionsreihenfolgen können sich auch in Abhängigkeit vom Laufmittel ändern, denn es besteht eine Konkurrenz zwischen Analyt, stationärer und mobiler Phase. Wie zuvor in Kapitel 2.2 erläutert wurde, kann sich das Festphasenmaterial je nach Laufmittelbedingung verändern, und somit auch der vorherrschende Retentionsmechanismus. Für eine Charakterisierung von stationären Phasen ist es deshalb besonders wichtig, das Retentionsverhalten über einen möglichst großen Polaritätsbereich zu kennen. Dies ist aber aus Praktikabilitätsgründen häufig nicht möglich, da die Retentionszeiten mit steigender Polarität extrem lang werden. Für die vier HPLC-Phasen wird deshalb in Kapitel 5.4 der Versuch unternommen, die Retentionsfaktoren bei Laufmitteln mit geringem Methanolanteil vorherzusagen.

5.3.5 Zusammenfassung

Die hier vorgestellten 20 Analyten, die für die Charakterisierung der Festphasenmaterialien verwendet werden sollen, sind aromatische Verbindungen mit polaren funktionellen Gruppen, die hauptsächlich aciden Charakter haben. Ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften, die Analytdeskriptoren der LSER-Gleichung, sind literaturbekannt oder können berechnet werden.

Für die Bestimmung der Retentionsfaktoren werden als mobile Phasen ausschließlich Methanol/Wasser (pH 2, Phosphatpuffer, $c = 12 \text{ mM}$)-Mischungen in verschiedenen Zusammensetzungen verwendet. Die Retentionsfaktoren auf den vier HPLC Phasen werden über einen großen Polaritätsbereich, der für die jeweilige Phase meßbare Ergebnisse liefert, in 5 % Schritten isokratisch bestimmt. Auf dem SPE-Material wird lediglich bei 40 % Methanol gemessen.

Die so erhaltenen Elutionsreihenfolgen der 20 Analyten auf jeder Phase zeigen ein sehr unterschiedliches Bild, das anhand der chemischen Struktur der stationären Phase qualitativ diskutiert wird.

5.4 Extrapolation von Retentionsfaktoren

Der Vorhersage von Retentionsfaktoren in der Flüssigchromatographie wurde in den letzten Jahren große Aufmerksamkeit geschenkt, da sie für die Aufklärung und das Verständnis der Retention in der Chromatographie ein wichtiges Handwerkszeug ist. Besonders die Kenntnis und Vorhersage von Retentionsfaktoren bei 100 % Wasser, also der k_w -Wert, spielt eine entscheidende Rolle, da er völlig unabhängig von Effekten eines organischen Lösungsmittels ist. Der k_w -Wert repräsentiert die Verteilung eines Analyten zwischen polarer (Wasser) und unpolarer Phase (stationäre Phase) und hängt somit nur vom Kohlenstoffgerüst und den polaren funktionellen Gruppen des Analyten ab. Er wird als Maß für die Hydrophobizität eines Analyten angesehen und beschreibt die Tendenz eines Analyten, eine organische oder wäßrige Phase als Umgebung zu bevorzugen. Dabei ist die treibende Kraft vielmehr eine Eigenschaft des umgebenden Lösungsmittels. [4] Aber wem auch immer der „hydrophobe Effekt“ zugeordnet wird, er ist die treibende Kraft bei der Verteilung zwischen zwei Phasen. Die experimentelle Bestimmung dieses Wertes, also des Retentionsfaktors einer Verbindung bei 100 % Wasser, ist aber für die meisten Substanzen unmöglich, weil k zu groß wird und sich das Analytsignal, der Peak, extrem verbreitert. Daher wird versucht, den k_w -Wert durch Extrapolation eines Datensatzes von Retentionsfaktoren gegen den Anteil des organischen Lösungsmittels vorherzusagen. Diese Extrapolation geht auf die lineare *Soczewiński-Wachtmeister*-Beziehung zurück. Es konnte aber gezeigt werden, daß die Gleichung nur für einen limitierten Lösungsmittelbereich linear ist. [131] Tatsächlich erhielt man auch unterschiedliche $\log k_w$ -Werte, wenn man für die Messung der Retentionsfaktoren verschiedene organische Lösungsmittel verwendete. [132,133] Trotz der daraus folgenden sehr zwiespältigen Meinungen über die Aussagekraft des $\log k_w$ -Wertes wurden viele Extrapolationen angewendet.

Dabei haben sich zwei Gleichungen etabliert [101,134]:

$$\text{a) } \log k = Z_1\theta + Z_0$$

$$\text{b) } \log k = Z_2\theta^2 + Z_1\theta + Z_0 \quad \text{Gl. 5.3 a und b}$$

mit $\log k$ = Logarithmus des Retentionsfaktors k
 θ = Methanolanteil im Laufmittel in %
 Z_2, Z_1, Z_0 = Regressionskoeffizienten

Jandera und Kubat [135] überprüften die Vorhersage von k_w -Werten einiger Pestizide anhand dieser beiden Gleichungen. Sie benutzten dabei Methanol-Wasser Mischungen zwischen 30 und 80 % Methanol. Mit den Ergebnissen der linearen Gleichung 5.3 a lag der größte Fehler eines vorhergesagten k_w -Wertes bei 80 %, während Gleichung 5.3 b eine Abweichung vom gemessenen Wert von 30 % ergab.

Für eine genauere Charakterisierung der vier 5 μm HPLC-Phasen werden die gemessenen Retentionsfaktoren aus Kapitel 5.3.3 durch eine lineare bzw. polynomische Regression zweiter Ordnung an Gleichung a) und b) angepaßt. Die Ergebnisse für die jeweilige stationäre Phase sind in den folgenden Kapiteln dargestellt. Die aus der gewählten Extrapolation berechneten Retentionsfaktoren sind im Anhang aufgeführt.

5.4.1 Extrapolation von Retentionsfaktoren für die ODS-5 μm -Phase

Die Retentionsfaktoren der unter 5.3.1 vorgestellten 20 Analyten wurden auf der ODS-5 μm -Phase isokratisch zwischen 80 und 40 % Methanol in 5 % Schritten bestimmt.

5.4.1.1 Vergleich zwischen linearer und quadratischer Regression der $\log k$ -Werte

Für die Anpassung des Datensatzes an die beiden Gleichungen werden sechs Analyten ausgewählt und deren Retentionsfaktoren einer quadratischen und einer linearen Regression unterzogen. Die Auswahl erfolgt dabei nach den gemessenen Retentionsfaktoren. Unter den sechs Analyten sind Vertreter mit langen, mittleren und kurzen Retentionszeiten. In Abbildung 5.8 ist der Verlauf der $\log k$ -Werte dieser sechs Analyten, namentlich Acetophenon, 2-Nitrotoluen, m-Tolylsäure, 2-Chlor-, 2-Fluor- und 4-Nitrophenol, in Abhängigkeit vom Methanolanteil im Laufmittel dargestellt.

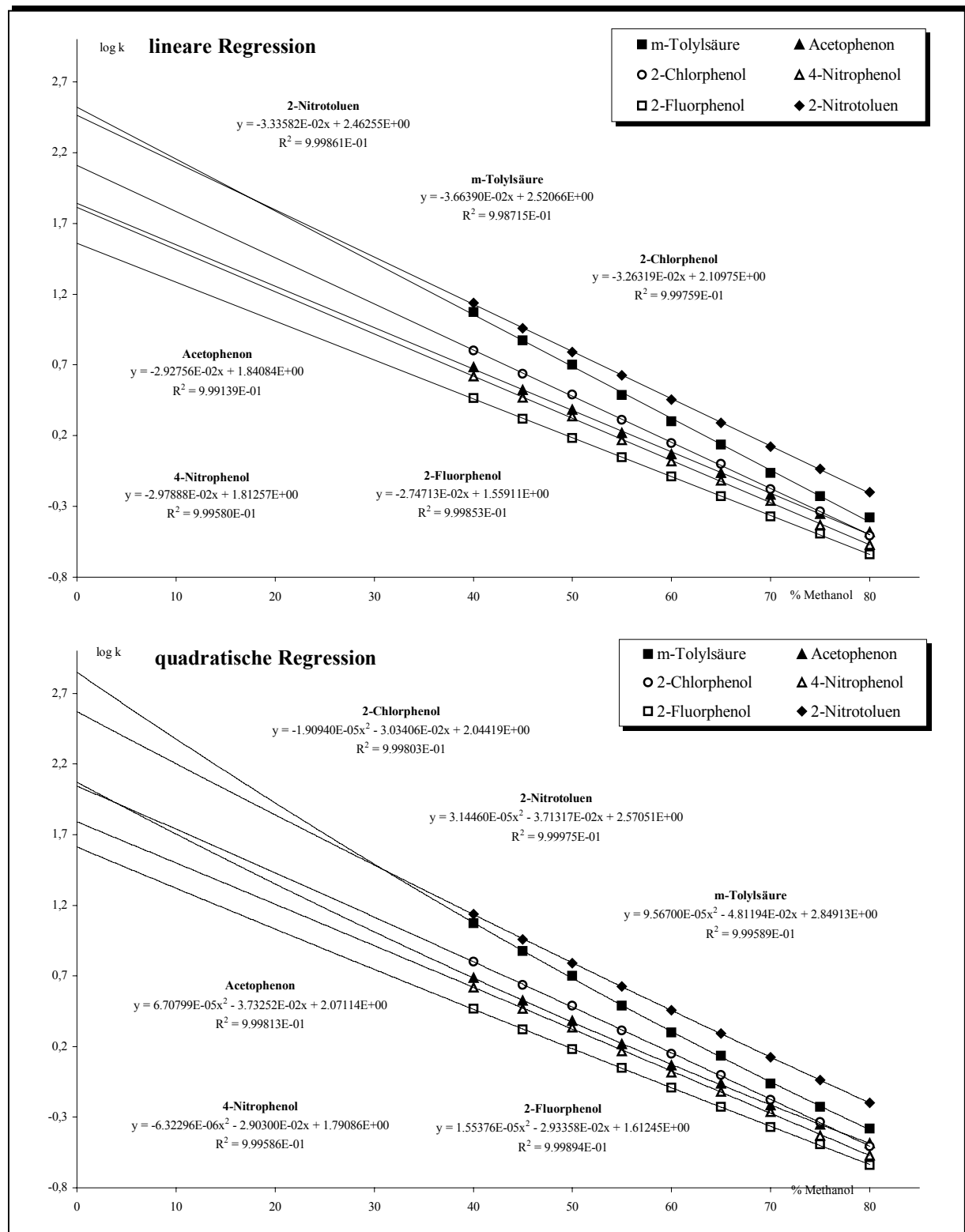


Abb. 5.8: Lineare und quadratische Regression der Retentionsfaktoren von sechs Analyten auf der ODS-Phase und Extrapolation auf 100 % Wasser

Man kann bei keinem der Analyten exakt sagen, ob es sich um einen linearen oder quadratischen Verlauf der log k-Werte handelt. Bei 80 % Methanol liegen die Werte enger zusammen als bei 40 %, was zum einen auf unterschiedliche Steigungen der Verläufe bei linearer Abhängigkeit hindeutet, zum anderen könnte die Ursache aber auch die verschieden

starken Krümmungen der polynomischen Kurven sein. Für eine genauere Betrachtung sind ein linearer und ein polynomischer Fit (Regression) durchgeführt und auf 100 % Wasser extrapoliert worden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5.8 dargestellt.

Tab. 5.8: Vergleich der quadratischen und linearen Regression der Retentionsdaten sechs Analyten

Analyt	log k_w linear	log k_w polynomisch	k_w linear	k_w polynomisch	R^2 linear	R^2 polynomisch
2-Fluorphenol	1,559	1,612	36	41	0,99985	0,99989
4-Nitrophenol	1,813	1,791	65	62	0,99958	0,99986
Acetophenon	1,841	2,071	69	118	0,99914	0,99981
2-Chlorphenol	2,110	2,044	129	111	0,99976	0,99980
m-Tolylsäure	2,551	2,849	356	706	0,99872	0,99959
2-Nitrotoluen	2,463	2,571	290	372	0,99986	0,99998

Für m-Tolylsäure ergibt sich durch die unterschiedliche Regression eine Differenz zwischen den extrapolierten k_w -Werten von 100 %, bei 2-Fluor- und 2-Chlorphenol eine Differenz von ca. 15 %, bei 4-Nitrophenol von nur 5 %, bei Acetophenon von 70 %, und bei 2-Nitrotoluen von 30 %, bezogen auf den linearen k_w -Wert. Die Regressionskonstanten ergeben für beide Regressionen sehr gute Ergebnisse, wobei die der quadratischen stets ein klein wenig besser sind. Die Unterschiede sind aber so gering, meistens erst in der vierten Nachkommastelle, daß sie nicht eindeutig für die eine oder andere Variante sprechen. Es ist auch möglich, daß das Retentionsverhalten des einen Analyten linear, das eines anderen aber polynomisch ist. Da die Fits aber eine eindeutige, wenn auch schwache Tendenz zeigen, werden die Retentionsdaten der ODS-5 μ m-Phase einer quadratischen Regression unterzogen.

5.4.1.2 Berechnung von Retentionsfaktoren bei geringen Methanolanteilen

Für die Berechnung der Retentionsfaktoren der 20 Analyten werden alle 20 Datensätze einer quadratischen Regression unterzogen, wodurch man 20 polynomische Gleichungen 2. Ordnung erhält. Anhand der Regressionskoeffizienten Z_2 , Z_1 und Z_0 kann dann jeder Retentionsfaktor unter isokratischen Bedingungen für jede dieser 20 Verbindungen berechnet werden. Die Regressionskoeffizienten sowie Regressionskonstanten R^2 sind in Tabelle 5.9 für die ODS-5 μ m-Phase zusammengefaßt.

Bei allen 20 Regressionskonstanten sind mindestens drei Neunen nach dem Komma, bei einigen sogar vier, was für die gewählte Regression spricht, denn je näher R an der idealen Regression mit $R = 1$ liegt, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, daß die gewählte Regressionsart die tatsächlichen Zusammenhänge widerspiegelt.

Benzoessäure besitzt mit $R^2 = 0,99921$ das schlechteste, 3- und 4-Nitrotoluen mit 0,99998 das beste Regressionsergebnis.

Tab. 5.9: Regressionskonstanten R^2 und –koeffizienten Z_2 , Z_1 und Z_0 einer quadratischen Regression von Retentionsfaktoren von 20 Analyten auf der ODS-5 μ m-Phase

Analyt	$Z_2 \times 10^{-5}$	Z_1	Z_0	R^2
Benzoesäure	4,9865	-3,7957	2,1233	0,99921
Benzylalkohol	-5,9239	-1,9308	1,2147	0,99935
Benzaldehyd	1,3723	-2,8858	1,6760	0,99959
m-Tolylsäure	9,5670	-4,8119	2,8491	0,99959
Acetophenon	6,7080	-3,7325	2,0711	0,99981
Phenol	-2,1266	-2,3983	1,3700	0,99959
2-Chlorphenol	-1,9094	-3,0341	2,0442	0,99980
2-Nitrophenol	-2,3555	-2,5625	1,8369	0,99978
4-Nitrophenol	-0,6323	-2,9030	1,7909	0,99959
2-Methylphenol	-0,3005	-3,0255	1,9815	0,99982
3-Methylphenol	4,1100	-3,5490	2,0910	0,99970
4-Methylphenol	2,6415	-3,4032	2,0545	0,99979
2-Fluorphenol	1,5538	-2,9336	1,6125	0,99989
3-Bromphenol	3,4958	-3,9427	2,6386	0,99994
2-Iodphenol	4,7793	-4,0864	2,6457	0,99996
2-Methoxyphenol	1,6449	-2,8724	1,5273	0,99975
4-Methoxyphenol	6,1722	-3,2901	1,4634	0,99906
2-Nitrotoluen	3,1446	-3,7132	2,5705	0,99997
3-Nitrotoluen	2,3860	-3,6372	2,6227	0,99998
4-Nitrotoluen	2,9237	-3,6904	2,6025	0,99998

Aus den Regressionskoeffizienten lassen sich nun die Retentionsfaktoren bei jedem gewünschten Laufmittel für jeden dieser 20 Analyten berechnen. Der Fehler der berechneten Werte läßt sich nur schwer abschätzen. Er wird sicher immer größer, je weiter man sich von den gemessenen Daten entfernt, und kann dann, wie in der Literatur beschrieben [135], bei 100 % Wasser bis zu 30 % betragen. Aus diesem Grund werden die Retentionsfaktoren nur bis maximal 15 % Methanol und nicht darunter berechnet, da sie für die später folgende multiple lineare Regression zur Bestimmung der Phaseneigenschaften verwendet werden. Die Grenze von 15 % ergibt sich aus einer Überprüfung der vorhergesagten Retentionsfaktoren auf der PoEt-Phase, die in Kapitel 5.4.2 behandelt wird.

Betrachtet man den Regressionskoeffizienten Z_2 , der für die Breite und Öffnung der Parabel verantwortlich ist, fällt auf, daß einheitlich alle Kurven einen sehr breiten Verlauf zeigen, aber die Öffnung der Parabel unterschiedlich sein kann. Sechs Analyten (Benzylalkohol, Phenol, 2-Chlor-, 2- und 4-Nitro- sowie 2-Methylphenol) besitzen einen negativen Z_2 Koeffizienten, haben also theoretisch ein Retentionsmaximum, während die anderen 14 Analyten ein Retentionsminimum besitzen. Für die 14 Analyten bedeutet dies, daß mit zunehmendem Wasseranteil der Retentionsfaktor in quadratischer Abhängigkeit zunimmt, während er bei den sechs Analyten in immer kleiner werdenden Schritten zunimmt, da man sich auf das Maximum zubewegt.

5.4.2 Extrapolation von Retentionsfaktoren für die PoEt-5 μ m-Phase

Die Retentionsfaktoren der 20 Analyten auf der PoEt-Phase wurden in 5 % Schritten zwischen 50 und 25 % Methanol gemessen. Aufgrund der sehr kurzen Retentionszeiten konnte nicht bei größeren Methanolanteilen gemessen werden, wodurch für die Extrapolation der Retentionsfaktoren nur sechs Meßpunkte zur Verfügung stehen.

5.4.2.1 Vergleich zwischen linearer und quadratischer Regression der log k-Werte

Die PoEt-Phase ist ein polares Analog zur ODS-Phase. Sie ist in der Kettenlänge um vier Methylenheiten kürzer und vier Methylengruppen wurden durch Sauerstoffatome ersetzt. Durch die veränderte chemische Struktur kann es zu ganz anderen Retentionsmechanismen zwischen Analyt und stationärer Phase kommen, wodurch sich das Retentionsverhalten der Analyten ändern kann. In Abbildung 5.9 ist der Vergleich zwischen einer quadratischen und einer linearen Regression der log k-Werte von sechs Analyten, 4-Nitrotoluen, m-Tolylsäure, 3-Brom-, 2-Methyl-, 4-Methoxyphenol und Phenol, dargestellt. Sie wurden nach dem gleichen Prinzip wie bei der ODS-Phase ausgewählt. Im Gegensatz zur ODS-Phase kann man schon ohne Regression erkennen, daß der Verlauf der log k-Werte nicht linear sondern quadratisch ist. Dies zeigt sich auch in den Regressionskonstanten R^2 , die bei der quadratischen Regression zwischen 0,99774 (3-Bromphenol) und 0,99960 (4-Nitrotoluen) liegen. Bei der linearen Regression liegt R^2 zwischen 0,93635 (Phenol) und 0,99615 (4-Nitrotoluen).

Sehr interessant ist der besondere Verlauf der log k-Werte in Abhängigkeit vom Laufmittel. Für vier der ausgewählten sechs Analyten liegt das Maximum der Parabel noch innerhalb des meßbaren Bereiches. Bei weiterer Erniedrigung des Methanolanteils werden die Retentionsfaktoren ab dann wieder kleiner. Dies ist bei Phenol, 4-Methoxy-, 2-Methyl- und 3-Bromphenol der Fall.

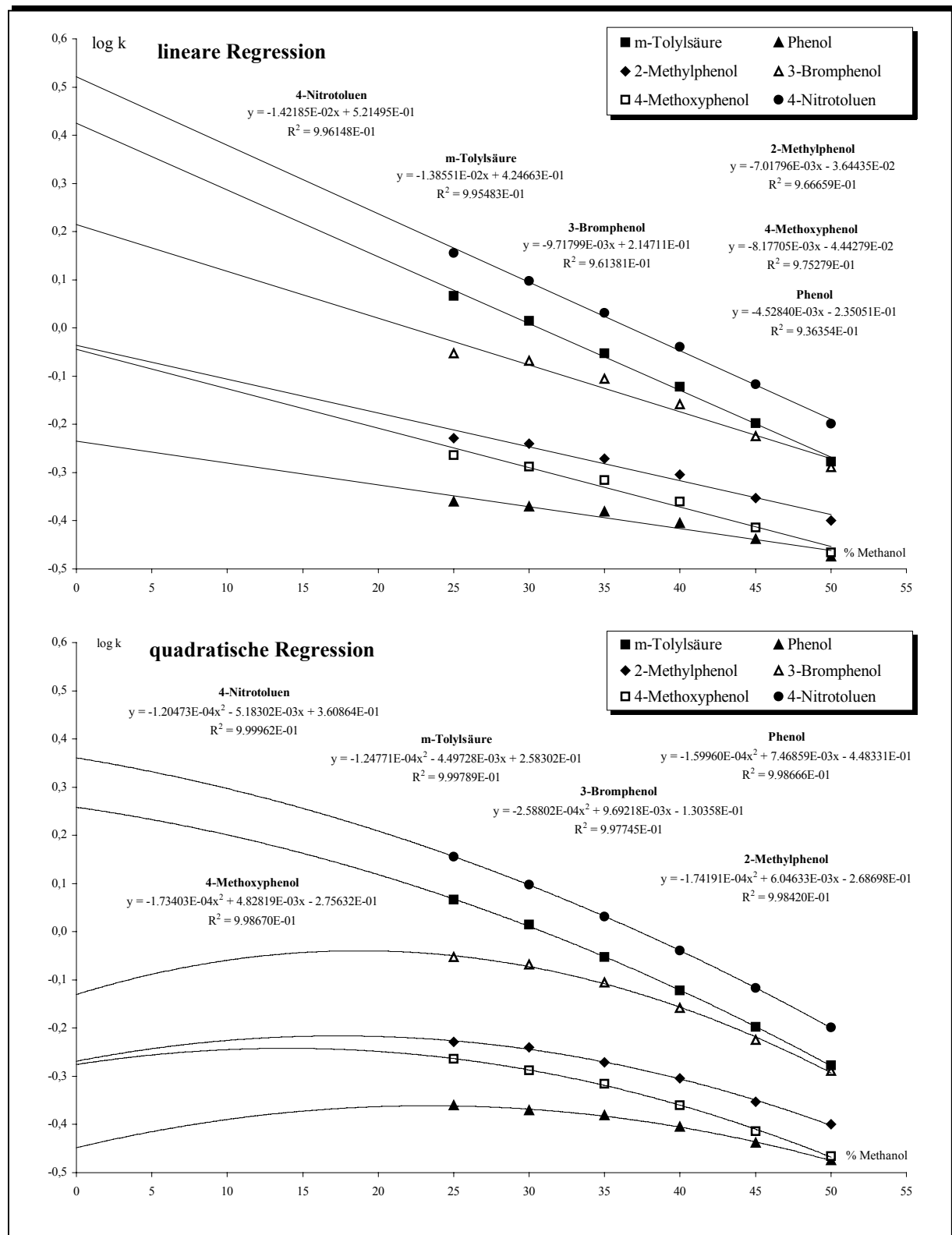


Abb. 5.9: Vergleich zwischen linearer und quadratischer Regression der log k-Werte von sechs Analyten auf der PoEt-Phase

Aufgrund dieser Ergebnisse werden die Retentionsdaten der PoEt-Phase ebenso wie die der ODS-Phase einer quadratischen Regression unterzogen.

5.4.2.2 Berechnung und Überprüfung von Retentionsfaktoren bei geringen Methanolanteilen auf der PoEt-Phase

Von den unter Kapitel 5.3.3 aufgeführten Retentionsfaktoren der 20 Analyten wird der Logarithmus berechnet und der so erhaltene Datensatz einer quadratischen Regression unterzogen. Die Regressionskoeffizienten und –konstanten sind in Tabelle 5.10 zusammengefasst.

Die Ergebnisse der Regressionen sind für alle Analyten sehr gut. 3-Bromphenol hat mit $R^2 = 0,99775$ den schlechtesten Fit der Daten. Alle Verläufe weisen einen Hochpunkt, also ein Retentionsmaximum auf.

Tab. 5.10: Regressionskonstanten R^2 und –koeffizienten Z_2 , Z_1 und Z_0 einer quadratischen Regression von Retentionsfaktoren von 20 Analyten auf der PoEt-5 μ m-Phase

Analyt	$Z_2 \times 10^{-4}$	$Z_1 \times 10^{-3}$	Z_0	R^2
Benzoesäure	-1,6428	2,4314	-0,0739	0,99987
Benzylalkohol	-1,3528	5,1955	-0,3977	0,99885
Benzaldehyd	-0,7423	-4,8499	0,0781	0,99947
m-Tolylsäure	-1,2477	-4,4973	0,2583	0,99979
Acetophenon	-0,0065	-12,530	0,3375	0,99950
Phenol	-1,5996	7,4686	-0,4483	0,99867
2-Chlorphenol	-1,5376	2,5882	-0,1074	0,99934
2-Nitrophenol	-1,0980	-0,4564	-0,0555	0,99926
4-Nitrophenol	-2,4940	11,6357	-0,3982	0,99965
2-Methylphenol	-1,7419	6,0463	-0,2687	0,99842
3-Methylphenol	-1,3338	2,6997	-0,1951	0,99961
4-Methylphenol	-1,5350	3,9242	-0,2063	0,99956
2-Fluorphenol	-1,6188	6,0502	-0,3370	0,99868
3-Bromphenol	-2,5880	9,6922	-0,1304	0,99775
2-Iodphenol	-1,9555	3,5010	0,0158	0,99966
2-Methoxyphenol	-1,1346	1,0591	-0,2106	0,99972
4-Methoxyphenol	-1,7340	4,8282	-0,2756	0,99867
2-Nitrotoluen	-1,1868	-4,3260	0,3182	0,99938
3-Nitrotoluen	-1,0755	-5,5888	0,3559	0,99965
4-Nitrotoluen	-1,2047	-5,1830	0,3609	0,99996

Aus den Regressionskoeffizienten lassen sich nun Retentionszeiten bei geringeren Methanolanteilen als 25 % berechnen. Da alle Analyten auf dieser stationären Phase ausgesprochen kurze Retentionszeiten besitzen, ist es in diesem Fall möglich, die berechneten Daten durch experimentelle Bestimmungen zu überprüfen. Eine Überprüfung der extrapolierten Daten ist besonders wichtig, da sie die Grundlage für alle weiteren Analysen sind. Leider kann die Überprüfung der Retentionsfaktoren lediglich auf der PoEt-Phase durchgeführt werden und nicht auf den Phasen, bei denen die Retentionsfaktoren ein Retentionsminimum durchlaufen. In Abbildung 5.10 werden die anhand Gleichung 5.3 b mit Hilfe der Regressionskoeffizienten aus Tabelle 5.10 extrapolierten Retentionsfaktoren bei

15 und 20 % Methanol mit den bei diesen Laufmitteln gemessenen Werten verglichen. Der mittlere Fehler bei 20 % Methanol beträgt 3,5 % und der bei 15 % Methanol 4,3 %. Dies sind sehr gute Ergebnisse, vor allem wenn man sie mit Literaturdaten vergleicht. Betrachtet man die einzelnen Werte für die Analyten, liegt die Abweichung bei 20 % Methanol zwischen 0,1 und 8,3 % und bei 15 % im fast gleichen Bereich, zwischen 0,3 und 8,5 %.

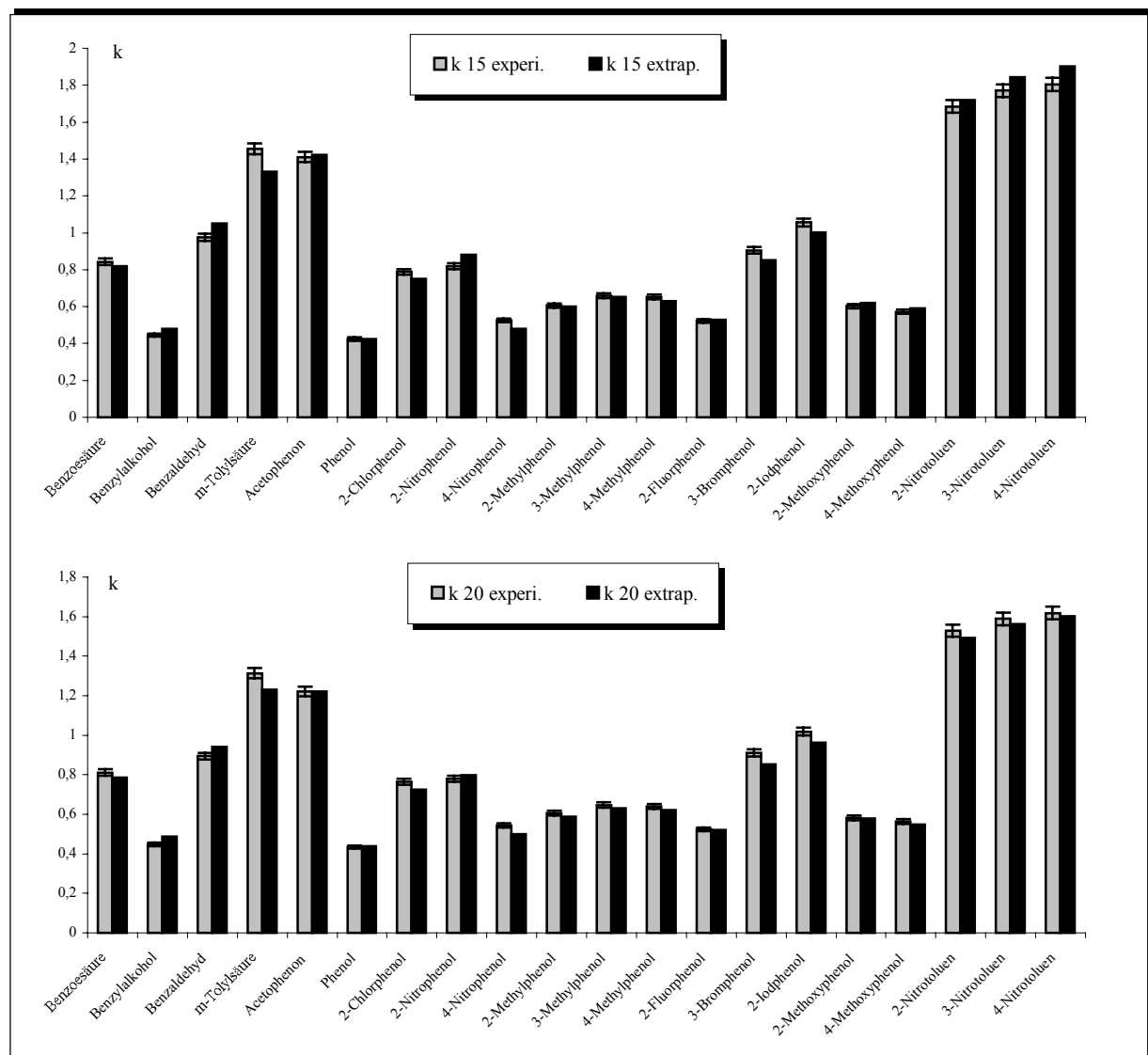


Abb. 5.10: Vergleich von extrapolierten und experimentell bestimmten Retentionsfaktoren auf der PoEt-Phase bei 15 (oben) und 20 % Methanol (unten), Fehlerbalken entspricht einem Fehler von 2 %

4-Nitrophenol hat bei beiden Laufmittelzusammensetzungen jeweils die größte Abweichung zwischen extrapoliertem und experimentellem Retentionsfaktor, obwohl die Regressionskonstante R^2 für die Regression relativ gut war. 3-Bromphenol, dessen Daten die schlechteste Übereinstimmung mit einer quadratischen Funktion zeigten, besitzt eine Abweichung von 6,6 (20 % Methanol) und 6,1 % (15 % Methanol), also auch deutlich schlechter als die mittlere Abweichungen von 3,5 und 4,3 %. Es existiert demnach kein eindeutiger Zusammenhang

zwischen guten Regressionen und einer genauen Vorhersage. Die berechneten Daten sind durchgängig für alle Analyten sehr gut und werden bei geringerem Methanolanteil nur geringfügig schlechter.

Dadurch kann für die PoEt-Phase klar gezeigt werden, daß das Retentionsverhalten der Analyten in Abhängigkeit vom Methanolanteil eindeutig über eine quadratische Gleichung beschrieben werden kann.

5.4.3 Extrapolation von Retentionsfaktoren für die PBS-5 μ m-Phase

Die Retentionsfaktoren der 20 Analyten wurden auf dieser Phase isokratisch zwischen 75 und 40 % Methanol gemessen.

5.4.3.1 Vergleich zwischen linearer und quadratischer Regression der log k-Werte

Die PBS-Phase unterscheidet sich grundlegend in der chemischen Struktur von der ODS- und PoEt-Phase. Sie besitzt ein aromatisches System und verfügt zusätzlich über einen Dipol im Liganden. Dieser Unterschied kann zu einem anderen Retentionsverhalten von Analyten in Abhängigkeit vom Laufmittel führen. In Abbildung 5.11 ist der Vergleich zwischen linearer und quadratischer Regression für sechs Analyten mit unterschiedlichen Retentionsfaktoren dargestellt.

Auch für die PBS-Phase liefert die quadratische Regression für alle sechs exemplarisch ausgewählten Analyten die besseren Regressionsergebnisse. Bei der linearen Regression werden mit zunehmender Polarität der Analyten (sortiert nach kürzeren Retentionszeiten) die Regressionskonstanten R^2 immer schlechter, während sie bei der quadratischen Regression bis zum Phenol sehr gut bleiben. 2-Nitrotoluen besitzt für beide Regressionen ein R^2 von 0,99984. Der Regressionskoeffizient Z_2 bei der quadratischen Regression ist mit $8,5 \times 10^{-6}$ sehr klein und deutet darauf hin, daß der Verlauf der log k-Werte tatsächlich auch linear sein könnte. Der k_w -Wert für die lineare Regression beträgt 87,4, der der quadratischen 93,0, was einem prozentualen Unterschied von nur 6,5 % entspricht. Für diesen Analyten macht es also kaum einen Unterschied, welche Regression durchgeführt wird. Beim 3-Bromphenol ist die Regressionskonstante für beide Fits vergleichbar gut. Der Unterschied im k_w -Wert der quadratischen zur linearen Regression beträgt aber schon 25 %. Diese Differenz steigert sich beim Phenol auf 45 %. Anhand dieser Entwicklung erscheint es gerechtfertigt auch für 4-Nitrotoluen eine quadratische Regression anzunehmen.

Der Einfluß der mobilen Phase auf die Elutionsreihenfolge wird in Abb. 5.11 besonders deutlich. 2-Nitrophenol besitzt bei 75 % Methanol die zweitlängste Retentionszeit, eluiert

nach Phenol, Benzoesäure, 2-Chlor- und 3-Bromphenol und vor 2-Nitrotoluen. Bei 100 % Wasser eluiert es bereits nach Phenol, dicht gefolgt von 2-Chlorphenol.

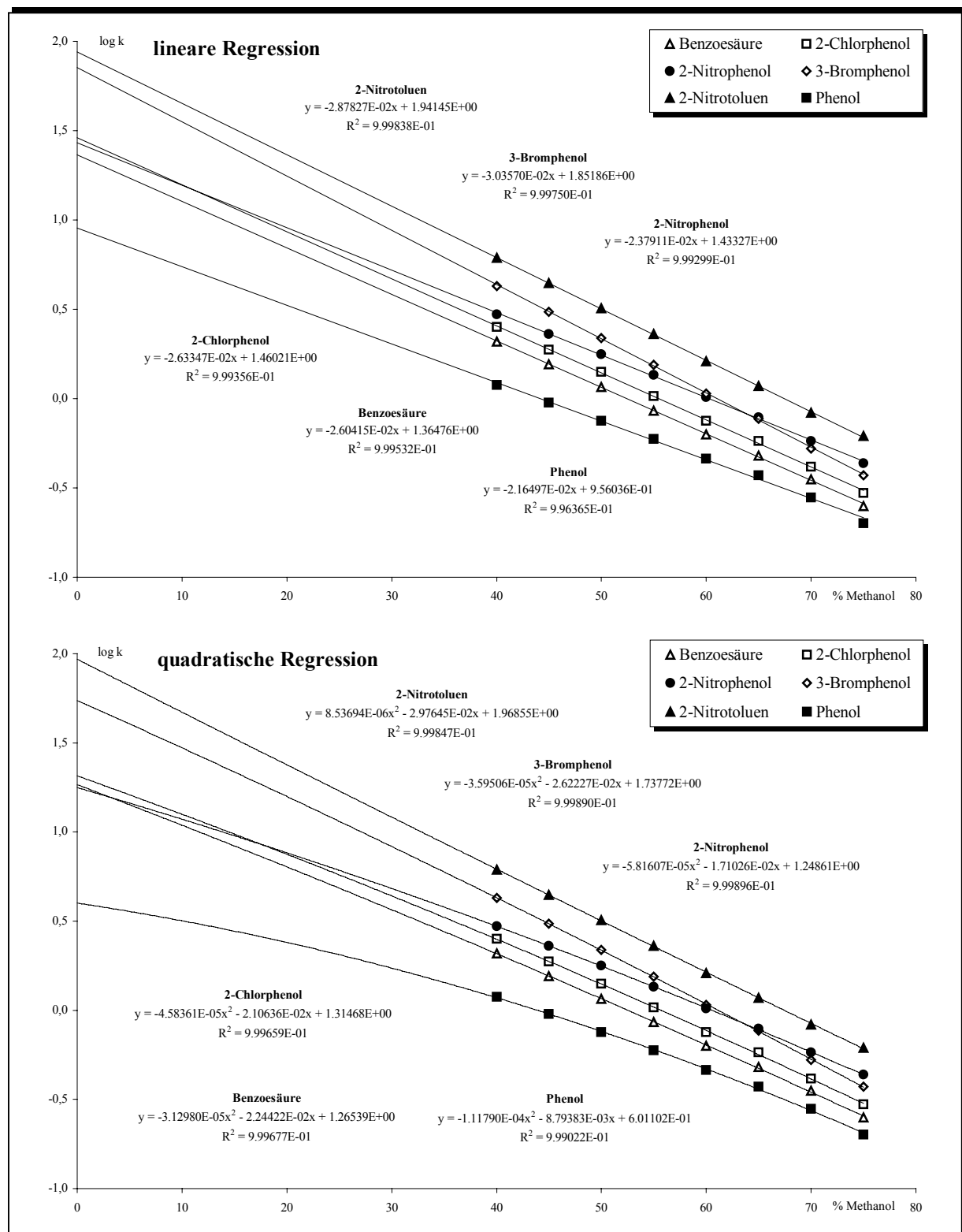


Abb. 5.11: Vergleich zwischen linearer und quadratischer Regression der Retentionsdaten von sechs Analyten auf der PBS-Phase

5.4.3.2 Berechnung von Retentionsfaktoren bei geringen Methanolanteilen auf der PBS-Phase

Wie auch bei den zwei stationären Phasen zuvor wird für die Extrapolation der $\log k$ -Werte eine quadratische Regression durchgeführt. Mit den so erhaltenen Kurvengleichungen lassen sich sämtliche Retentionsfaktoren der 20 Analyten berechnen. Die Ergebnisse der Regressionen sind in Tabelle 5.11 zusammenfassend dargestellt.

Die Regressionskonstanten liegen zwischen 0,99810 (Benzaldehyd) und 0,99994 (4-Methoxyphenol) und unterstreichen somit auch hier ein gutes Ergebnis der Regression.

Wie man am Z_2 -Regressionskoeffizienten ablesen kann, haben fünf Analyten (m-Tolylsäure, 2-Iod- und 4-Methoxyphenol sowie 2- und 4-Nitrotoluen) ein theoretisches Retentionsminimum, während die anderen 15 Analyten ein Maximum aufweisen. Die Art des Retentionsverhaltens hängt dabei scheinbar auch vom Substitutionsmuster des Analyten ab, da sich die drei Nitrotoluene und zwei Methoxyphenole unterschiedlich verhalten.

Tab. 5.11: Regressionskonstanten R^2 und –koeffizienten Z_2 , Z_1 und Z_0 einer quadratischen Regression von Retentionsfaktoren von 20 Analyten auf der PBS-5 μ m-Phase

Analyt	$Z_2 \times 10^{-5}$	$Z_1 \times 10^{-2}$	Z_0	R^2
Benzoesäure	-3,1298	-2,2442	1,2654	0,99968
Benzylalkohol	-11,0217	-0,7964	0,5551	0,99918
Benzaldehyd	-3,1679	-1,8794	1,1387	0,99810
m-Tolylsäure	0,7148	-3,1143	1,8233	0,99982
Acetophenon	-0,7988	-2,3967	1,4465	0,99849
Phenol	-11,1790	-0,8794	0,6011	0,99902
2-Chlorphenol	-4,5836	-2,1064	1,3147	0,99966
2-Nitrophenol	-5,8161	-1,7103	1,2486	0,99990
4-Nitrophenol	-6,0662	-1,8801	1,2612	0,99965
2-Methylphenol	-5,1135	-1,8402	1,1347	0,99982
3-Methylphenol	-3,2882	-2,1030	1,2006	0,99982
4-Methylphenol	-3,6517	-2,0715	1,1968	0,99988
2-Fluorphenol	-6,9070	-1,4596	0,8323	0,99916
3-Bromphenol	-3,5951	-2,6223	1,7377	0,99989
2-Iodphenol	0,7812	-3,0840	1,9032	0,99982
2-Methoxyphenol	-2,2091	-2,4010	1,1127	0,99992
4-Methoxyphenol	1,3734	-2,3860	1,0661	0,99994
2-Nitrotoluen	0,8537	-2,9765	1,9686	0,99985
3-Nitrotoluen	-2,1164	-2,6802	1,9474	0,99993
4-Nitrotoluen	0,1029	-2,8946	1,9713	0,99972

5.4.4 Extrapolation von Retentionsfaktoren für die PBSO-5 μ m-Phase

Die Retentionsfaktoren der 20 Analyten auf dieser Phase wurden zwischen 70 und 40 % Methanol unter isokratischen Bedingungen bestimmt.

5.4.4.1 Vergleich zwischen linearer und quadratischer Regression der log k-Werte

Auf die Darstellung der linearen und quadratischen Regression im Diagramm wird an dieser Stelle verzichtet. Die Regressionskonstanten R^2 liegen bei der linearen Regression zwischen 0,99958 (2-Iodphenol) und 0,99380 (Benzylalkohol) und zeigen die gleiche Tendenz wie auch zuvor auf der PBS-Phase. Die Fits werden mit kürzer werdenden Retentionszeiten der Analyten immer schlechter. Diese Tendenz ist bei der quadratischen Regression nicht zu beobachten. Die Regressionen zeigen eine gute Korrelation mit der quadratischen Gleichung, was sich an Konstanten zwischen 0,99998 (2-Nitrotoluen) und 0,99774 (Benzaldehyd) zeigt. Aufgrund dieses Vergleiches zugunsten des quadratischen Fits wird auch für diese Phase die Extrapolation der Retentionsdaten durch die polynomische Gleichung zweiter Ordnung durchgeführt.

5.4.4.2 Berechnung von Retentionsfaktoren bei geringen Methanolanteilen auf der PBSO-Phase

Das Ergebnis der quadratischen Regression ist in Tabelle 5.12 zusammengefaßt.

Tab. 5.12: Regressionskonstanten R^2 und –koeffizienten Z_2 , Z_1 und Z_0 einer quadratischen Regression von Retentionsfaktoren von 20 Analyten auf der PBSO-5 μ m-Phase

Analyt	$Z_2 \times 10^{-4}$	$Z_1 \times 10^{-2}$	Z_0	R^2
Benzoessäure	-1,05816	-1,89517	1,1041	0,99965
Benzylalkohol	-2,28372	-0,3444	0,3117	0,99856
Benzaldehyd	-1,36435	-1,2229	0,7210	0,99774
m-Tolylsäure	-0,63136	-2,7033	1,5857	0,99951
Acetophenon	-2,04129	-0,7678	0,7168	0,99915
Phenol	-1,54284	-0,9265	0,6674	0,99955
2-Chlorphenol	-1,14276	-1,7287	1,3065	0,99955
2-Nitrophenol	-1,61534	-0,8568	0,8989	0,99915
4-Nitrophenol	-0,96004	-1,8079	1,3694	0,99924
2-Methylphenol	-1,41762	-1,2067	0,9913	0,99927
3-Methylphenol	-1,99214	-0,7684	0,8618	0,99878
4-Methylphenol	-1,76470	-0,9694	0,9194	0,99916
2-Fluorphenol	-2,31336	-0,1163	0,5169	0,99963
3-Bromphenol	-0,90996	-2,2035	1,6950	0,99998
2-Iodphenol	-0,61448	-2,4571	1,7992	0,99987
2-Methoxyphenol	-2,02143	-0,3782	0,4767	0,99916
4-Methoxyphenol	-1,19226	-1,3490	0,7651	0,99981
2-Nitrotoluen	-0,96706	-1,9418	1,4555	0,99998
3-Nitrotoluen	-0,97748	-1,9228	1,4780	0,99996
4-Nitrotoluen	-0,96849	-1,8846	1,4316	0,99998

Ebenso wie bei der PoEt-Phase haben alle Analyten einen negativen Z_2 -Koeffizienten und besitzen somit ein Retentionsmaximum, auf das man sich mit sinkendem Methanolgehalt zubewegt. Die Werte sind aber um eine Dekade größer als die der Z_2 -Koeffizienten der PBS-Phase, was bedeutet, daß die PBSO-Phase mit zunehmenden Wasseranteil im Laufmittel die Analyten im Vergleich zur PBS-Phase weniger stark retardiert. Dies erkennt man natürlich auch an den kleineren Retentionsfaktoren in Tabelle 5.7.

5.5 Berechnung der LSER-Gleichungen für die fünf Festphasenmaterialien

Mit Hilfe der gemessenen und bis 15 % Methanol extrapolierten Retentionsfaktoren erfolgt nun die Berechnung der Phasen- bzw. Systemeigenschaften der fünf Festphasenmaterialien. Auf eine Berechnung der log k-Werte bei noch geringeren Methanolanteilen wird verzichtet, da der Fehler der extrapolierten Werte sehr groß und vor allem nicht mehr abzuschätzen ist, da sie experimentell nicht überprüft werden können. Die Berechnung der Systemeigenschaften oder auch LSER-Gleichungen für jede stationäre Phase bei jedem Laufmittel erfolgt durch multiple lineare Regression von Gleichung 2.30. Die Analytdeskriptoren sind in Tabelle 5.2 aufgeführt. Eine ausführliche Zusammenstellung der Regressionsergebnisse befindet sich im Anhang.

5.5.1 Qualitative Analyse – Laufmittelabhängigkeit der Eigenschaften

Zunächst werden die Ergebnisse der multilinenaren Regressionen für jede Phase vorgestellt, wobei nur die Laufmittelabhängigkeit der vier HPLC Phasen untersucht wird. Die Eigenschaften des SPE-Materials werden nur bei einem Laufmittel bestimmt und deshalb erst in Kapitel 5.5.2 diskutiert.

Bei der multiplen linearen Regression der LSER-Gleichung nach *Abraham* kommt es regelmäßig vor, daß die experimentellen und berechneten Retentionsfaktoren von einem oder mehreren Analyten deutlich voneinander abweichen. Diese Analyten werden statistisch als Ausreißer bezeichnet.

Es gibt verschiedene Gründe, warum Berechnung und Experiment nicht übereinstimmen. Der wichtigste ist, daß das verwendete Modell, hier also das LSER-Modell, nicht alle Wechselwirkungen zwischen Analyt, stationärer und mobiler Phase berücksichtigt und deshalb die Retention des „Ausreißers“ nicht beschreiben kann. Die nicht berücksichtigten Effekte können auf jeder stationären Phase andere sein, wodurch jedesmal die Retention eines anderen Analyten schlecht beschrieben wird. Es ist auch möglich, daß ein Analytdeskriptor

falsch bestimmt bzw. berechnet wurde. In diesem Fall müßte der betroffene Analyt regelmäßig als Ausreißer auffallen. Dieses trifft auf 4-Chlorphenol zu, weshalb es für die Untersuchungen hier nicht verwendet wurde. Ein weiterer Grund kann die fehlerhafte Bestimmung des Retentionsfaktors sein.

Da der tatsächliche Grund für Abweichungen zwischen Experiment und Berechnung nicht ermittelt werden kann, der Analytiker aber eine möglichst genaue Beschreibung der Eigenschaften der stationären Phase haben möchte, ist es üblich, „Ausreißer“ bei der MLR aus dem Datensatz zu entfernen. Dieses Verfahren wird seit längerer Zeit durchgeführt und in den letzten Jahren auch in Veröffentlichungen erwähnt. Die Problematik der „Ausreißer“ hat inzwischen sogar zu neuen Forschungen geführt, da sie ein Hinweis auf Schwächen des Modells sind und somit ein Zugang zu möglichen Verbesserungen darstellen.

Eine genaue Auflistung der Regressionsergebnisse und Ausreißer für alle Phasen befindet sich im Anhang.

5.5.1.1 Qualitative Analyse der ODS-5 μ m-Phase

Die Phaseneigenschaften der ODS-Phase werden für die mobile Phase Methanol/Phosphatpuffer (pH 2) zwischen 80 und 15 % Methanol in 5 % Schritten berechnet. Dabei wurden die Retentionsfaktoren zwischen 80 und 40 % experimentell bestimmt, die von 35 bis 15 % extrapoliert. Die Korrelationskoeffizienten R der multiplen linearen Regressionen variieren zwischen 0,99065 und 0,98049 bei den experimentellen und zwischen 0,98567 und 0,98043 bei den extrapolierten Daten. Die Standardabweichung für die berechneten $\log k$ -Werte liegt zwischen 0,031 und 0,061 für 80 bis 40 % Methanol und zwischen 0,067 und 0,090 bei den polareren Laufmitteln. Diese Ergebnisse sind sehr gut, wenn man berücksichtigt, daß es sich um eine Gleichung mit fünf unbekannten Variablen handelt. Berechnet man den prozentualen Fehler der berechneten Retentionsfaktoren nach Gleichung 2.35 [57], ergibt sich für den experimentellen Datenbereich ein Fehler von 8 bis 15 % und für den extrapolierten Datensatz ein erheblich größerer Fehler von 17 bis 23 %. Für die Flüssigchromatographie sind dies aber dennoch recht gute Ergebnisse, vergleicht man sie mit einigen in der Literatur veröffentlichten Daten. *Kaliszan et al.* verwendeten für die MLR linear extrapolierte k_w -Werte und erhielten Standardabweichungen zwischen 0,2 und 0,3 für $\log k$, was einem prozentualen Fehler von 60 bis 100 % für k entspricht. [98] Dieses Ergebnis zeigt deutlich, daß die lineare Extrapolation von $\log k$ -Werten sehr schlechte Ergebnisse liefert und man den k_w -Wert nach Möglichkeit nicht verwenden sollte.

In Abbildung 5.12 ist der Verlauf der Systemeigenschaften c (Intercept), r (Polarisierbarkeit), s (Dipolarität), a (Basizität), b (Acidität) und v (Cavity-Term) bei Variation des Methanolanteils im Laufmittel dargestellt. Die Eigenschaften der ODS-Phase in Abhängigkeit vom Methanolanteil zeigen eine kontinuierliche Variation mit steigendem Wassergehalt. Der Cavity-Term v steigt von 1,42 bei 80 % auf 4,41 bei 15 % Methanol. Da der Cavity-Term mit dem McGowan Volumen eines Moleküls korreliert, bedeutet ein positiver Wert, daß das Molekül bevorzugt in der solvatisierten Phase einen „Lösungsmittelkäfig“ ausbildet oder von dieser adsorbiert wird.

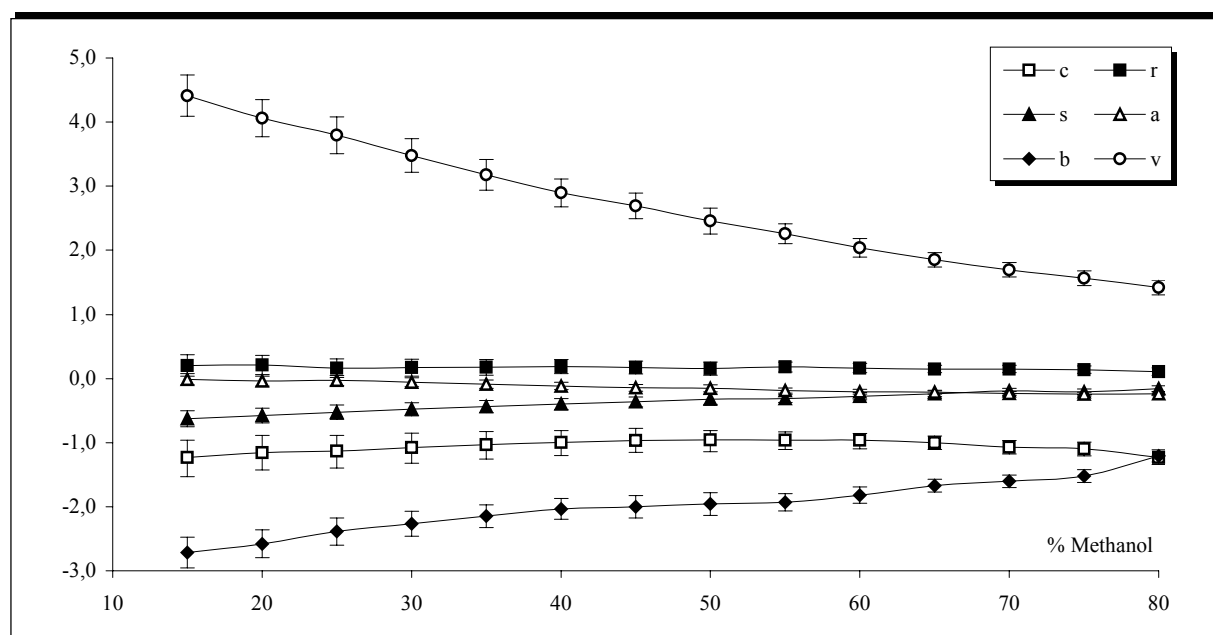


Abb. 5.12: Systemkonstanten der ODS-5µm-Phase bei Methanol/Phosphatpuffer als mobiler Phase

Da Methanol/Wasser-Mischungen über eine große Kohäsivität (Zusammenhalt) verfügen, die vornehmlich durch das Wasserstoffbrückennetzwerk des Wassers verursacht wird, geht eine Lösungsmittelkäfigbildung im Wasser mit großem Energieaufwand einher. [90] Zur Verdeutlichung sind in Tabelle 5.13 einige solvatochrome Eigenschaften von ausgewählten Lösungsmitteln zusammengestellt.

Tab. 5.13: Solvatochrome Eigenschaften von Lösungsmitteln

	Kohäsivität ϕ (cal/cm ³) [90,136]	Polarisierbarkeit r [90,136]	Dipolarität π [137,138]	Basizität β [139]	Acidität α [137]
Oktan	57	1,395	0,01	0,00	0,00
Oktadekan	66	1,435	0,10	0,00	0,00
Wasser	554	1,333	1,17	0,47	1,17
Acetonitril	147	1,342	0,75	0,40	0,19
Methanol	210	1,327	0,61	0,66	0,93
Tetrahydrofuran	98	1,405	0,60	0,55	0,00

Wasser besitzt mit 554 cal/cm^3 den größten energetischen Zusammenhalt der Moleküle. Dadurch ist die freie Energie der Käfigbildung in der mobilen wäßrigen Phase sehr viel größer als die in der stationären. Wenn der Wasseranteil im Laufmittel größer wird, steigt die Kohäsivität der mobilen Phase und die Käfigbildung in der stationären Phase wird favorisiert, verdeutlicht am größer werdenden Cavity-Term v . Im Gegensatz dazu fällt die Acidität b stark ab, von $-1,21$ bei 80 % auf $-2,72$ bei 15 % Methanol. Ein negativer Wert bedeutet, daß die Acidität der mobilen Phase größer ist als die der stationären (Gl. 2.31). Wasser ist ein starker Elektronenpaarakzeptor und somit eine starke Lewis-Säure ($\alpha = 1,17$, Tab. 5.13), Methanol hat aber mit $\alpha = 0,93$ ebenfalls acide Eigenschaften. Zwar sollte die Acidität des Laufmittels mit steigendem Wassergehalt zunehmen, da Δb ($b_{\text{mobil}} - b_{\text{stationär}}$) zunimmt, aber nicht unbedingt in solchem Maße. Demnach muß es eine weitere Ursache für die starke Abnahme der Acidität geben. Mit zunehmenden Wasseranteil im Laufmittel wird der Anteil an Methanol und Wasser in der stationären Phase geringer, wodurch die Basizität der solvatisierten stationären Phase geringer wird. [140] Die beiden Effekte zusammen, Zunahme der Acidität der mobilen und Abnahme von b der stationären Phase, verursachen die deutliche Verkleinerung der Systemeigenschaft b .

Relativ wenig Beeinflussung durch die mobile Phase erfahren die drei anderen Phaseneigenschaften r , s und a . Die Polarisierbarkeit r ist über den gesamten untersuchten Laufmittelbereich positiv mit einem Wert, der relativ konstant bei $0,15$ liegt. Dieser kleine Wert sagt aus, daß die Polarisierbarkeit der stationären und der mobilen Phase annähernd gleich groß ist, wodurch sie praktisch keinen Beitrag zur Retention von Analyten hat. Die gleichen r -Werte für Methanol und Wasser (Tab. 5.13) bestätigen die Entwicklung von r .

Ähnliches gilt für die Basizität a des betrachteten Systems. Sie variiert zwischen 80 und 15 % Methanol lediglich von $-0,24$ nach 0 , steigt also leicht an. Dies bedeutet, daß Methanol/Phosphatpuffer-Mischungen mit hohem Methanolanteilen eine stärkere Basizität besitzen als analoge mobile Phasen mit hohen Wasseranteilen. Methanol und Wasser sind beide Lewis-Basen, da sie über freie Elektronenpaare verfügen. Mit $\alpha = 0,66$ ist Methanol die stärkere Base im Vergleich zu Wasser mit $\alpha = 0,47$, wodurch die Entwicklung von a verständlich wird. Erstaunlich ist aber der ausgeglichene Wert von mobiler und stationärer Phase, da die ODS-Phase an sich keine Lewis-Base darstellt.

Die Dipolarität s zeigt eine leichte Beeinflussung durch die mobile Phase, da sie von $-0,2$ auf $-0,63$ fällt. Da das Wassermolekül ein klassischer Dipol ($\pi = 1,17$) und stärker als der von Methanol ($\pi = 0,61$) ist, wird der Dipol der mobilen Phase mit fallendem Methanolanteil zunehmen, wodurch die Tendenz von s erklärt wird.

Für die Retention der Analyten sind der Cavity-Term v und die Acidität b des flüssigchromatographischen Systems Methanol/Wasser-ODS-Phase die entscheidenden Faktoren. Die Systemeigenschaften r , s und a spielen nur untergeordnete Rollen, da sie numerisch sehr klein sind.

Ein weiterer wichtiger Faktor ist der Achsenabschnitt c . Die Interpretation dieser Eigenschaft bereitet große Probleme, da sie keiner chemisch-physikalischen Eigenschaft zugeordnet ist. Da c nicht mit einer Eigenschaft des Analyten multipliziert wird, kann man sie als reine Systemkonstante bezeichnen, dessen Bedeutung aber noch nicht klar ist. Einige Autoren gehen davon aus, daß in diesem Wert das Phasenverhältnis, also der Quotient aus dem Volumen der stationären und mobilen Phase, enthalten ist [87]. Der Achsenabschnitt ist über den gesamten Polaritätsbereich negativ und relativ konstant, durchläuft aber bei ca. 50 % Methanol ein kleines Maximum.

5.5.1.2 Qualitative Analyse der PoEt-5 μ m-Phase

Die Berechnung der Phaseneigenschaften der PoEt-Phase wird für die Laufmittel von 50 bis 15 % Methanol in 5 % Schritten durchgeführt. Für die multiple lineare Regression bei 20 und 15 % werden die extrapolierten Retentionsfaktoren verwendet. Die Regressionskonstanten R sind mit 0,98248 bis 0,95611 nicht gut. Ursache könnte die Packungsqualität der selbstbefüllten Säule sein. Die Standardabweichung für die acht Regressionen schwankt zwischen 0,030 und 0,055, ein unerwartet gutes Ergebnis. Der prozentuale Fehler für den berechneten Retentionsfaktor (Gl. 2.35) berechnet sich daraus zu 7 bis 14 %, also deutlich kleiner als bei der ODS-5 μ m-Phase. In Abbildung 5.13 sind die Phaseneigenschaften der PoEt-Phase in Abhängigkeit vom Methanolanteil im Laufmittel dargestellt.

Ebenso wie bei der ODS-Phase zeigen die Eigenschaften einen kontinuierlichen Verlauf bei Veränderung der Laufmittelzusammensetzung. Der Cavity-Term v verändert sich von 0,81 bei 50 % auf 2,11 bei 15 % Methanol, und stellt somit den einzigen positiven die Retention fördernden Wert da. Da der Wert deutlich kleiner ist als bei der unpolaren ODS-Phase, ist die Energie für eine Lösungsmittelkäfigbildung in der stationären Phase demnach nur unwesentlich kleiner als in der mobilen. Dies deutet auf eine starke Solvatisierung der stationären Phase hin, erklärbar durch die polarere chemische Struktur der Phase.

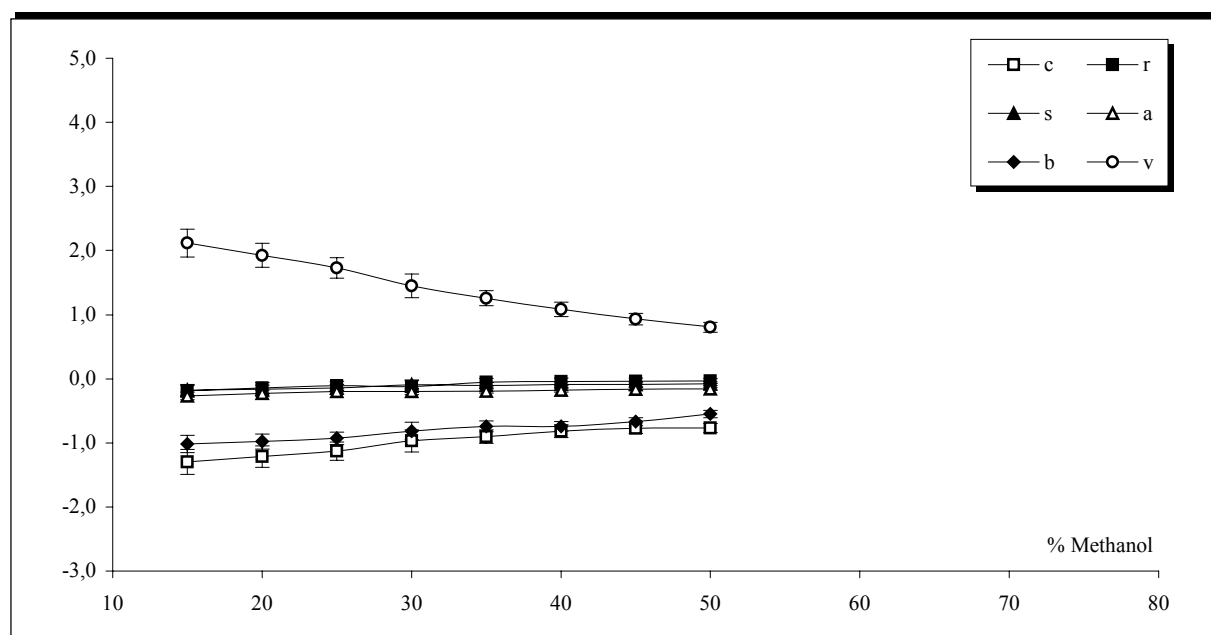


Abb. 5.13: Systemkonstanten der PoEt-5µm-Phase bei Methanol/Phosphatpuffer als mobiler Phase

Die Acidität b ist dafür nicht annähernd so negativ wie bei der ODS-Phase und zeigt auch nur eine geringe Abhängigkeit von der mobilen Phase, sie schwankt zwischen -0,55 bei 50 % und -1,0 bei 15 % Methanol. Dieser geringe Abfall ist somit allein über die Zunahme der Acidität des Laufmittels bei steigendem Wasseranteil (siehe Tab. 5.13) zu erklären. Die stationäre Phase bleibt gleichermaßen solvatisiert, wodurch ihre Acidität vermutlich relativ konstant bleibt.

Die drei anderen Eigenschaften r, s und a zeigen praktisch keine Beeinflussung durch die Veränderung der mobilen Phase, da sie konstant zwischen 0 und -0,3 liegen. Ursache dafür ist vermutlich auch wieder der hohe Solvatisierungsgrad der mobilen Phase.

Einen sehr starken Einfluß auf die Retention von Analyten hat bei dieser Phase der Achsenabschnitt c, da er mit ca. -1 die Retention von Analyten enorm schwächt. Er zeigt in etwa die gleiche Tendenz wie die Acidität b, fällt also leicht von -0,75 bei 50 % auf -1,30 bei 15 % Methanol.

5.5.1.3 Qualitative Analyse der PBS-5µm-Phase

Die Charakterisierung der PBS-Phase erfolgt für den Laufmittelbereich zwischen 75 und 15 % Methanol. Die LSER-Gleichungen von 75 bis 40 % stammen aus experimentellen, die von 35 bis 15 % von extrapolierten Daten. Die Regressionen sind für den gesamten Polaritätsbereich sehr gut, was sich in den Regressionskonstanten von 0,99592 bis 0,98908 zeigt. Der Standardfehler der log k-Werte liegt zwischen 0,017 und 0,057, was einem prozentualen Fehler der k-Werte von 4 bis 14 % entspricht. Wenn man berücksichtigt, daß es sich zum Teil

um Berechnungen aus extrapolierten Daten handelt, ist dies für die LC ein sehr gutes Ergebnis. In Abbildung 5.14 ist die Abhängigkeit der Phaseneigenschaften vom Laufmittel für die PBS-Phase dargestellt.

Wie bei den beiden Phasen zuvor ergibt sich auch hier das gleiche Bild, ein gleichmäßiger Verlauf der Phaseneigenschaften mit der Polarität der mobilen Phase. Der Cavity-Term v verändert sich von 0,94 bei 75 % auf 3,53 bei 15 % Methanol, zeigt also einen deutlichen Anstieg in der Tendenz, daß ein Analyt mit zunehmender Polarität des Laufmittels seinen Lösungsmittelkäfig in der stationären Phase ausbildet. Im Vergleich zur ODS-Phase ist diese Entwicklung aber nicht so intensiv ausgeprägt.

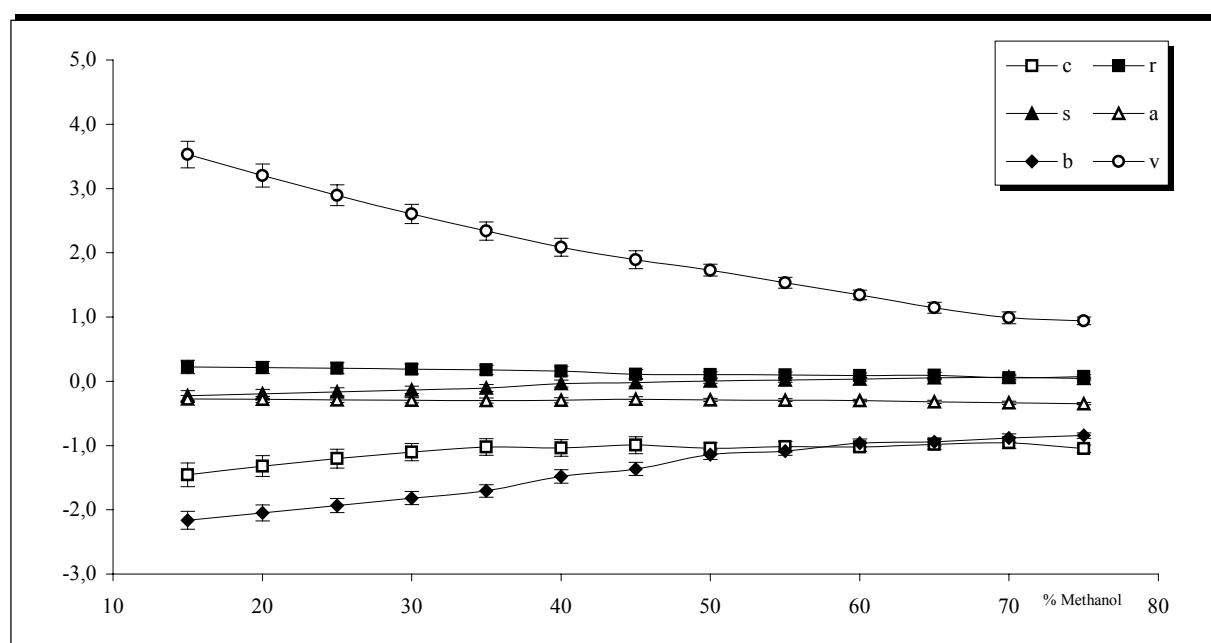


Abb. 5.14: Systemkonstanten der PBS-5µm-Phase bei Methanol/Phosphatpuffer als mobiler Phase

Dies könnte bedeuten, daß die PBS-Phase in einem stärkeren Maße solvatisiert vorliegt als die ODS-Phase, was anhand der chemischen Struktur sehr gut zu erklären ist, da die stationäre Phase über einen Dipol verfügt. Dieser kann mit Wasser- oder Methanolkolekülen in Wechselwirkung treten und solvatisiert werden. Die kürzere Kettenlänge der PBS-Phase sollte eigentlich keinen Einfluß auf die freie Energie des Transfers der Analyten haben. Sie beträgt für den Transfer einer Methylengruppe von Wasser zu n-Hexadekan -793 cal/mol und ist begründet in der deutlich größeren Kohäsivität von Wasser. Im Vergleich dazu ist die freie Energie für den Transfer einer Methylengruppe zu n-Pentan praktisch identisch mit der zu n-Hexadekan. Die Kettenlänge des Liganden sollte also nur einen geringen Einfluß auf den Cavity-Term haben. [90]

Die Polarisierbarkeit r ist über den gesamten Bereich leicht positiv mit einem Wert von 0,05 bis 0,22 und gleicht damit dem der ODS-Phase in Größe und Wertentwicklung. Dies ist erstaunlich, da die PBS-Phase über einen Liganden mit Dipoleigenschaften und freien Elektronenpaaren verfügt. Die Auswirkung der differenten chemischen Struktur zeigt sich dann aber in der Dipolarität s , die von 0,05 bei 80 % auf lediglich -0,23 bei 15 % Methanol fällt. Zwar erkennt man an dieser Tendenz die Zunahme von Wasser im Laufmittel, sie ist aber nicht so stark ausgeprägt wie bei der ODS-Phase, bei der die Dipolarität um 0,5 Einheiten fällt. Die Basizität a bleibt konstant bei ca. -0,3 und gleicht somit der der ODS-Phase. Dieses Ergebnis ist recht erstaunlich, da der Schwefel als Base wechselwirken kann. Vermutlich wird aber eben dieser von Wassermolekülen solvatisiert und hat somit keinen Einfluß mehr auf die Analyten.

Die Acidität b fällt von -0,84 bei 75 % auf -2,16 bei 15 % Methanol und ist damit die Retention am stärksten schwächende Eigenschaft. Wie zuvor ist für die negative Entwicklung die Zunahme der Acidität der mobilen Phase und die Abnahme von b der stationären verantwortlich.

Der c -Wert der PBS-Phase hat einen sehr großen Einfluß auf die Retention der Analyten, da er über den gesamten Polaritätsbereich zwischen -1,0 und -1,5 schwankt und damit die Retention von Analyten stark schwächt. Während alle anderen Eigenschaften in ihren Tendenzen schwächer ausgeprägt sind als bei der ODS-Phase, zeigt der Achsenabschnitt eine ausgeprägte negative Entwicklung im Vergleich zur ODS-Phase.

5.5.1.4 Qualitative Analyse der PBSO-5 μ m-Phase

Die LSER-Daten der PBSO-Phase werden zwischen 70 und 15 % Methanol bestimmt, wobei sie zwischen 70 und 40 % von experimentellen Retentionsfaktoren stammen und im polarerer Bereich von extrapolierten. Die Regressionskonstanten der multiplen linearen Regression liegen zwischen 0,99349 und 0,98423, also nur geringfügig schlechter als bei der PBS-Phase. Die Standardabweichung beträgt für die $\log k$ -Werte 0,030 bis 0,076, einem prozentualen Fehler von 7 bis 19 % für k entsprechend. In Abbildung 5.15 sind die Phaseneigenschaften der PBSO-Phase in Abhängigkeit vom Laufmittel dargestellt. Auch hier ergibt sich die gleiche kontinuierliche Veränderung der Eigenschaften bei zunehmender Polarität des Laufmittels.

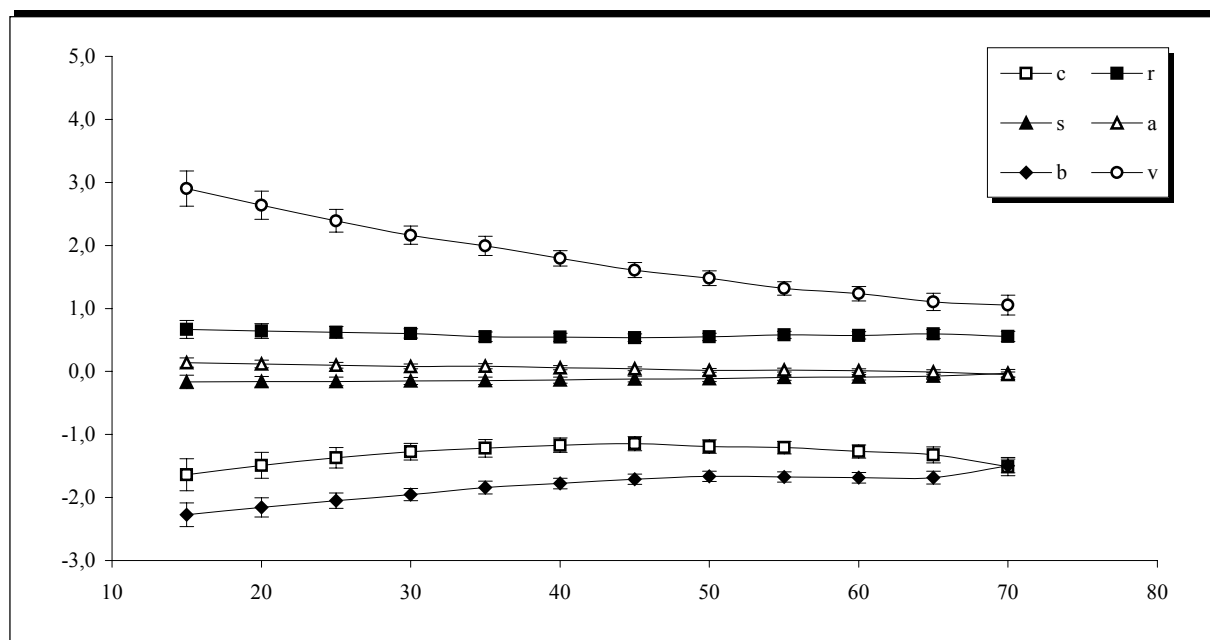


Abb. 5.15: Systemkonstanten der PBSO-5µm-Phase bei Methanol/Phosphatpuffer als mobiler Phase

Der Cavity-Term v steigt von 1,05 bei 70 % auf 2,90 bei 15 % Methanol und liegt damit leicht unter den Werten der PBS-Phase. Die Oxidation der Sulfid- zur Sulfoxidgruppe führt zu einer deutlichen Vergrößerung der Polarität der stationären Phase. Die Erhöhung der Polarität wird vor allem durch das Sauerstoffatom verursacht, wodurch ein noch stärkerer Dipol zwischen Sauerstoff, Schwefel und Ring entsteht. Vermutlich wird die PBSO-Phase stärker solvatisiert als die PBS-Phase, mit der Wirkung, daß die Kohäsivität der stationären Phase vergrößert wird. Die Energiedifferenz für Lösungsmittelkäfigbildung in der mobilen und stationären Phase ($v_{\text{stationär}} - v_{\text{mobil}} \text{ PBSO} < v_{\text{stationär}} - v_{\text{mobil}} \text{ PBS}$) verringert sich.

Ein erwartetes Ergebnis ist die mit der PBS-Phase praktisch identische Acidität, da sich die Acidität der stationären Phase durch die Oxidation der Sulfidgruppe nicht verändert.

Ebenso wie bei der PBS-Phase ist eine leichte „Positivierung“ der Dipolarität im Vergleich zur ODS-Phase zu beobachten, da s nur von ca. 0 auf -0,17 bei 15 % Methanol fällt. Die Sulfoxidgruppe verursacht demnach keinen stärkeren Dipol, der von den Analyten realisiert wird. Einen Effekt erkennt man aber sehr deutlich bei der Polarisierbarkeit r der stationären Phase. Über den gesamten Polaritätsbereich bleibt r konstant bei ca. 0,6, also ca. 0,5 Einheiten größer als bei allen drei Phasen zuvor. Damit hat die Polarisierbarkeit der PBSO-Phase einen nennenswerten Beitrag zur Retention von Analyten, die ebenfalls über eine gewisse Polarisierbarkeit verfügen. Im Gegensatz zu r hat die Sulfoxidgruppe auf die Basizität a nur einen geringen Einfluß, da a von -0,05 bei 80 % auf 0,14 bei 15 % Methanol steigt. Damit ist die Basizität der stationären minimal größer als die der mobilen. Dies ist bei den anderen Phasen nicht der Fall.

Es sei noch einmal darauf hingewiesen, daß es sich bei der PBSO-Phase um eine Mischphase aus ca. 30 % Phenylbutanosulfoxid- und ca. 70 % Phenylbutanosulfidgruppen handelt. Die beobachteten Unterschiede zwischen der PBS- und PBSO-Phase wären vermutlich deutlich größer, wenn eine 100 %ige PBSO-Phase vorliegen würde.

5.5.1.5 Qualitative Analyse der ODS-50µm-Phase

Diese stationäre Phase wurde nur bei einem Laufmittel, Methanol/Phosphatpuffer (40:60), gemessen. Die starke Diffusion der Analyten auf dieser Festphase führt zu einer enormen Peakverbreiterung der Signale, wodurch eine Auswertung der Retentionszeit häufig mit großen Unsicherheiten behaftet ist. Eine intensivere Diskussion dieser Problematik wird in Kapitel 6 durchgeführt. Die LSER-Daten sind aber trotzdem von besonderem Interesse, da dieses Material ein zweites RP-18-Material darstellt und somit in der quantitativen Analyse die gleichen Resultate haben sollte wie die ODS-5µm-Phase. Unterschiede zwischen den Materialien liegen vor allem in der Materialbeschaffenheit, dem Endcapping und der Methode, die Säule zu füllen. Da die Füllmethode dieser Säule ebenfalls bei den Polystyrenmaterialien verwendet wird, können die hier erzielten Ergebnisse sehr gut für eine Überprüfung der gewählten Methode zur Charakterisierung der Polystyrenmaterialien verwendet werden.

Die Regressionskonstante der multiplen linearen Regression beträgt 0,9819 nachdem Benzylalkohol aus dem Datensatz entfernt wird. Der Standardfehler beläuft sich auf 0,07 (17 % für k) und liegt damit innerhalb des Fehlers der HPLC-Materialien. Da die Regressionsergebnisse recht gut sind, liefert die Methode des trockenen Befüllens einer 5 cm HPLC Säule mit SPE Materialien also ausreichend genaue Retentionsfaktoren von Analyten. In Tabelle 5.14 sind die Werte der Phaseneigenschaften der ODS-50µm-Phase bei 40 % Methanol dargestellt.

Tab. 5.14: Phaseneigenschaften der ODS-50µm- und der ODS-5µm-Phase bei 40 % Methanol

Phase	c	r	s	a	b	v
ODS-50µm	-0,69 (±0,24)	0,15 (±0,13)	-0,48 (±0,10)	-0,51 (±0,07)	-2,44 (±0,21)	2,98 (±0,27)
ODS-5 µm	-1,00 (±0,20)	0,19 (±0,11)	-0,39 (±0,09)	-0,12 (±0,06)	-2,03 (±0,16)	2,89 (±0,22)

5.5.1.6 Zusammenfassung

Die multiple lineare Regression von Gleichung 2.30 ergibt für alle vier HPLC-Phasen für jede Laufmittelzusammensetzung gute Regressionskonstanten zwischen 0,95611 und 0,99592. Die prozentuale Abweichung der aus den Gleichungen berechneten Retentionsfaktoren schwankt zwischen 4 und 23 %. Anhand dieser Ergebnisse läßt sich sagen, daß das LSER-Model für die

Charakterisierung flüssigchromatographischer stationärer Phasen geeignet ist, da die Genauigkeit der gemessenen Retentionsfaktoren ausreicht, um gute Regressionen der Gleichung zu erhalten.

Die Polarisierbarkeit r , Dipolarität s , Basizität a , Acidität b und der Cavity-Term v zeigen bei allen vier Phasen eine deutliche Abhängigkeit von der Polarität des Laufmittels, wobei v und b am meisten beeinflusst werden. Dies verdeutlicht, daß es sich hier also stets um Systemeigenschaften ($\text{Eigenschaft}_{\text{stationär}} - \text{Eigenschaft}_{\text{mobil}}$, siehe Gleichung 2.31) handelt, die die Konkurrenz der mobilen und stationären Phase um den Analyten widerspiegeln. Der Cavity-Term zeichnet sich durch große positive Werte aus und fördert somit die Retention von Analyten, während die Acidität immer stark negativ ist und die Retention schwächt. Die anderen drei Eigenschaften spielen nur eine untergeordnete Rolle, da sie zumeist um 0 variieren. Lediglich bei der PBSO-Phase hat die Polarisierbarkeit r mit 0,6 einen die Retention verstärkenden Einfluß auf Analyten.

Entscheidend für den Cavity-Term ist die Energie, die aufgebracht werden muß, um entweder in der stationären oder der mobilen Phase einen Lösungsmittelkäfig auszubilden. Da Wasser ein starkes Netz von Wasserstoffbrücken ausbildet, beträgt die Energie für den Transfer einer Methylengruppe von Wasser in Hexadekan -793 cal/mol. Dies bedeutet, daß Lösungsmittelkäfigbildung in einer organischen Phase stets favorisiert wird, und erklärt somit die großen positiven v -Werte. Die Polarisierbarkeit r steht für die Fähigkeit zur Wechselwirkung mit freien Elektronenpaaren. Lediglich die PBSO-Phase besitzt mit 0,6 ein deutlich positives r . Die Acidität b ist auf allen Phasen negativ und verkürzt demnach die Retentionszeiten. Die stark negative Entwicklung von b bei Erhöhung des Wasseranteils wird durch die Zunahme der Acidität des Laufmittels und der Abnahme von b der stationären Phase durch geringere Solvatisierung verursacht. Die Tendenz und Intensität ist bei der ODS-, PBS- und PBSO-Phase gleich, bei der PoEt-Phase nicht so sehr ausgeprägt. Die Dipolarität und Basizität der vier Phasen zeigen keine Auffälligkeiten und haben praktisch keinen Einfluß auf die Retention der Analyten.

Eine sehr interessante „Phaseneigenschaft“ ist der Achsenabschnitt c . Bei allen Phasen ist er über den gesamten Polaritätsbereich negativ und verkürzt dadurch die Retentionszeit eines Analyten. Da c als Achsenabschnitt nicht mit einer Eigenschaft eines Analyten multipliziert wird, stellt er eine Art Grundwert da, der von der Retentionszeit jedes Analyten, unabhängig von dessen chemischer Struktur, abgezogen wird. Man könnte c als eine Art Phasenkonstante betrachten, die aber auch laufmittelabhängig ist. Der Verlauf von c ist bei den meisten Phasen parabelförmig und durchläuft häufig bei 45 bis 55 % Methanol ein schwaches Maximum.

Über die Bedeutung von c ist in der Literatur bislang noch nichts veröffentlicht. Es gibt keine chemisch-physikalische Eigenschaft, die c zugeordnet wird, es wird aber erwähnt, daß c Aspekte des Phasenverhältnisses enthält.

5.5.2 Quantitative Analyse – Klassifizierung von stationären Phasen

In Kapitel 5.5.1 wurden die qualitativen Veränderung der Phaseneigenschaften in Abhängigkeit vom Laufmittel diskutiert. In diesem Kapitel geht es um den direkten Vergleich stationärer Phasen mit dem Ziel, eine Klassifizierung stationärer Festphasen anhand ihrer fünf LSER-Eigenschaften durchzuführen. Die Phaseneigenschaften chemisch äquivalenter stationärer Phasen sollten unter gleichen Laufmittelbedingungen stets identisch sein. Eine Studie von *Abraham et. al.* ergab allerdings, daß C_{18} -Phasen von verschiedenen Herstellern unter gleichen Bedingungen durchaus sehr unterschiedliche Phaseneigenschaften besitzen. Dies konnte auf eine Abhängigkeit vom Belegungsgrad der Phase zurückgeführt werden. Für einen Vergleich der Werte ist deshalb zuvor eine Normalisierung der Eigenschaften durchzuführen, wofür der Cavity-Term v verwendet wird. [87] Die Normalisierung könnte auch mit jeder anderen Eigenschaft durchgeführt werden, allerdings erscheint die Verwendung von v , der einzig wirklichen hydrophoben Eigenschaft, am sinnvollsten. Gleichung 2.30 erhält dadurch folgende Form:

$$\log k = c + v (r/vR_2 + s/v\pi_2^H + a/v\Sigma\alpha_2^H + b/v\Sigma\beta_2^H + V_x/100) \quad \text{Gl. 5.4}$$

Die so normalisierten Eigenschaften von C-18-Phasen sollten dann identisch sein und man kann sie als Systemkonstanten betrachten. Für sechs Phasen im Methanol/Wasser-System mit Standardabweichungen zwischen 0,05 und 0,1 konnte dies gezeigt werden. [87]

Wie aus Gleichung 5.4 hervorgeht, wird der Achsenabschnitt c bei der Normalisierung nicht berücksichtigt, da er je nach Phase variiert und mit v zu den beiden hydrophoben Eigenschaften gezählt wird. Betrachtet man einen idealen Analyten, der über keine Polarisierbarkeit, Dipolarität, Acidität und Basizität verfügt und ein McGowan Volumen von eins hat, vereinfacht sich Gleichung 5.4 für diesen Analyten zu:

$$\log k = c + v \quad \text{Gl. 5.5}$$

Da die Retention eines völlig unpolaren Analyten nur von der Hydrophobizität der stationären Phase, und damit direkt vom Belegungsgrad der Phase abhängt, wird der Quotient aus der

Summe der hydrophoben Eigenschaften c und v und dem Belegungsgrad A als sogenannte „intrinsische“ (innere) Hydrophobizität (IH) bezeichnet.

$$IH = (c + v)/A \quad \text{Gl. 5.6}$$

Phasen mit äquivalenter chemischer Struktur sollten sich in ihrer intrinsischen Hydrophobizität nicht unterscheiden.

Für die vier HPLC Phasen sind die normalisierten Phaseneigenschaften für vier Laufmittel, 50, 45, 40 und 15 % Methanol, und für die ODS-50 μ m-Phase für 40 % Methanol in Tabelle 5.15 zusammengestellt.

Tab. 5.15: Normalisierte Phaseneigenschaften von fünf stationären bei vier mobilen Phasen

Phase	mobile Phase	v	c	r/v	s/v	a/v	b/v
ODS-5 μ m	50 % Methanol	2,45	-0,95	0,07	-0,13	-0,06	-0,80
	45 % Methanol	2,69	-0,96	0,06	-0,13	-0,05	-0,77
	40 % Methanol	2,89	-1,00	0,06	-0,13	-0,04	-0,70
	15 % Methanol	4,41	-1,23	0,04	-0,14	0,00	-0,62
ODS-50 μ m	40 % Methanol	2,98	-0,69	0,05	-0,16	-0,17	-0,82
PoEt	50 % Methanol	0,81	-0,77	-0,04	-0,09	-0,20	-0,68
	45 % Methanol	0,93	-0,77	-0,04	-0,10	-0,17	-0,72
	40 % Methanol	1,08	-0,82	-0,04	-0,08	-0,17	-0,69
	15 % Methanol	2,11	-1,30	-0,15	-0,14	-0,21	-0,78
PBS	50 % Methanol	1,73	-1,04	0,06	0,00	-0,17	-0,66
	45 % Methanol	1,89	-0,99	0,06	-0,01	-0,15	-0,72
	40 % Methanol	2,09	-1,04	0,08	-0,02	-0,14	-0,71
	15 % Methanol	3,53	-1,46	0,06	-0,07	-0,08	-0,61
PBSO	50 % Methanol	1,48	-1,19	0,37	-0,08	0,01	-1,12
	45 % Methanol	1,61	-1,15	0,34	-0,07	0,03	-1,06
	40 % Methanol	1,80	-1,17	0,30	-0,08	0,03	-0,99
	15 % Methanol	2,90	-1,64	0,23	-0,06	0,05	-0,79

Alle normalisierten Eigenschaften verändern sich bei Erhöhung der Polarität des Laufmittels. Die Phaseneigenschaften, die annähernd Null betragen, haben trotz der stark positiven Entwicklung von v einen quasi konstanten Wert, da sich der Quotient aufgrund des kleinen Zählers kaum verändert. Aber wie aus den Abbildungen 5.12 bis 5.15 hervorgeht, klafft eine immer größer werdende Schere zwischen den v - und b -Werten, während r , s und a relativ konstant bleiben. Man kann also die Systemkonstanten nur in Zusammenhang mit der mobilen Phase benennen. Bei den beiden ODS-Phasen zeigen die normalisierten Phaseneigenschaften teilweise gute Übereinstimmung. Die Polarisierbarkeit r/v (0,06 und 0,05) sind fast gleich, Unterschiede sind vor allem bei Dipolarität s/v (-0,16 und -0,13) und Basizität a/v (-0,04 und -0,17) zu beobachten. Berücksichtigt man die ausgesprochene Verschiedenheit der

Basismaterialien (siehe Tabelle 5.1, Endcapping), können diese Differenzen auf freie Silanolgruppen zurückzuführen sein. Die normalisierten Eigenschaften zeigen auf jeden Fall, daß sich die ODS-Materialien zwar ähnlich, aber in ihren Selektivitäten nicht gleich sind.

Für die fünf Festphasenmaterialien ergeben sich bei 40 % Methanol folgende LSER-Gleichungen:

ODS-Nucleosil-5µm

$$\log k_{40} = -1,00 + 2,89 (0,07R_2 - 0,13\pi_2^H - 0,05\Sigma\alpha_2^H - 0,70\Sigma\beta_2^H + V_x/100)$$

$$\{\log k = c + v (0,13R_2 - 0,32\pi_2^H - 0,22\Sigma\alpha_2^H - 0,90\Sigma\beta_2^H + V_x/100)\} [87]$$

ODS-ne-50µm

$$\log k_{40} = -0,69 + 2,98 (0,05R_2 - 0,16\pi_2^H - 0,17\Sigma\alpha_2^H - 0,82\Sigma\beta_2^H + V_x/100)$$

PoEt-LiChrospher-5µm

$$\log k_{40} = -0,82 + 1,08 (-0,04R_2 - 0,08\pi_2^H - 0,17\Sigma\alpha_2^H - 0,69\Sigma\beta_2^H + V_x/100)$$

PBS-LiChrospher-5µm

$$\log k_{40} = -1,04 + 2,09 (0,08R_2 - 0,02\pi_2^H - 0,14\Sigma\alpha_2^H - 0,71\Sigma\beta_2^H + V_x/100)$$

PBSO-LiChrospher-5µm

$$\log k_{40} = -1,17 + 1,80 (0,30R_2 - 0,08\pi_2^H + 0,03\Sigma\alpha_2^H - 0,99\Sigma\beta_2^H + V_x/100)$$

Die Gleichung in geschweiften Klammern unterhalb der ODS-5µm-Phase wurde aus einem großen Datensatz (sechs verschiedene C₁₈-Phasen bei unterschiedlichen Laufmitteln, insgesamt 25 LSER-Gleichungen) gemittelt und als universelle LSER-Gleichung für RP-18-Phasen in Methanol/Wasser Laufmitteln angegeben. Der Methanolgehalt variierte dabei zwischen 90 und 30 %, die r/v-Werte zwischen 0,06 und 0,27 (Stabw.: 0,05), die s/v-Werte zwischen -0,22 und -0,53 (Stabw.: 0,07), die a/v zwischen -0,04 und -0,39 (Stabw.: 0,1) und die b/v-Werte zwischen -0,75 und -1,04 (Stabw.: 0,09). Betrachtet man diese enorme Streuung der Werte, auch wenn die Standardabweichung relativ gering ist, sollte man doch prüfen, ob es sinnvoll ist, eine universelle LSER-Gleichung angeben zu wollen. Wie aus Tabelle 5.15 hervorgeht, sind die Unterschiede zwischen normalisierten Phaseneigenschaften chemisch sehr verschiedener stationärer Phasen sehr gering. Die PBSO-Phase fällt mit einer um 0,3 Einheiten größeren Polarisierbarkeit r/v deutlich auf. Will man Phasen anhand ihrer Eigenschaften charakterisieren, darf man keine Verallgemeinerung auf Kosten der Genauigkeit durchführen,

da sonst wichtige Informationen verlorengehen können. Wie zuvor in Kapitel 5.5.1 gezeigt wurde, besitzen die Systemeigenschaften eine deutliche Laufmittelabhängigkeit, ein Ergebnis, welches bereits aus der Theorie hervorgeht. Sie lassen sich nicht zu einer universellen Gleichung zusammenfassen.

Im folgenden wird der Versuch einer Klassifizierung der hier untersuchten und weiterer literaturbekannter Phasen unternommen. Die Anzahl der Daten ist noch relativ gering, wodurch z.T. die Einteilung von Betrachter zu Betrachter unterschiedlich durchgeführt werden würde. Es läßt sich auch nicht vermeiden, daß Vorkenntnisse in die Klassifizierung mit einbezogen werden, da eine Art Skala für normalisierte Eigenschaften nicht existiert. Sie kann nur durch die Ansammlung größerer Datenmengen ermittelt werden, wofür hier ein Anfang geschaffen werden soll. Demnach hängt diese Einteilung noch stark von den untersuchten Materialien ab, die zumeist ODS-Phasen sind.

Da die Eigenschaften stationärer Phasen durch die von *Abraham et al.* eingeführten normalisierten Phaseneigenschaften vergleichbar geworden sind, muß es möglich sein, Phasenmaterialien anhand ihrer Eigenschaften unterscheiden zu können. Voraussetzung ist die Verwendung der gleichen mobilen Phase. Die Einteilung der stationären Phasen bezieht sich auf ihre polaren Eigenschaften bei dem Laufmittel Methanol/Wasser (50:50) bei einem pH-Wert von zwei.

5.5.2.1 Die normalisierte Polarisierbarkeit $r/v_{50\% \text{ Methanol}}$

Die normalisierte Polarisierbarkeit r/v ist bei vier der hier untersuchten Phasen, ODS-5 μ m, ODS-50 μ m, PoEt und PBS, praktisch gleich. Betrachtet man die Standardabweichung von r , ist keiner der r/v -Werte größer als 0,15. Auffällig ist die PBSO-Phase mit einer erhöhten Polarisierbarkeit r/v von 0,4. Diese Phase besitzt demnach die Fähigkeit, mit freien Elektronenpaaren in Wechselwirkung zu treten, während die anderen mit einem Wert kleiner 0,15 über diese Möglichkeit praktisch nicht verfügen, da ODS-Phasen über keine freien Elektronenpaare verfügen. Unter Berücksichtigung der in der Literatur untersuchten Phasen kann man eine Klassifizierung der stationären Phasen bezüglich ihrer Polarisierbarkeit in drei Gruppen vornehmen. In Tabelle 5.16 ist die Einteilung vorgestellt. Die in dieser Arbeit untersuchten Phasen sind fett gedruckt.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, befinden sich bis auf eine alle ODS-Phasen in der rechten Spalte bei einer Polarisierbarkeit r/v kleiner als 0,15. Für die Untersuchung neuer Phasen bedeutet also ein in dieser Kategorie liegender r/v -Wert, daß die stationäre Phase bezüglich ihrer Polarisierbarkeit mit einer RP-18 Phase vergleichbar ist.

Tab. 5.16 Klassifizierung stationärer Phasen durch ihre normalisierte Polarisierbarkeit $r/v_{50\% \text{ Methanol}}$

$r/v > 0,30$	$0,30 > r/v > 0,15$	$r/v < 0,15$
PBSO (0,37)	Polyethylen coated alumina (0,18) ^a [94] Cyanopropylsilica (0,22) [106] PLRPS (0,23) ^b [116] SYM-C18 (0,20) [97]	ODS Hypersil (0,06) [87] ODS Hypersil (0,09) [87] ODS Zorbax (0,14) [87] ODS Nucleosil 5-C18 (0,11) [87] ODS Nucleosil 5-C18 HD (0,07) ODS Spherisorb (0,12) [87] ODS Baker (0,12) [101] ODS-SPE-ne-50μm (0,05)^c Polyethylene coated silica (0,08) ^a [94] PoEt (-0,04) PBS (0,06) M-C18e (0,10) [97] Mpure (0,11) [97]

^a bei 10 % Methanol, ^b bei 60 % Methanol, ^c bei 40 % Methanol

5.5.2.2 Die normalisierte Dipolarität $s/v_{50\% \text{ Methanol}}$

Bei der Dipolarität lassen sich zwei Gruppen von Phasen anhand ihrer s/v -Werte unterscheiden. Von den hier untersuchten Phasen befinden sich die mit polarer Funktionalisierung (PoEt, PBS und PBSO) in einer Klasse mit $s/v > -0,15$. Die zweite Klasse wird vor allem durch alle ODS-Materialien gebildet. In Tabelle 5.17 ist die Klassifizierung dargestellt.

Tab. 5.17 Klassifizierung stationärer Phasen durch ihre normalisierte Dipolarität $s/v_{50\% \text{ Methanol}}$

$s/v > -0,10$	$s/v < -0,10$
PBSO (-0,08) PoEt (-0,09) PBS (0,00) PLRPS (-0,04) ^b [116] Methylphase (-0,10) [91]	ODS Hypersil (-0,27) [87] ODS Hypersil (-0,24) [87] ODS Zorbax (-0,31) [87] ODS Nucleosil 5-C18 (-0,29) [87] ODS Nucleosil 5-C18 HD (-0,13) SYM-C18 (-0,36) [97] M-C18e (-0,38) [97] ODS Spherisorb (-0,32) [87] ODS Baker (-0,27) [101] ODS-SPE-ne-50μm (-0,16)^c Polyethylene coated silica (-0,26) ^a [94] Polyethylene coated alumina (-0,24) ^a [94] Mpure (-0,36) [97] Pentylphase (-0,15) [91]

^a bei 10 % Methanol, ^b bei 60 % Methanol, ^c bei 40 % Methanol

Tabelle 5.17 ergibt auch über die Dipolarität eine sinnvolle Klassifizierung, da alle ODS-Phasen bei diesem Laufmittel annähernd die gleiche Dipolarität besitzen. Interessanterweise befinden sich kurzkettige aliphatische Phasen in der Gruppe mit größerer Dipolarität.

5.5.2.3 Die normalisierte Basizität $a/v_{50\% \text{ Methanol}}$

Für die Basizität wird keine Klassifizierung der Phasen in verschiedene Gruppen durchgeführt. Die Phasen unterscheiden sich kaum in ihren a/v -Werten, lediglich die PBSO-Phase weicht mit $a/v = 0$ etwas von den negativen Basizitäten der anderen Phasen ab. Die Ursache kann die Sulfoxidgruppe sein, die aufgrund der freien Elektronenpaare am Sauerstoffatom die Fähigkeit hat, als Wasserstoffbrückenakzeptor zu fungieren. Der Effekt ist aber sehr schwach ausgebildet.

5.5.2.4 Die normalisierte Acidität $b/v_{50\% \text{ Methanol}}$

Im Gegensatz zur Basizität lassen sich die Phasen bezüglich ihrer Acidität in drei Klassen unterteilen. Auch hier treffen sich die ODS-Phasen in einer mittleren Gruppe mit Werten zwischen -0,7 und -1,0. In Tabelle 5.18 sind die drei Klassen von Aciditäten dargestellt.

Wie zuvor zeigen die Cyanopropyl- und PLRPS-Phase (ein Polystyrenmaterial) ein von den Eigenschaften der ODS-Materialien anderes Verhalten. Sie bilden zusammen mit der PBSO-Phase die Gruppe stationärer Phasen mit der geringsten Acidität, während die beiden Polyethylenmaterialien und die PoEt-Phase über eine ausgeprägte Acidität verfügen.

Tab. 5.18 Klassifizierung stationärer Phasen durch ihre normalisierte Acidität $b/v_{50\% \text{ Methanol}}$

$b/v > -0,60$	$-0,60 > b/v > -1,00$	$b/v < -1,00$
Polyethylene coated alumina (-0,30) ^a [94] Polyethylene coated silica (-0,13) ^a [94]	ODS Hypersil (-0,75) [87] ODS Hypersil (-0,93) [87] ODS Zorbax (-0,81) [87] ODS Nucleosil 5-C18 (-0,91) [87] ODS Spherisorb (-0,86) [87] ODS Baker (-0,73) [101] ODS Nucleosil 5-C18 HD (-0,80) ODS-SPE-ne-50μm (-0,82)^c PBS (-0,78) PoEt (-0,68) Methylphase (-0,79) [91] Pentylphase (-0,76) [91] Decylphase (-0,76) [91] Phenylphase (-0,78) [91] Fluorphenyl (-0,80) [91] SYM-C18 (-0,80) [97] M-C18e (-0,71) [97] Mpure (-0,73) [97]	PBSO (-1,12) PLRPS (-1,02) ^b [116] Cyanopropylsilica (-1,09) [106]

^a bei 10 % Methanol, ^b bei 60 % Methanol, ^c bei 40 % Methanol

5.5.2.5 Die „intrinsische“ Hydrophobizität I_H

Da die Retention eines Analyten hauptsächlich durch die hydrophoben Eigenschaften v und c beeinflusst wird, ist für die Charakterisierung einer stationären Phase ihre Hydrophobizität von großer Bedeutung. Ein Maß dafür wird in Gleichung 5.6 durch den Quotienten $(v + c)/A$ vorgeschlagen. Die mittlere „intrinsische Hydrophobizität“ für 14 RP-18-Materialien wird in der Literatur mit 0,50 und einer Standardabweichung von 0,12 angegeben. Bei der Bildung des Mittelwertes wird nicht zwischen verschiedenen mobilen Phasen unterschieden, obwohl die Werte für I_H zwischen 0,34 und 0,71 schwanken. Es wird darauf hingewiesen, daß die Phasen nicht identisch sind, da sich Unterschiede in Analytselektivitäten zeigen und deshalb eine Mittelung der Werte gerechtfertigt wäre. [87]

In Abbildung 5.16 sind die „intrinsischen“ Hydrophobizitäten der vier HPLC-Phasen in Abhängigkeit vom Laufmittel dargestellt.

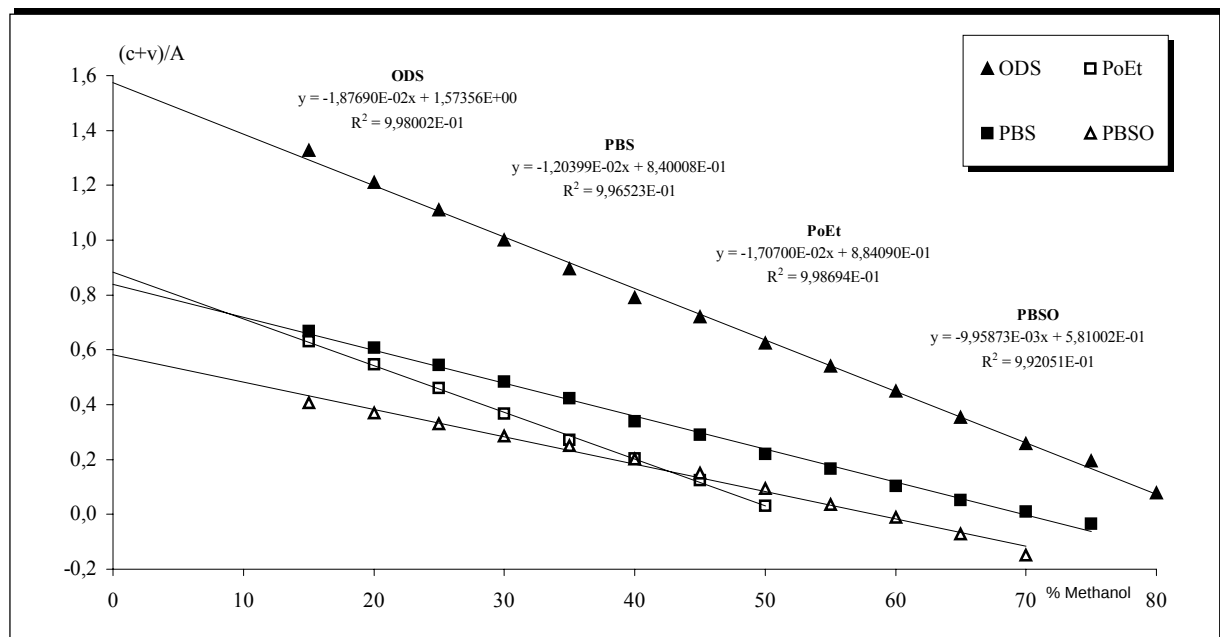


Abb. 5.16: „intrinsische“ Hydrophobizität der ODS-5 μ m-, PoEt-, PBS- und PBSO-Phase in Abhängigkeit vom Laufmittel

Der IH-Wert für die ODS-5 μ m-Phase bei 40 % Methanol beträgt 1,53, der der ODS-5 μ m-Phase 0,79. Nimmt man jetzt noch den vorgeschlagenen Wert für RP-18-Materialien mit 0,50, kann man hier sicher nicht von einer Konstante sprechen. Dies wird durch die Abbildung bestätigt, die eine deutliche, z.T. unterschiedlich stark ausgeprägte Abhängigkeit aller Hydrophobizitäten von der Polarität des Laufmittels zeigt. Die Ergebnisse einer linearen Regression sind in Abbildung 5.16 mit aufgeführt. Die ODS-5 μ m-Phase besitzt bei jedem Laufmittel die größte IH. Bei 80 % liegt sie bei ca. 0,1 und steigt auf 1,32 bei 15 % Methanol. Die IH der PBS-Phase steigt von 0 bei 75 % auf 0,7 bei 15 %, die der PoEt-Phase von ca. 0 bei 50 auf 0,6 bei 15 % und die der PBSO-Phase ebenfalls von 0 bei 70 % auf nur 0,4 bei 15 % Methanol. Errechnet man aus den Steigungen die IH bei 100 % Wasser, also den IH_w -Wert, ergeben sich bei einer linearen Regression folgende Ergebnisse: $IH_w, ODS = 1,57$, $IH_w, PoEt = 0,88$, $IH_w, PBS = 0,84$ und $IH_w, PBSO = 0,58$. Erstaunlich an diesem Ergebnis ist die IH der PoEt-Phase, die bei 100 % Wasser praktisch identisch mit der der PBS-Phase ist, obwohl sich die PoEt-Phase zuvor, vergleicht man die Retentionszeiten von Analyten, immer als polarste der vier HPLC Phasen präsentiert hat. Für ein besseres Verständnis der hier vorliegenden Ergebnisse muß auf die Diskussion von Adsorptions- und Verteilungsmechanismen, sowie auf die Modelle stationärer Phasen in Kapitel 2.1 und 2.2 zurückgegriffen werden. Über die IH erhält man Informationen über a) die Polarität (absolute Werte) und b)

das Verhalten in Abhängigkeit von der Laufmittelpolarität (Steigung) einer stationären Phase.

Die Polarität oder IH einer stationären Phase hängt von ihrer chemischen Struktur und dem Solvatisierungsgrad ab. Letzterer zeigt eine deutliche Abhängigkeit vom Laufmittel, wie Abb. 5.16 zu entnehmen ist.

Die Steigung der IH bei zunehmender Laufmittelpolarität erfolgt in erster Linie durch den Cavity-Term v , der bei allen vier HPLC-Phasen kontinuierlich größer wird (vergl. Abb. 5.12-5.15). Er gibt an, in welcher Phase der Analyt aufgrund geeigneterer energetischer Bedingungen den Lösungsmittelkäfig bildet ($v = v_s - v_m$). Betrachtet man die stationären Phasen, kann eine Zunahme der IH nur durch Lösungsmittelausschluß erfolgen. Dies führt dazu, daß sich die Modifikation der stationären Phase von bürstenähnlich zur gestapelten Form (Kap. 2.2.5) verändert. Die Verringerung der Schichtdicke der stationären Phase kann Einfluß auf den Retentionsmechanismus haben. Es ist aber bei keiner der vier HPLC-Phasen ein Bruch im Verlauf von v zu erkennen, was auf ein gleichbleibendes Verhältnis der Retentionsmechanismen, hier zum größten Teil Verteilung, hindeutet. Sollte bei irgendeiner Laufmittelzusammensetzung der Mechanismus zur Adsorption wechseln, müßte ein Bruch im Verlauf von v zu kleineren Werten erkennbar sein, da die normalisierte freie Energie a_g (Verteilung) größer ist als die für die Adsorption. Zwar konnten *Vailaya und Horváth* zeigen, daß sie sich nicht um den theoretischen Faktor sechs unterscheiden, dennoch aber ein meßbarer Unterschied besteht. [18] Des weiteren stellten sie ebenso wie *Lochmüller und Wilder* [13] fest, daß auf Alkylphasen mit kürzeren Kettenlängen als C_{12} ein anderes Verhältnis (z.B. Anteil Adsorption zum Anteil Verteilung) der Retentionsmechanismen zu beobachten war, da für diese Phasen die Ergebnisse der chromatographischen und Verteilungsexperimente keinen linearen Zusammenhang zeigten.

Dies bedeutet für die ODS-Phase, daß sie zwar mit steigendem Wasseranteil im Laufmittel zusammenfällt, aber weiterhin das Eindringen der Analyten ermöglicht, was mit den Ergebnissen von *Vailaya und Horváth* sowie *Lochmüller und Wilder* konform ist.

Die PoEt-Phase, die ebenfalls eine aliphatische Kette besitzt, zeigt eine sehr ähnliche Steigung der IH wie die ODS-Phase. Sie ist aber über den gesamten Polaritätsbereich deutlich stärker solvatisiert, da ihre absoluten Werte stets kleiner sind. Die deutlich kürzere und polarere Kette ($C_{10}O_4$) verhindert das komplette Eindringen der Analyten, wodurch auf dieser Phase sicher deutlich mehr Adsorptionsanteile zu vermuten sind.

Die IH der PBS-Phase besitzt mit -0,0120 eine kleinere Steigung als die ODS oder PoEt-Phasen. Aufgrund ihrer chemischen Struktur, kurze C_4 -Kette und voluminöser Aromat, wird die PBS-Phase kaum zusammenfallen, wodurch vermutlich auf der PBS-Phase die Adsorption

eine große Rolle spielt. Durch die kurze Kette kann die stationäre Phase keine „organische Schicht“ bilden, in die ein Analyt vollständig eindringen kann. Das gleiche gilt für die PBSO-Phase, deren IH über den untersuchten Polaritätsbereich kaum ansteigt und insgesamt am niedrigsten ist. Der aromatische Ring und die Sulfoxidgruppe bieten für das Laufmittel eine gute Gelegenheit zur Solvation.

Die durchgeführte Interpretation der Verläufe der „intrinsischen“ Hydrophobizitäten ist ein Versuch, mit Hilfe von Literaturdaten das unterschiedliche Verhalten der stationären Phasen zu erklären. Für eine genauere Betrachtung der Retentionsmechanismen müßten aber weitere Experimente durchgeführt werden.

Wie schon erwähnt hängt der Retentionsmechanismus nicht nur von der Natur der stationären und mobilen Phase ab, sondern kann sich auch von Analyt zu Analyt ändern. An dieser Stelle sei noch einmal auf eine Besonderheit der Extrapolationsgleichungen (Tab. 5.9-5.12) der $\log k$ -Werte der 20 Analyten auf den vier HPLC Phasen eingegangen. Auf der ODS-Phase besitzen sechs Analyten einen negativen Z_2 -Koeffizienten, haben also rein theoretisch ein Retentionsmaximum und 14 einen positiven Z_2 -Koeffizienten, der für ein theoretisches Retentionsminimum steht. Der Retentionsfaktor der sechs Analyten nimmt also bei steigender Polarität der mobilen Phase mit immer kleiner werdenden Schritten zu, während der der anderen 14 mit immer größer werdenden Schritten wächst. Dieses Verhalten könnte ein Hinweis auf verschiedene Anteile der Retentionsmechanismen am Retentionsfaktor sein, da der $\log k$ -Wert die Summe der energetischen Wechselwirkungen widerspiegelt. Da die Energie für die Adsorption kleiner ist als die für Verteilung, spricht ein negativer Z_2 -Koeffizient für größere Anteile der Adsorption an der Retention.

5.5.2.6 Die Beiträge der Phasen- und Analyteigenschaften zur Retention

Die stationären Phasen, die in diesem Kapitel charakterisiert wurden, sind strukturell sehr verschieden. Diese Unterschiede werden in den Phaseneigenschaften aber nur sehr gering reflektiert, da die numerischen Werte der Eigenschaften z.T. fast identisch sind. Für die Analyten sind sie aber dennoch sehr entscheidend, da sich auf den fünf Festphasenmaterialien sehr unterschiedliche Elutionsreihenfolgen ergeben (Abb. 5.7). Es stellt sich also nun die Frage, in welchem Ausmaß ein Analyt mit seiner speziellen Eigenschaft mit der korrespondierenden Eigenschaft der stationären Phase in Wechselwirkung tritt. In Abbildung 5.17 sind die Phaseneigenschaften der fünf Festphasenmaterialien bei 40 % Methanol gegeneinander aufgetragen.

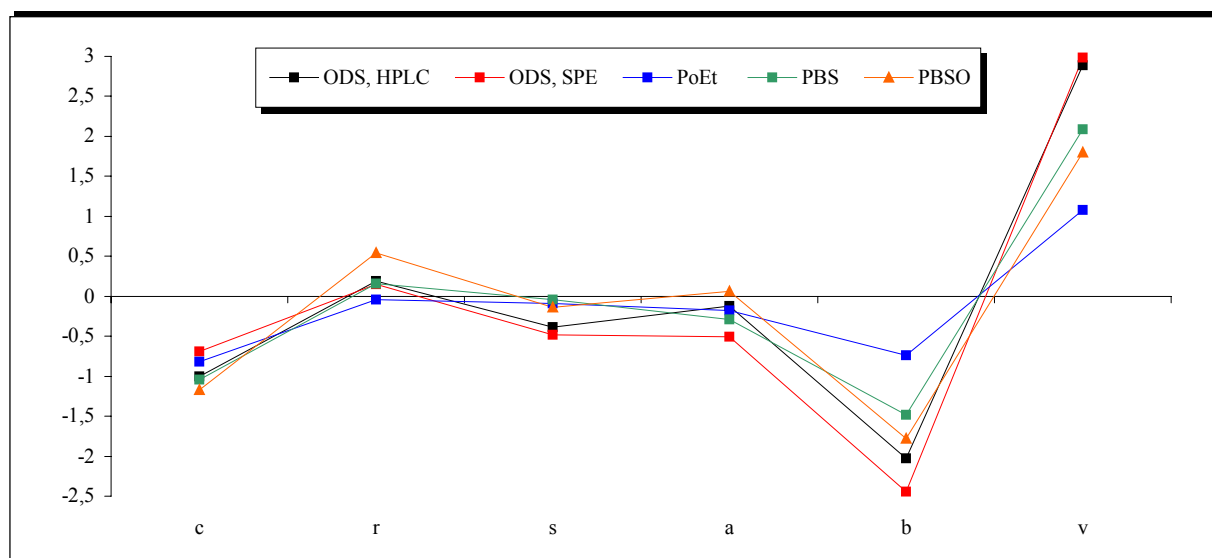


Abb. 5.17: Vergleich der Phaseneigenschaften c, r, s, a, b und v von fünf stationären Phasen bei 40 % Methanol

Die Werte für alle Eigenschaften schwanken zwischen -2,5 und 3. Aus dem Diagramm wird deutlich, daß b und v die wichtigsten, die Retention am meisten beeinflussenden Eigenschaften, darstellen. Man kann deutliche Unterschiede bezüglich dieser beiden Phaseneigenschaften zwischen den fünf Phasen erkennen. Einerseits besitzt die PoEt-Phase bei der Basizität mit -0,74 den größten Wert und schwächt die Retention eines Analyten dadurch am geringsten, hat aber andererseits beim Cavity-Term mit 1,08 den kleinsten Wert und fördert die Retention am wenigsten. Bei den anderen Eigenschaften r, s und a ist der Unterschied zwischen den Phasen deutlich geringer als bei b und v. Des weiteren schwanken sie um Null, wodurch die Wechselwirkung mit dem Analyten um einiges geringer ist als bei v und b. Da die korrespondierende Analyteigenschaft mit der des chromatographischen Systems multipliziert wird, haben r, s und a einen deutlich kleineren Einfluß auf die Retention der Analyten als v und b. Entscheidend für die Selektivitäten sind also nicht nur die Eigenschaften der stationären Phase, sondern auch die der Analyten. Der Achsenabschnitt c, der als einzige „Eigenschaft“ mit keiner Analyteigenschaft multipliziert wird, ist bei allen Phasen negativ, entfällt aber bei der Betrachtung von Selektivitäten.

Selektivitäten

Betrachtet man nun die in Abb. 5.7 farblich hervorgehobenen Analyten, 2-Iodphenol, m-Tolylsäure, Benzoesäure und 4-Nitrophenol, so stellt man fest, daß sie auf jeder der fünf Phasen in einer anderen Reihenfolge eluieren. Diese Tatsache, die zuvor nur qualitativ diskutiert werden konnte, kann mit Hilfe der LSER-Gleichungen nun genauer untersucht werden, da man die Beiträge jeder Wechselwirkung zum Retentionsfaktor eines Analyten

berechnen kann. Es läßt sich also genau sagen, aufgrund welcher Eigenschaft eines Analyten und einer stationären Phase die Retention verstärkt oder geschwächt wird. Die Elutionsreihenfolge mehrerer Analyten errechnen sich aus der Differenz der Retentionsfaktoren, die sich aus der Summe der fünf Wechselwirkungen (Produkt aus Eigenschaft des Analyten und der stationären Phase) und dem c-Wert ergeben. Bildet man die Differenz zweier Retentionsfaktoren, also $\log k_1 - \log k_2$, so ergibt sich Gleichung 5.7:

$$\log k_1 - \log k_2 = r(R_1 - R_2) + s(\pi_1 - \pi_2) + a(\alpha_1 - \alpha_2) + b(\beta_1 - \beta_2) + v(V_{x1} - V_{x2}) \quad \text{Gl. 5.7}$$

Die Eigenschaft der stationären/mobilen Phase ist für beide Analyten gleich, unterschiedliche Gewichtungen in den Wechselwirkungen kommen somit durch die Analyten und ihre speziellen Eigenschaften zustande. In Tabelle 5.19 sind die Elutionsreihenfolgen anhand ihrer Retentionsdifferenzen nach Gleichung 5.7 aufgeschlüsselt dargestellt und werden mit den experimentellen Ergebnissen verglichen. Man muß dabei zwei Fälle unterscheiden: a) die Systemeigenschaft ist positiv und b) sie ist negativ.

a) positive Systemeigenschaft (schwarze Zahlen)

Ein positiver Wert bei den Produkten aus den Eigenschaftsdifferenzen und den Phaseneigenschaften bedeutet dabei, daß die Differenz der Analyteigenschaft positiv ist. Der erste Analyt tritt demnach bei dieser Eigenschaft mit der stationären Phase stärker in Wechselwirkung als der zweite, womit diese Eigenschaft für Analyt 1 einen größeren positiven Beitrag zum Retentionsfaktor als für Analyt 2, und zwar um genau diesen Betrag. Ist der Wert negativ, wird der $\log k$ -Wert von Analyt 2 bei dieser Wechselwirkung mehr vergrößert als der von Analyt 1.

b) negative Systemeigenschaft (rote Zahlen)

Ist die Systemeigenschaft negativ, bedeutet ein positiver Wert, daß die Differenz der Analyteigenschaften ebenfalls negativ ist. Die Eigenschaft von Analyt 2 ist also stärker ausgeprägt als die von Analyt 1. Da die Systemeigenschaft negativ ist, wird der $\log k$ -Wert durch diese Wechselwirkung verkleinert, und zwar der von Analyt 2 mehr als der von Analyt 1. Bei einem negativen Wert ist die Differenz positiv, also die Eigenschaft von Analyt 1 stärker ausgeprägt als die von Analyt 2. In diesem Fall wird der $\log k$ -Wert von Analyt 1 mehr verringert als der von Analyt 2.

Tab.: 5.19: Beiträge der Wechselwirkungen zur Retention von vier Analyten bei 40 % Methanol auf fünf stationären Phasen, aufgeschlüsselt nach der Differenz zweier log k-Werte mit 2-Iodphenol als Bezug (rote Zahlen bedeuten eine negative Eigenschaft der stationären Phase, schwarze eine positive)

Phase	Analyt 1 – Analyt 2	$r(R_1-R_2)$	$s(\pi_1-\pi_2)$	$a(\alpha_1-\alpha_2)$	$b(\beta_1-\beta_2)$	$v(V_{x1}-V_{x2})$	$\log k_1 - \log k_2$	ber. Reihenf.	exp. Reihenf.
ODS	Iodphenol – Iodphenol	0	0	0	0	0	0	1	1
	Iodphenol – m-Tolylsäure	0,120	-0,039	0,023	0,061	-0,116	0,049	2	2
	Iodphenol – Benzoessäure	0,120	-0,039	0,023	0,102	0,292	0,497	3	3
	Iodphenol – 4-Nitrophenol	0,055	0,281	-0,042	0,041	0,243	0,577	4	4
ODS- 50µm	Iodphenol – Iodphenol	0	0	0	0	0	0	1	1
	Iodphenol – m-Tolylsäure	0,095	-0,048	0,097	0,073	-0,119	0,097	2	3
	Iodphenol – Benzoessäure	0,095	-0,048	0,097	0,122	0,301	0,566	4	2
	Iodphenol – 4-Nitrophenol	0,044	0,346	-0,179	0,049	0,250	0,510	3	4
PoEt	Iodphenol – Iodphenol	0	0	0	0	0	0	2	2
	Iodphenol – m-Tolylsäure	-0,025	-0,009	0,034	0,022	-0,043	-0,021	1	1
	Iodphenol – Benzoessäure	-0,025	-0,009	0,034	0,037	0,109	0,146	4	3
	Iodphenol – 4-Nitrophenol	-0,012	0,065	-0,063	0,015	0,091	0,096	3	4
PBS	Iodphenol – Iodphenol	0	0	0	0	0	0	1	1
	Iodphenol – m-Tolylsäure	0,101	-0,004	0,055	0,044	-0,084	0,113	2	2
	Iodphenol – Benzoessäure	0,101	-0,004	0,055	0,074	0,211	0,437	4	4
	Iodphenol – 4-Nitrophenol	0,046	0,029	-0,102	0,030	0,176	0,179	3	3
PBSO	Iodphenol – Iodphenol	0	0	0	0	0	0	1	1
	Iodphenol – m-Tolylsäure	0,340	-0,014	-0,011	0,053	-0,072	0,296	2	3
	Iodphenol – Benzoessäure	0,340	-0,014	-0,011	0,089	0,182	0,586	4	4
	Iodphenol – 4-Nitrophenol	0,157	0,101	0,021	0,036	0,151	0,465	3	2

Demnach bedeuten positive Werte immer eine stärkere Vergrößerung bzw. geringere Verkleinerung des log k-Wertes von Analyt 1, dem Bezugsanalyten, während negative den log k-Wert von Analyt 2 mehr vergrößern bzw. weniger verringern.

Als Bezugsanalyt, also Analyt 1, wird auf allen fünf Phasen 2-Iodphenol verwendet, da es in den experimentellen Ergebnissen auf vier der fünf Phasen den größten Retentionsfaktor hat. Bei der berechneten und experimentellen Reihenfolge werden die Analyten nach kleiner werdenden Retentionsfaktoren sortiert. Die Nummer bei den Reihenfolgen bezieht sich immer auf den fett gedruckten Analyten in Spalte zwei der Tabelle 5.19.

ODS-5 μ m-Phase

Auf dieser Phase stimmt die berechnete Elutionsreihenfolge mit der experimentellen exakt überein. 2-Iodphenol eluiert kurz nach m-Tolylsäure, da der log k-Wert von 2-Iodphenol bei der Polarisierbarkeit r , der Acidität b und der Basizität a gegenüber dem von m-Tolylsäure mehr verstärkt wird. Benzoesäure und 4-Nitrophenol werden vor allem aufgrund ihrer kleinen Molekülgröße, was sich im stark positiven $v\Delta V_x$ -Term äußert, gegenüber 2-Iodphenol und m-Tolylsäure weniger stark retardiert. Die Molekülgröße spielt vor allem bei der Trennung von Benzoe- und m-Tolylsäure eine große Rolle, da sie in allen anderen Eigenschaften praktisch identische Werte haben. 4-Nitrophenol eluiert sehr früh, da es gegenüber den anderen vor allem aufgrund seiner ausgeprägten Dipolarität π eine Verringerung des log k-Wertes erfährt. Generell werden auf dieser Phase große, unpolare Moleküle mit einer möglichst kleinen Dipolarität π verhältnismäßig stärker retardiert als kleine polare Moleküle.

ODS-50 μ m-Phase

Auf dieser stationären Phase, dem SPE-Material, stimmt die berechnete mit der experimentellen Elutionsreihenfolge fast gar nicht überein. Nur Iodphenol hat in beiden Fällen die längste Retentionszeit. Da es sich um ein ODS-Material handelt, müßten eigentlich die gleichen Eigenschaftsverhältnisse wie auf dem HPLC-Material vorhanden sein. Über die Klassifizierung der Phasen konnte gezeigt werden, daß dieses Material die gleichen polaren Eigenschaften besitzt wie alle anderen ODS-Materialien. Dennoch zeigen sich hier ganz andere Elutionsreihenfolgen. Eine Ursache können die freien Silanolgruppen des Materials sein, da es nicht endcapped wurde. Diese können über die Phaseneigenschaften nicht nachgewiesen werden, scheinen aber für kleine, acide Moleküle eine große Rolle zu spielen, da Benzoesäure den zweitgrößten Retentionsfaktor besitzt und nach der Berechnung eigentlich als erstes von der Säule eluieren sollte. Die Ergebnisse für diese Phase zeigen, daß das Modell nicht alle Wechselwirkungen berücksichtigt, die die Retention eines Analyten beeinflussen.

PoEt-Phase

Auf dieser Phase stimmt die berechnete mit der experimentellen Elutionsreihenfolge für 2-Iodphenol und m-Tolylsäure überein. Benzoessäure und 4-Nitrophenol sind in Experiment und Vorhersage vertauscht. Da alle Retentionszeiten auf dieser Phase sehr kurz sind, sollte man kleine Unterschiede nicht überinterpretieren. Dennoch eluieren Benzoessäure und 4-Nitrophenol mit einem Abstand im Retentionsfaktor von 0,108 ($k_{\text{Benzoessäure}} = 0,574$, $k_{\text{4-Nitrophenol}} = 0,466$). Nimmt man ein t_0 von 1,5 Minuten an, so entspricht dies einer zeitlichen Differenz von 0,162 Minuten, also 9,7 Sekunden. Der Unterschied ist recht groß und sollte vom Modell berechenbar sein. Die Differenz in der Retentionszeit zwischen m-Tolylsäure und 2-Iodphenol beträgt lediglich 5,4 Sekunden und die Berechnung der Reihenfolge durch das LSER-Modell hat zum korrekten Ergebnis geführt. Scheinbar gibt es auch hier Wechselwirkungen, die vom LSER-Modell nicht berücksichtigt werden.

Besonders hervorzuheben ist die relativ gesehen größte Retentionszeit von m-Tolylsäure, das gegenüber 2-Iodphenol auf dieser Phase bei der Polarisierbarkeit, Dipolarität und der Molekülgröße Vorteile bezüglich eines großen log k-Wertes hat. Da die PoEt-Phase über eine negative Polarisierbarkeit verfügt, werden Analyten mit einer geringen Polarisierbarkeit stärker retardiert. Auf dieser Phase ist lediglich der Cavity-Term positiv, wodurch vor allem große unpolare Moleküle retardiert werden, obwohl durch das Einfügen von polaren Einheiten eigentlich genau das Gegenteil bezweckt worden war.

PBS-Phase

Die berechnete Elutionsreihenfolge ist mit der experimentellen auf dieser Phase identisch. Im Vergleich zur ODS-Phase eluiert hier 4-Nitrophenol nach der Benzoessäure, wird also länger retardiert. Die Ursache dafür ist vor allem die deutlich größere Dipolarität s (-0,04) und die geringere Basizität a (-0,29) der PBS-Phase gegenüber der ODS-Phase. Durch den größeren Wert bei der Dipolarität ist der $s\Delta\pi$ Wert nicht so groß, und die Differenz zwischen Benzoessäure und 4-Nitrophenol beträgt bei dieser Wechselwirkung statt 0,320 nur 0,033. Bei der Basizität beträgt die Differenz auf der PBS-Phase 0,157 zugunsten von 4-Nitrophenol und auf der ODS-Phase lediglich 0,065. Demnach werden auf dieser Phase Moleküle mit großer Polarisierbarkeit und Dipolarität aber geringer Acidität relativ stärker retardiert. Die Molekülgröße spielt auf dieser Phase eine nicht ganz so dominante Rolle wie auf der ODS-Phase. Die Differenz im vV_x -Term zwischen m-Tolylsäure und Benzoessäure beträgt auf der ODS-Phase 0,408, auf der PBS-Phase nur 0,295. Letztere besitzt also aufgrund ihrer Dipolarität, die durch die Phenylbutanosulfid-Gruppe zustande kommt, deutlich mehr Möglichkeiten zur Wechselwirkung über polare Eigenschaften als die ODS-Phase.

PBSO-Phase

Auf dieser Phase stimmt die berechnete mit der experimentellen Elutionsreihenfolge nicht ganz überein. Nach den berechneten Retentionsfaktoren müßte 4-Nitrophenol vor m-Tolylsäure eluieren, kann experimentell aber nicht bestätigt werden, denn sie eluieren genau anders herum. Die experimentellen Ergebnisse bestätigen aber die Tendenz, daß 2-Iodphenol auf dieser Phase im Verhältnis zu den anderen drei Analyten deutlich stärker retardiert wird als auf der nicht oxidierten PBS-Phase. Die Ursache ist die sehr große Polarisierbarkeit r der PBSO-Phase, die mit der Polarisierbarkeit R_2 von 2-Iodphenol (1,36) sehr stark wechselwirkt. Die Dominanz des Cavity-Terms ist auf dieser Phase noch mehr geschwächt, da die Differenz im vV_x Term zwischen m-Tolylsäure und Benzoesäure hier nur 0,254 beträgt. Demnach sind auf dieser polaren Phase die entscheidenden Faktor für die Elutionsreihenfolge nicht mehr nur die Molekülgröße, sondern auch die polaren Eigenschaften des Analyten.

5.5.2.7 Zusammenfassung

In diesem Kapitel konnte über die quantitative Analyse, die zu einer Klassifizierung von stationären Phasen anhand ihrer polaren Eigenschaften führt, gezeigt werden, daß chemisch äquivalente Phasen die gleichen normalisierten Eigenschaften r/v , s/v , a/v und b/v besitzen. Letztere sind jedoch keine Konstanten, da sie ebenso wie die nicht-normalisierten Systemeigenschaften eine Abhängigkeit von der Polarität des Laufmittels aufweisen. Es ist deshalb sinnvoll, sie immer unter Angabe des Laufmittels zu benennen. Eine Klassifizierung bei 50 % Methanol der hier untersuchten und der aus der Literatur bekannten Phasen ergibt eine Einteilung in drei Gruppen bei der Polarisierbarkeit r/v und Acidität b/v und in zwei Gruppen bei der Dipolarität s/v . Die ODS-Phasen, davon zwei aus dieser Arbeit, befinden sich bis auf eine Ausnahme in einer Klasse stationärer Phasen. Für die Basizität a/v wird keine Einteilung in Gruppen vorgenommen, da keine signifikanten Unterschiede zu erkennen sind. Auffällig in ihrer Polarisierbarkeit r/v und ihrer Acidität b/v ist die PBSO-Phase. Mit einem r/v -Wert von 0,37 bei 50 % Methanol bildet sie eine einzelne Gruppe stationärer Phasen. Bei der Basizität befindet sie sich mit $b/v = -1,12$ in einer Gruppe mit einer Cyano-propylphase und einem Polystyrenmaterial.

Eine Charakterisierung der Phasen anhand ihrer „intrinsischen“ (inneren) Hydrophobizität IH ist nach diesen Ergebnissen nicht möglich. Ebenso wie die Phaseneigenschaften zeigt der Quotient $(c + v)/A$ eine starke Abhängigkeit von der mobilen Phase. *Abraham et al.* gehen jedoch davon aus, daß chemisch gleiche stationäre Phasen auch die gleiche IH besitzen und diese nicht laufmittelabhängig ist. Er gibt für ODS-Phasen eine mittlere IH von 0,50

(Stabw.: 0,12) an. Die IH der hier untersuchten ODS-5 μ m-Phase steigt zwischen 80 und 15 % Methanol von 0,1 auf 1,32 und hat bei 40 % eine IH von 0,79. Der IH-Wert der ODS-50 μ m-Phase beträgt bei diesem Laufmittel 1,53. Aufgrund dieser Streuung wird von einer Klassifizierung von stationären Phasen über ihre „intrinsische“ Hydrophobizität abgesehen.

Es läßt sich aber sehr wohl eine Aussage über die Polarität einer stationären Phase anhand der Steigung und der absoluten Werte der IH machen. Eine große Steigung bedeutet, daß die stationäre Phase zunehmend weniger solvatisiert wird und die Struktur der Liganden eventuell sogar zusammenbricht, während eine flache Steigung für einen hohen Solvatisierungsgrad der Phase und somit für ein polares Material spricht.

Anhand der LSER-Gleichungen lassen sich die Elutionsreihenfolgen der Analyten auf den Phasen berechnen und man erhält exakt Auskunft über den Beitrag jeder einzelnen Wechselwirkung zur Retention eines Analyten. Durch Bildung der Differenzen der log k-Werte lassen sich Unterschiede in den Retentionszeiten anhand der Unterschiede in den einzelnen Wechselwirkungen erklären. Mit steigender Polarität der stationären Phase verschiebt sich die Dominanz der retentionsbeeinflussenden Eigenschaften zu den polaren Wechselwirkungen wie Polarisierbarkeit und Dipolarität.

5.6 Vorhersage chromatographischer Trennung acider Analyten und experimentelle Überprüfung

Nach der Charakterisierung der vier HPLC-Phasen und Bestimmung ihrer LSER-Gleichungen über einen großen Laufmittelbereich sollte es prinzipiell möglich sein, chromatographische Trennungen unter isokratischen Bedingungen von Analyten mit bekannten Eigenschaften zu berechnen. Die Möglichkeit, ein chromatographisches Trennproblem, Wahl der stationären und mobilen Phase, durch Berechnung und nicht durch trial and error zu lösen, würde dem Analytiker viel Zeit und Aufwand sparen. Für die Überprüfung der Leistungsfähigkeit des LSER-Modells und der Genauigkeit der Charakterisierung der vier HPLC-Phasen werden fünf Phenole ausgewählt und deren log k-Werte auf den vier Phasen bei verschiedenen Laufmitteln berechnet. Für die Berechnung sind die Eigenschaften der fünf Analyten Tabelle 5.2 zu entnehmen, die der stationären Phasen bei den angegebenen Laufmitteln befinden sich im Anhang. In der folgenden Tabelle 5.20 sind die berechneten und experimentellen log k-Werte, so sie meßbar waren, dargestellt. Die tiefgestellte Prozentangabe bezieht sich auf den Methanolanteil im Laufmittel. Zugunsten der besseren Übersicht werden nur die interessantesten Laufmittelzusammensetzungen aufgeführt.

Tab. 5.20: Vergleich zwischen berechneten und experimentellen log k-Werten von fünf Phenolen auf vier HPLC Phasen bei verschiedenen Laufmitteln

Analyt	berechnete log k				experimentelle log k		
	ODS _{50%}	PoEt _{15%}	PBS _{40%}	PBSO _{15%}	ODS _{50%}	PoEt _{15%}	PBS _{40%}
Phenol	0,11	-0,43	0,05	0,40	0,18	-0,37	0,41
2-Methoxyphenol	0,23	-0,14	0,26	0,45	0,18	-0,22	0,55
2-Methylphenol	0,48	-0,11	0,38	0,83	0,56	-0,22	0,74
2-Chlorphenol	0,44	-0,11	0,38	0,73	0,55	-0,12	0,82
2-Nitrophenol	0,47	-0,05	0,50	0,79	0,53	-0,06	1,01

Bei einem Unterschied im log k-Wert von mindestens 0,1 wird davon ausgegangen, daß die beiden Analyten basisliniengetrennt sind. In Tabelle 5.19 sind die nach den berechneten log k-Werten zu erwartenden Koelutionen grau unterlegt. Demnach ist eine Trennung der fünf Phenole auf keiner Phase bei den ausgewählten mobilen Phasen möglich. Auf der ODS-Phase bei 50 % Methanol sollten Phenol und 2-Methoxyphenol vollständig aufgelöst sein, während die anderen drei Phenole komplett koelutieren. Auf der PoEt-Phase bei 15 % Methanol ist die Koelution von drei Analyten zu erwarten, auf der PBS-Phase bei 40 % ist lediglich ein Analytpaar nicht aufgelöst. Auf der PBSO-Phase bei 15 % Methanol gibt es zwei Paare von Phenolen, die koelutieren. Nach diesen Ergebnissen ist die PBS-Phase bei 40 % Methanol das für dieses Problem geeignetste chromatographische System. Für die Überprüfung dieser Vorhersage werden die fünf Analyten zum einen auf der ODS-Phase bei 50 % und zum anderen auf der PBS-Phase bei 40 % Methanol getrennt. Dafür wird eine Stammlösung der fünf Phenole in Methanol mit einer Konzentration von ca. 1000 ng/μL jedes Analyten angesetzt. Für die Injektion wird die Stammlösung 1:200 verdünnt und von der Injektionslösung, $c = 5 \text{ ng}/\mu\text{L}$, werden 20 μL über eine Probenschleife injiziert. Die Chromatogramme des Phenolgemisches sind in Abbildung 5.18 dargestellt.

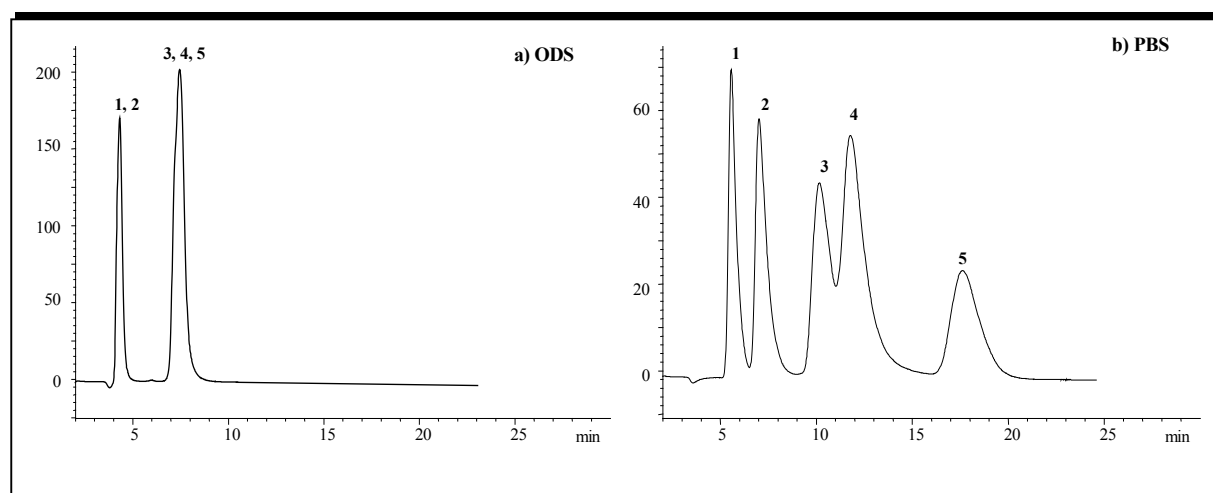


Abb. 5.18: Chromatogramme von fünf Phenolen auf der **a) ODS-Phase** bei 50/50 Methanol/Phosphatpuffer (pH2) und **b) PBS-Phase** bei 40/60 Methanol/Phosphatpuffer (pH 2); 1 = Phenol, 2 = 2-Methoxyphenol, 3 = 2-Methylphenol, 4 = 2-Chlorphenol, 5 = 2-Nitrophenol

Sie zeigen in erster Näherung das zuvor berechnete Trennverhalten. Auf der ODS-Phase koeluieren 2-Methyl-, 2-Chlor- und 2-Nitrophenol vollständig, was auch vorausgesagt wurde. Phenol und 2-Methoxyphenol hingegen sind abweichend von der Berechnung ebenfalls nicht getrennt. Bei der PBS-Phase gibt es Abweichungen bezüglich der Trennung von 2-Methyl- und 2-Chlorphenol, die halb aufgetrennt sind, laut Vorhersage aber komplett koeluieren müßten.

Wie schon in Kapitel 5.5.2.6 demonstriert wurde, kann das LSER-Modell sehr feine Unterschiede im Trennverhalten nicht vorhersagen, da einige Wechselwirkungen zwischen Analyt und dem chromatographischen System nicht berücksichtigt werden. Dieses konnte besonders gut an der ODS-50 μ m-Phase demonstriert werden, da die berechnete mit der experimentellen Elutionsreihenfolge praktisch nicht übereinstimmte (vergl. Tab. 5.18). Des weiteren entstammen die Eigenschaften der stationären Phase bei einem vorgegeben Laufmittel einer multiplen linearen Regression. Man arbeitet also mit gemittelten Werten, die dann für die Vorhersage sehr feiner Unterschiede zu ungenau sind.

Zwei weitere Faktoren läßt das Modell unberücksichtigt: die Qualität der Säulenpackung und die Kinetik der Gleichgewichtseinstellung des Verteilungsgleichgewichtes. Beides sind die Peakform beeinflussende Faktoren, ohne deren Kenntnis man nicht vorhersagen kann, ob zwei Analyten bei einer vorgegeben Auflösung, also bei welchem Verhältnis der Retentionsfaktoren, getrennt werden. Die Peaks auf der PBS-Phase sind deutlich breiter, als die auf der ODS-Phase, wodurch 2-Methyl- und 2-Chlorphenol auf der PBS-Phase nicht getrennt werden, obwohl sie einen $\Delta \log k$ -Wert von 0,08 haben.

Obwohl diese fünf Analyten verwendet wurden, um die Phasen zu charakterisieren, kommt es im Experiment zu Abweichungen von der Vorhersage bezüglich der Auflösung von Analyten. Auch wenn die Systemeigenschaften analytunabhängig sein sollten, ist davon auszugehen, daß es bei der Verwendung anderer Analyten zu noch gravierenderen Unterschieden kommt. Dennoch zeigt dieser Versuch sehr eindrucksvoll, daß ein großer Teil des chromatographischen Prozesses schon bekannt ist und vorhergesagt werden kann. Zur Zeit ist die Anwendung noch auf isokratische Systeme beschränkt, aber es gibt bereits Ansätze, die sich mit Gradientensystemen auseinandersetzen [112] und es existieren auch schon Computerprogramme für die Optimierung chromatographischer Trennungen. [141] Das LSER-Modell kann ein hilfreiches Werkzeug für die schnellere Lösung chromatographischer Trennprobleme sein, kann das Experiment zur Zeit jedoch noch nicht ersetzen.

5.7 Zusammenfassung

In diesem Kapitel geht es um die Charakterisierung von fünf Festphasenmaterialien auf Kieselgelbasis. Von den fünf Phasen werden vier in der HPLC und eines in der SPE eingesetzt. Es handelt sich dabei um oberflächenmodifizierte Kieselgele, die sehr unterschiedliche Liganden besitzen: zwei aliphatische C₁₈-Phasen, eine aliphatische Polyetherphase, eine aromatische Phenylbutanosulfid- und eine Phenylbutanosulfoxidphase.

Für die Charakterisierung dieser Materialien werden die Retentionsfaktoren von 20 polaren aromatischen Analyten, deren Analytdeskriptoren für die LSER-Gleichung bekannt sind, isokratisch bei verschiedenen Zusammensetzung der mobilen Phase Methanol/Wasser mit dem pH-Wert von 2 bestimmt. Die SPE-Phase wird nur bei 40 % Methanol untersucht. Durch die Betrachtung der Elutionsreihenfolgen der Analyten auf diesen fünf Phasen ist es möglich, eine sehr grobe, qualitative Einteilung der Phasen bezüglich ihrer chemisch-physikalischen Eigenschaften durchzuführen.

Für eine Untersuchung der Phasen über einen größeren Polaritätsbereich, werden die zwischen 80 und 40 % Methanol bestimmten Retentionsfaktoren einer quadratischen Extrapolation unterzogen, wodurch auch Retentionsfaktoren bei Laufmitteln mit hohen Wasseranteilen, die experimentell nicht zugänglich sind, bestimmt werden können. Anhand der Polyetherphase, die sich durch geringe Retentionskraft auszeichnet, werden die über eine quadratische Regression extrapolierten Retentionsfaktoren bei 15 und 20 % Methanol mit experimentell bestimmten verglichen. Durch die sehr gute Übereinstimmung zwischen den berechneten und gemessenen Werten, die mittlere Standardabweichungen betragen 3,5 und 4,3 %, kann für die Polyetherphase eindeutig eine quadratische Abhängigkeit der log k-Werte von der Laufmittelzusammensetzung nachgewiesen werden.

Die multiple lineare Regressionen der LSER-Gleichung nach *Abraham* ergeben für alle vier HPLC-Phasen über den gesamten Polaritätsbereich (80 bis 15 % Methanol) relativ gute Regressionskonstanten zwischen 0,980 und 0,995 und Standardabweichungen für den berechneten Retentionsfaktor zwischen 4 und 25 %, ein für die Flüssigchromatographie gutes Ergebnis. Alle fünf Phaseneigenschaften, der Achsenabschnitt c, die Polarisierbarkeit r, die Basizität a, die Acidität b und der Cavity-Term v zeigen eine leichte bis starke Abhängigkeit von der Laufmittelzusammensetzung. Besonders v und b werden stark beeinflusst, wobei v mit zunehmendem Wasseranteil positiver und b negativer wird. Die Polarisierbarkeit r und der Cavity-Term v sind die einzigen, die Retention verstärkenden Eigenschaften. Die anderen sind negativ, wodurch die Retention der Analyten verringert wird, da die Eigenschaft der mobilen Phase größer ist als die der stationären.

Die Wertentwicklung der fünf Eigenschaften ist bei allen vier HPLC-Phasen prinzipiell gleich. Unterschiede sind vor allem in der Ausprägung der Eigenschaften zu beobachten. Der v -Wert wird in der Reihenfolge ODS > PBS > PBSO > PoEt kleiner, dafür besitzt die PBSO-Phase die größte Polarisierbarkeit. Für eine direkte Vergleichbarkeit werden die Eigenschaften aber zuvor auf $v = 1$ normiert. Über die sogenannten normalisierten Phaseneigenschaften erfolgt eine Klassifizierung der Materialien, für die noch weitere, literaturbekannte Phasen herangezogen werden. Bei der normalisierten Polarisierbarkeit und Acidität lassen sich drei und bei der Dipolarität zwei Klassen von Phasen unterscheiden. Die normalisierte Basizität ergibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Materialien. Die beiden untersuchten sowie weitere ODS-Phasen befinden sich stets in einer Gruppe. Die PBSO-Phase zeichnet sich durch eine deutlich größere normalisierte Polarisierbarkeit als die ODS-Phasen aus, besitzt aber auch eine auffallend kleinere normalisierte Acidität.

Es konnte auch gezeigt werden, daß eine in der Literatur vorgeschlagene Charakterisierung über die „intrinsische“ (innere) Hydrophobizität, dem Quotienten $(c + v)/\text{Belegung}$, nicht durchgeführt werden kann. Die zwei untersuchten und weitere ODS-Phasen besitzen deutlich unterschiedliche „intrinsische“ Hydrophobizitäten, die zudem lafmittelabhängig sind.

Über die LSER-Gleichungen der fünf stationären Phasen lassen sich Unterschiede in der Elutionsreihenfolge von Analyten begründen und quantifizieren. Die berechneten und experimentellen Ergebnisse zeigen sehr gute Übereinstimmung, wodurch die Praktikabilität des LSER-Modells demonstriert werden kann. Es zeigt lediglich bei der Berechnung von chromatographischen Trennungen Schwächen, da es die Auflösung von Analyten auf stationären Phasen, die sehr unterschiedlich sein kann, nicht berücksichtigt.

6 Festphasenmaterialien auf Polystyrenbasis

Die in diesem Kapitel untersuchten und charakterisierten Festphasenmaterialien sind stationäre Phasen auf Polystyren-divinylbenzen-basis. Es handelt sich dabei um Materialien, die hauptsächlich in der SPE für die Extraktion von Analyten unterschiedlichster Polarität aus vornehmlich wäßrigen Medien (Blutplasma, Blutserum, Urin, Trinkwasser, Abwasser, etc.) eingesetzt werden. Die Effektivität der Extraktion hängt dabei zu einem großen Teil von den Eigenschaften der stationären Phase und denen des Analyten ab. Dabei stellt die Extraktion polarer organischer Stoffe ein großes Problem dar, da die gute Wasserlöslichkeit der Analyten eine effektive Extraktion erschwert.

Im Laufe der letzten Jahre wurden viele neue Materialien entwickelt und auf die Problematik der polaren Analyten hin getestet. Dabei haben sich Festphasenmaterialien auf Polystyrenbasis, auch als „Harze“ bekannt, als besonders effizient erwiesen. Sie sind heute Standardmaterialien für die Extraktion polarer Analyten. Aber obwohl diese Materialien sehr häufig zum Einsatz kommen, ist relativ wenig über die Wechselwirkungen zwischen Analyt und stationärer Phase bekannt.

In diesem Kapitel werden 13 Polystyrenmaterialien vorgestellt und anhand ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften charakterisiert. Dabei unterscheiden sich zwölf der Materialien nur durch eine unterschiedliche Substitution, das Polystyrenmaterial ist jeweils das gleiche. Die Substituenten sind funktionelle Gruppen unterschiedlicher Polarität, die die Wechselwirkungen zwischen Analyt und stationärer Phase verstärken sollen. Das 13. Harz ist ein kommerziell erhältliches, das aber ebenfalls substituiert ist. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der 13 Harze werden anhand des LSER-Modells analysiert. Die Kenntnis der numerischen Phaseneigenschaften wird dann genutzt, um Vorhersagen über besonders geeignete Materialien für die Extraktion acider und basischer Verbindungen zu machen. Die Vorhersagen werden dann in Extraktionsexperimenten zur Bestimmung von Wiederfindungsraten überprüft.

6.1 Übersicht über die Verfahrensweise

Die Verfahrensweise dieses Kapitels ähnelt der von Kapitel 5, enthält aber auch grundlegende Unterschiede. Die 13 Harze werden nicht nur unter aciden Bedingungen, sondern auch unter basischen untersucht. Dafür wird auf eine Untersuchung der Lösungsmittelabhängigkeit verzichtet. Aufgrund der großen Anzahl der Materialien ist es möglich, eine Clusteranalyse durchzuführen und die Ergebnisse mit denen der LSER-Gleichungen zu vergleichen. Der Vergleich zwischen einem entwickelten Modell, dem LSER-Modell nach *Abraham*, und einer

chemometrischen Methode kann Aufschluß über die Funktionalität des Modells geben. Bei den LSERs werden direkt fünf Eigenschaften vorgegeben und mit den Retentionsdaten korreliert, während bei der Clusteranalyse lediglich Ähnlichkeiten zwischen den Harzen anhand der Retentionsdaten ermittelt werden. Die Ähnlichkeiten werden in Form eines sogenannten Dendrogramms ausgedrückt. In der Abbildung 6.1 ist ein Fließschema über die Struktur dieses Kapitels dargestellt.

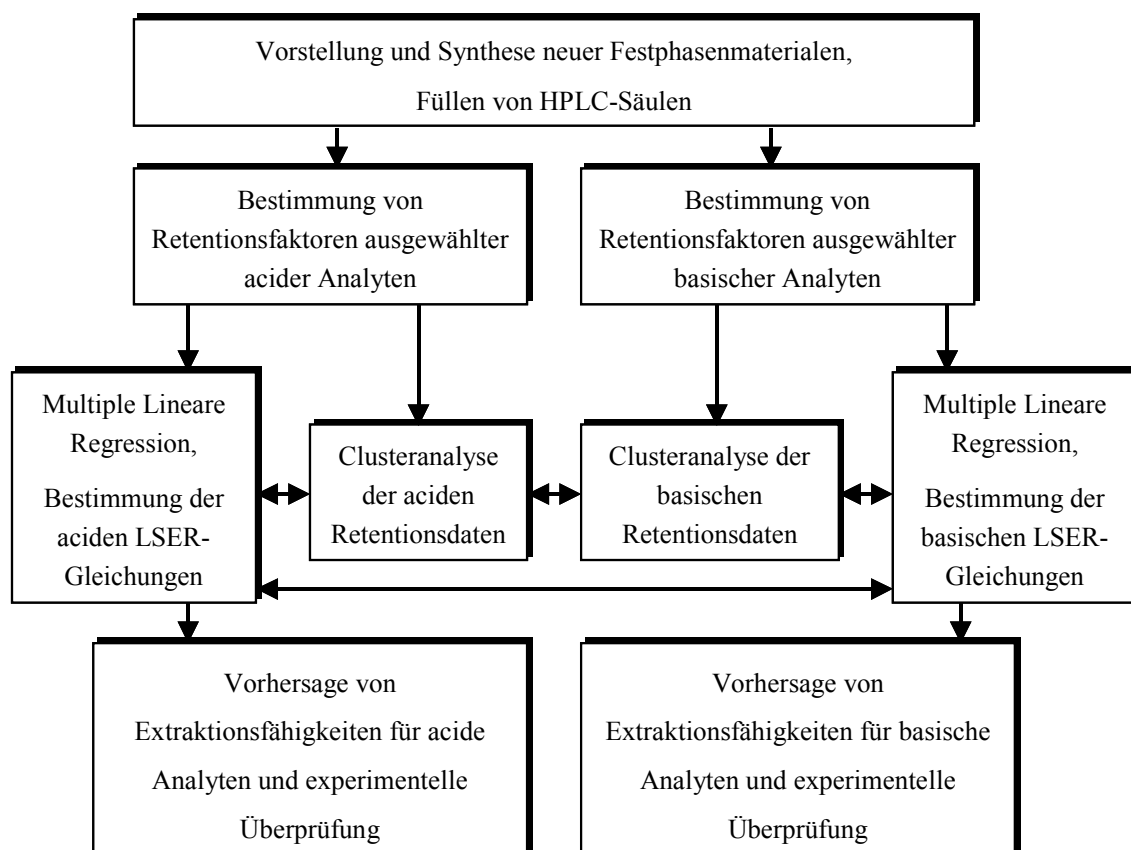


Abb. 6.1: Verfahrensweise zur Untersuchung und Charakterisierung von Festphasenmaterialien auf Polystyren-divinylbenzen-basis

Zu Beginn werden die verwendeten Polystyrenmaterialien vorgestellt. Zwei der Harze sind kommerziell erhältlich. Bei einem handelt es sich um reines Polystyren-divinylbenzen, das auch als Grundlage für die Synthesen der anderen Harze verwendet wird. Das andere ist ein in der SPE etabliertes substituiertes Harz. Die Materialien werden in HPLC-Säulen gefüllt und konditioniert. Im Anschluß erfolgt die Bestimmung von Retentionsfaktoren ausgewählter basischer und acider Analyten bei einem Laufmittel, Methanol/Phosphatpuffer (pH 2 oder 9) (70:30). Aus diesem Datensatz wird die multiple lineare Regression zur Bestimmung der jeweiligen LSER-Gleichung durchgeführt. Für die Regression müssen die Analyteigenschaften bekannt sein. Ebenfalls aus dem Retentionsfaktorendatensatz erfolgt die Durchführung der

Clusteranalyse. Die basischen und aciden Datensätze werden dabei stets miteinander verglichen und die Unterschiede diskutiert. Aus den LSER-Gleichungen werden dann Retentionsfaktoren ausgewählter basischer und acider Analyten berechnet, und aus den Ergebnissen wird eine Vorhersage über die Extraktionsfähigkeiten der Harze gemacht. Diese Vorhersage wird im Experiment überprüft.

6.2 Vorstellung und Synthese der verwendeten Festphasenmaterialien

In diesem Kapitel werden die zur Charakterisierung verwendeten Harze vorgestellt. Eine Abbildung der Harze befindet sich im Anhang. Da sich die Synthesen der meisten Harze sehr ähneln, wird zuvor die grundlegende Synthese, eine Friedel-Crafts-Acylierung, vorgestellt.

6.2.1 Die Friedel-Crafts-Acylierung

Bei dieser Synthese handelt es sich um eine elektrophile aromatische Substitution durch Carbonylverbindungen. Die hier eingesetzten Carbonsäurechloride sind starke Lewis-Säuren und deshalb zur elektrophilen Substitution befähigt. [142] Das Reaktionsschema der Reaktion ist in Abbildung 6.2 dargestellt.

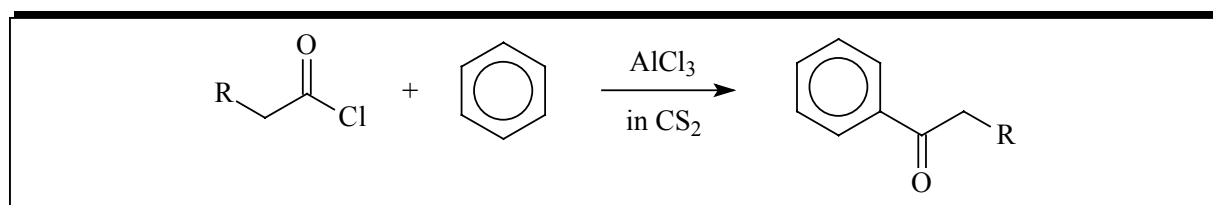


Abb.6.2: Reaktionsschema der Friedel-Crafts-Acylierung

Arbeitsvorschrift [142]

In einem Dreihalskolben versehen mit Rührer, Tropftrichter und Rückflußkühler mit Calciumchloridrohr werden 10 mmol Aromat (ca. 1 g Harz) und 30 mmol wasserfreies Aluminiumchlorid in 7 mL Schwefelkohlenstoff vorgelegt. Unter Eiskühlung werden langsam 50 mmol eines Säurechlorids zugetropft. Nach Beendigung der heftigen Reaktion wird die Suspension 12 h bei 45 °C erhitzt. Zur Aufarbeitung wird das Gemisch in Eiswasser gegeben und nach Hydrolyse des Aluminiumchlorids wird das Harz über einer Glasfritte abgesaugt. Nach dem Waschen mit Wasser, Ethanol, Aceton, Wasser und wieder Aceton wird das Harz 24 h bei 120 °C getrocknet. Zur Bestimmung der Reaktionsrate wird eine Elementaranalyse durchgeführt und zur Überprüfung des Reaktionsweges ein Infrarot-Drift-Spektrum (IR-Drift) aufgenommen.

6.2.2 Isolute® ENV+ (ENV+)

ENV+ ist ein hochkapazitives Polymermaterial für die SPE. Es besitzt eine hochquervernetzte hydroxylierte Polystyren-divinylbenzen-Copolymer-Struktur. [143] Sie ist in Abbildung 6.3 schematisch dargestellt.

Das orange-braune Material zeichnet sich durch eine Partikelgröße von 40-150 µm und einer Oberfläche von ca. 1000 m²/g aus. Die Porenweite beträgt 800 Å.

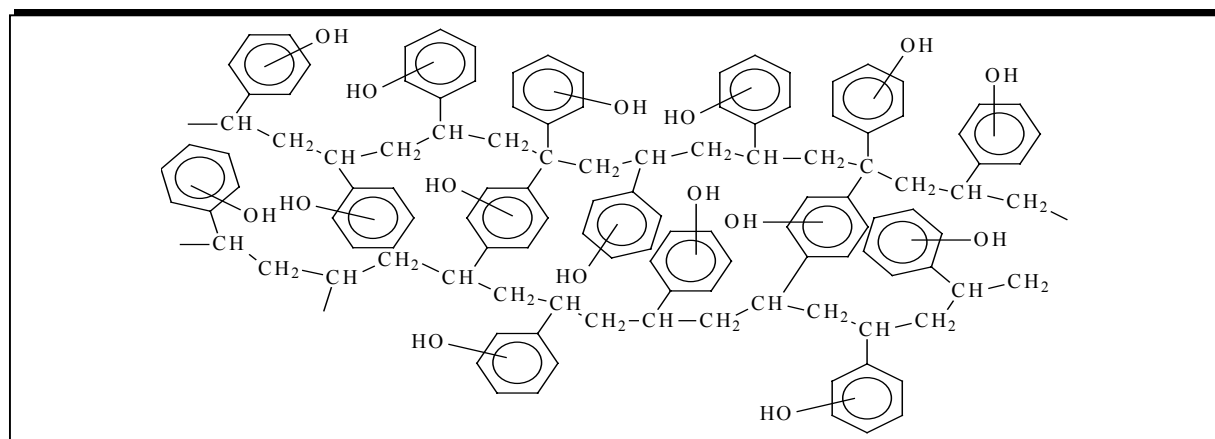


Abb. 6.3: Struktur von ISOLUTE® ENV+ [143]

Eine Elementaranalyse und ein IR-Drift-Spektrum ergeben folgendes Ergebnis (Tab. 6.1):

Tab. 6.1: Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von ENV+

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Differenz zu 100 % [%] = O-Gehalt	Belegung [mmol -OH/g]
84,6 ± 0,3	7,0 ± 0,3	8,4 ± 0,6	5,3 ± 0,4
IR-Drift-Spektrum			
ν = 3576 (-O-H Valenzschw.); 3017-2922 (CH ₂ , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 1900, 1705 (aromat. Ober- und Kombinationsschwingungen); 1606, 1574, 1509 (aromat. C=C Valenzschw.); 1450 (CH ₂ Deformationsschw.); 816, 702 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm ⁻¹			

Das Ergebnis der Elementaranalyse zeigt, daß nur ca. jeder zweite aromatische Ring substituiert vorliegt, da 1 g Polystyren ca. 10 mmol aromatische Ringe enthält.

In Abbildung 6.4 ist das IR-Drift-Spektrum von ENV+ dargestellt. Die Bande der Hydroxylvalenzschwingung bei 3576 cm⁻¹ ist sehr deutlich zu erkennen.

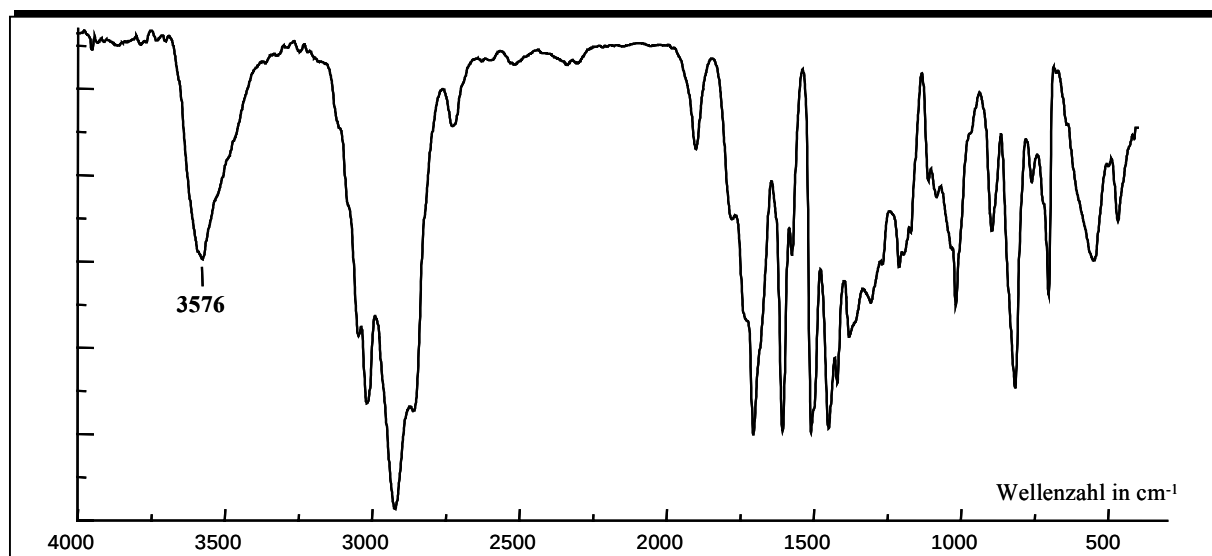


Abb. 6.4: IR-Drift-Spektrum von ISOLUTE® ENV+

6.2.3 Amberchrom® CG 161c (AC)

Amberchrom® CG 161c (AC) ist ein hochvernetztes Styren-Divinylbenzen Copolymer von Supelco, Bellefonte, PA. Es besitzt eine Oberfläche von 930 m²/g und zeichnet sich durch eine Partikelgröße von 80-160 µm aus. Seine Porengröße variiert zwischen 20 und 300 Ångström. [144] Die Ergebnisse der Elementaranalyse und des IR-Driftspektrums sind in Tabelle 6.2 zusammengefaßt.

Tab. 6.2: Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Differenz zu 100 % [%]
90,7 ± 0,3	8,8 ± 0,3	0,5 ± 0,6
IR-Drift-Spektrum		
$\nu = 3088-2854$ (CH ₂ , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 1931, 1899, 1864, 1811, 1702 (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); 1630, 1602, 1510 (aromat. C=C Valenzschw.); 1486, 1446, 1408 (CH ₂ Deformationsschw.); 904, 832, 794, 708 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm ⁻¹		

In Abbildung 6.5 ist das IR-Drift-Spektrum von Amberchrom® CG 161c, das als Basismaterial für alle weiteren Harze dient, dargestellt. Man erkennt, daß keine funktionellen Gruppen vorhanden sind.

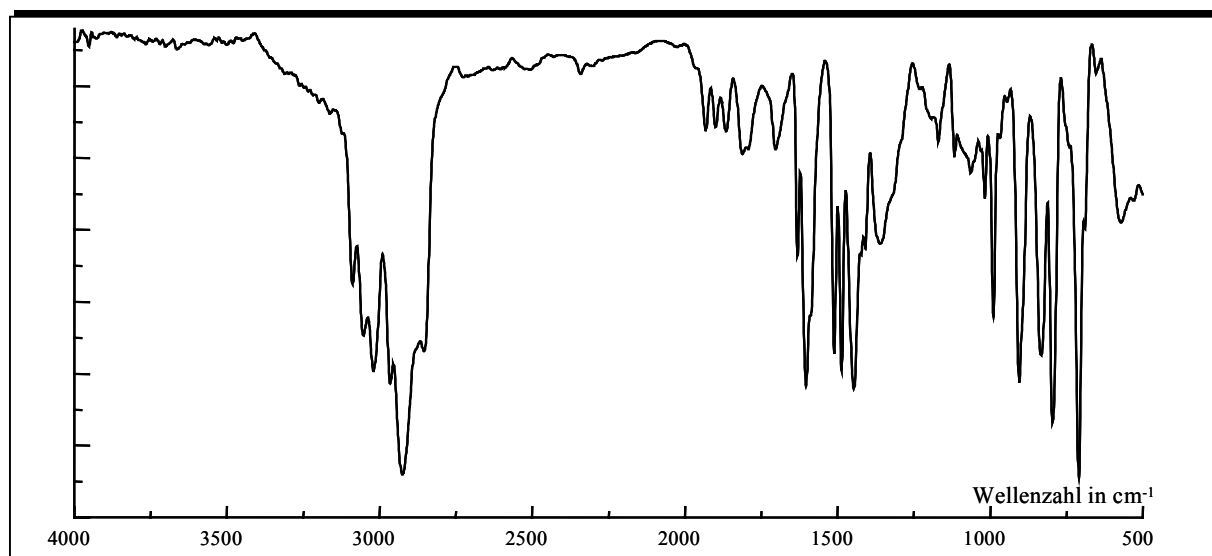


Abb. 6.5: IR-Drift-Spektrum von Amberchrom® CG 161c

6.2.4 Amberchrom-Acetyl (AC-A)

Dieses Festphasenmaterial wird über eine Friedel-Crafts-Acylierung, wie sie unter 6.2.1 beschrieben ist, hergestellt. Dabei werden 1 g Harz mit 3,9 g (50 mmol) Acetylchlorid und 3,9 g (30 mmol) Aluminiumchlorid umgesetzt. Diese Synthese wurde bereits von *Sun und Fritz* 1992 veröffentlicht. [71] Die Belegung des Harzes bei *Sun und Fritz* wurde über eine Sauerstoffelementaranalyse mit 1,2 mmol/g bestimmt.

Für eine Überprüfung der Reproduzierbarkeit werden zwei Ansätze der Harzbelegung durchgeführt. Das Harz verfärbt sich durch die Belegung von weiß nach schwach gelb. Die Ergebnisse der Elementaranalyse und IR-Drift-Messung, welche bei beiden Materialien praktisch identisch sind, sind in Tabelle 6.3 zusammengefaßt.

Tab. 6.3: Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC-A

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Differenz zu 100 % [%] = O-Gehalt	Belegung [mmol CH ₃ CO-/g]
84,7 ± 0,3	8,4 ± 0,3	6,9 ± 0,6	4,3 ± 0,4
83,3 ± 0,3	7,3 ± 0,3	9,4 ± 0,6	5,9 ± 0,4
IR-Drift-Spektrum			
$\nu = 3019-2925$ (CH ₂ , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 1931, 1899 (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); 1691 (C=O Valenzschw.); 1604, 1510 (aromat. C=C Valenzschw.); 1486, 1446, 1357 (CH ₂ Deformationsschw.); 972, 892, 826, 792, 708 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm ⁻¹			

Die Belegungen der Harze liegen um 1,6 mmol/g auseinander, was einem Unterschied von ca. 30 % entspricht. Auch ist die Belegung fünf mal höher als die von *Sun und Fritz*. Ein Grund für die sehr unterschiedliche Belegung könnte in der schlechten Durchmischbarkeit der Reaktionssuspension liegen. Des weiteren handelt es sich hier um eine heterogene Reaktion, deren Reaktionsführung deutlich schwieriger ist als bei einer homogenen.

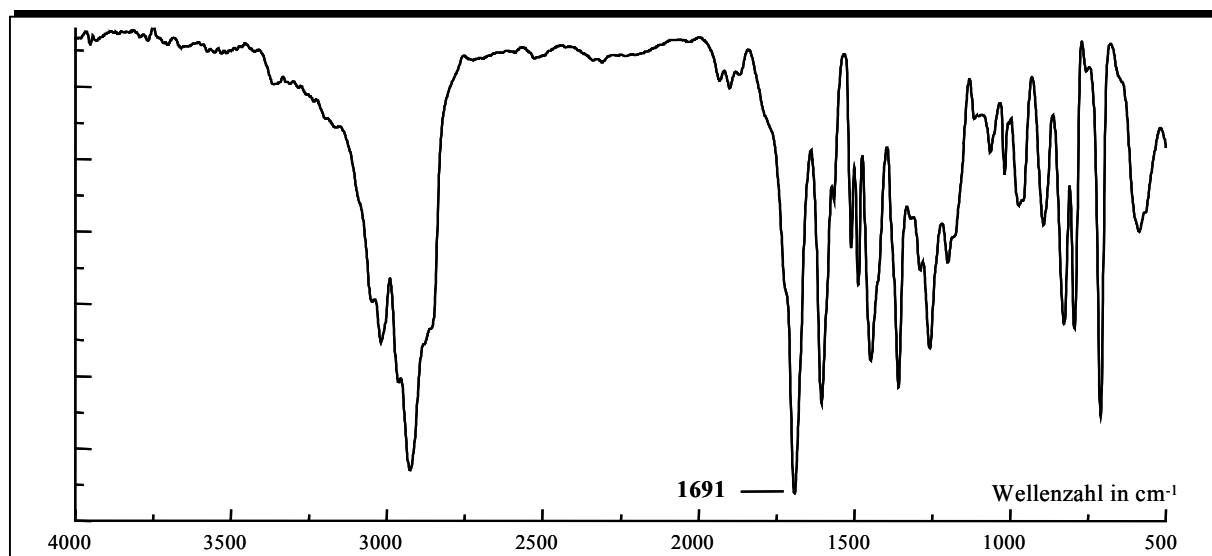


Abb. 6.6: IR-Drift-Spektrum von Amberchrom-Acetyl

Die Carbonylbande ist bei 1691 cm^{-1} im IR-Spektrum (Abbildung 6.6) deutlich zu erkennen.

6.2.5 Amberchrom-Monoetheracetyl (AC-COC1)

Bei der Synthese dieses Derivates werden 1 g Amberchrom mit 3,2 g (30 mmol) 3-Oxabutan-säurechlorid nach der unter 6.2.1 angegebenen Vorschrift umgesetzt, wobei sich das weiße Harz nach braun verfärbt. Die Synthese wird zweimal durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit zu testen. Die Ergebnisse der Analysen beider Ansätze sind in Tabelle 6.4 zusammengefaßt. Die Belegung unterscheidet sich lediglich um $0,8\text{ mmol/g}$ (13 %). Die Daten der IR-Spektren sind praktisch identisch.

Tab. 6.4: Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC-COC1

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Differenz zu 100 % [%] = O-Gehalt	Belegung [mmol $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CO-}/\text{g}$]
$75,1 \pm 0,3$	$6,6 \pm 0,3$	$18,3 \pm 0,6$	$5,7 \pm 0,2$
$72,7 \pm 0,3$	$6,6 \pm 0,3$	$20,7 \pm 0,3$	$6,5 \pm 0,2$
IR-Drift-Spektrum			
$\nu = 3018\text{-}2926$ (CH_2 , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 1899 (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); 1740 (C=O Valenzschw.); 1603 , 1506 (aromat. C=C Valenzschw.); 1485 , 1448 , 1377 (CH_2 Deformationsschw.); 1157 , 1118 (C-O-C Valenzschw.); 890 , 827 , 794 , 710 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm^{-1}			

Das IR-Spektrum von AC-COC1 ist in Abbildung 6.7 dargestellt. Neben der Valenzschwingung der Carbonylbande bei 1740 cm^{-1} ist auch die Valenzschwingung der C-O-C-Bindung bei 1157 und 1118 cm^{-1} deutlich zu erkennen. Die Probe enthielt bei der Messung noch geringfügig Wasser, indiziert durch die Hydroxylbande bei ca. 3700 cm^{-1} .

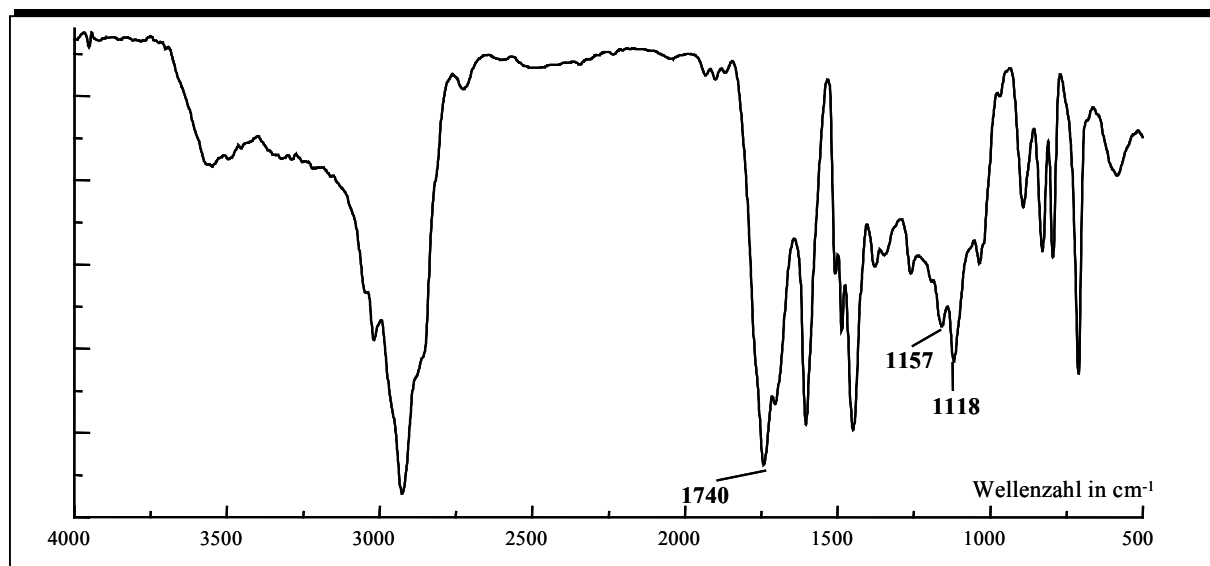


Abb. 6.7: IR-Drift-Spektrum von Amberchrom-monoetheracetyl

6.2.6 Amberchrom-Dietheracetyl (AC-COC2)

Dieses Festphasenmaterial wird ebenfalls über die unter 6.2.1 vorgestellte Friedel-Crafts-Acylierung hergestellt. Dabei werden 1 g Amberchrom-Harz mit 4,6 g (30 mmol) 3,6-Dioxaheptansäurechlorid in CS_2 umgesetzt. Die Farbe des Harzes ist gelb-braun. Auch hier werden zwei Ansätze dieser Synthese durchgeführt, um so die Reproduzierbarkeit der Belegung zu testen. Die Analysenergebnisse sind in Tabelle 6.5 zusammengefasst. Beide Reaktionen führen zu der gleichen Belegung: 3,2 mmol Ligand/g. Auf die Darstellung des IR-Spektrums von AC-COC2 wird verzichtet, da es dem von AC-COC1 (Abb. 6.7) gleicht.

Tab. 6.5: Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC-COC2

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Differenz zu 100 % [%] = O-Gehalt	Belegung [mmol $\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_2\text{CO-/g}$]
$77,2 \pm 0,3$	$7,3 \pm 0,3$	$15,5 \pm 0,6$	$3,2 \pm 0,2$
$77,4 \pm 0,3$	$7,1 \pm 0,3$	$15,5 \pm 0,6$	$3,2 \pm 0,2$
IR-Drift-Spektrum			
$\nu = 3019-2925$ (CH_2 , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 1932, 1899 (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); 1729 (C=O Valenzschw.); 1603, 1508 (aromat. C=C Valenzschw.); 1485, 1447, (CH_2 Deformationsschw.); 1117 (C-O-C Valenzschw.); 892, 828, 793, 709 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm^{-1}			

6.2.7 Amberchrom-Trietheracetyl (AC-COC3)

Auch bei dieser Synthese handelt es sich um eine Harzbelegung durch eine Friedel-Crafts-Acylierung nach Kapitel 6.2.1. Es werden 1 g Amberchrom mit 5,5 g (30 mmol) 3,6,9-Trioxadekansäurechlorid umgesetzt. Von der Belegung werden zwei Ansätze durchgeführt. Die Ergebnisse der Belegung und die Daten des IR-Spektrums sind in Tabelle 6.6 zusammengefasst. Die beiden Belegungen unterschieden sich um ca. 13 % und sind mit ca.

0,7 mmol/g deutlich unter denen der anderen Belegungen zuvor, was man auch an der nur sehr schwach gelben Färbung des Harzes erkennt. Hier macht sich die zunehmende Kettenlänge von AC-COC1 zu AC-COC3 bemerkbar. Auf die Darstellung des IR-Spektrums wird auch hier verzichtet, da es dem von AC-COC1 sehr ähnelt. Aufgrund der geringen Belegung sind die Banden nur etwas schwächer zu sehen.

Tab. 6.6: Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC-COC3

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Differenz zu 100 % [%] = O-Gehalt	Belegung [mmol $\text{CH}_3\{\text{O}(\text{CH}_2)_2\}_2\text{OCH}_2\text{CO-}/\text{g}$]
$88,0 \pm 0,3$	$7,9 \pm 0,3$	$4,1 \pm 0,6$	$0,64 \pm 0,09$
$86,8 \pm 0,3$	$8,6 \pm 0,3$	$4,6 \pm 0,6$	$0,72 \pm 0,09$
IR-Drift-Spektrum			
$\nu = 3052-2926$ (CH_2 , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 1930 , 1898 , 1864 (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); 1731 (C=O Valenzschw.); 1603 , 1510 (aromat. C=C Valenzschw.); 1486 , 1447 , (CH_2 Deformationsschw.); 1115 (C-O-C Valenzschw.); 902 , 828 , 793 , 708 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm^{-1}			

6.2.8 Amberchrom-Oktyl (AC-C8)

AC-C8 wird ebenfalls durch eine elektrophile Substitution des Aromaten hergestellt (Kap. 6.2.1). Dabei werden 1 g Amberchromharz mit 4,9 g (30 mmol) Oktansäurechlorid umgesetzt. Die Reaktion wird zweimal durchgeführt und vom belegten gelblichen Harz jeweils eine Elementaranalyse abgegeben. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6.7 dargestellt. Die beiden Belegungen sind im Rahmen ihrer Fehler gleich. Auf die Darstellung des IR-Spektrums wird verzichtet, da sich AC-C8 nur durch eine deutliche Bande der Carbonylgruppe bei 1688 cm^{-1} von AC unterscheidet.

Tab. 6.7: Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC-C8

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Differenz zu 100 % [%] = O-Gehalt	Belegung [mmol $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-}/\text{g}$]
$84,0 \pm 0,3$	$8,7 \pm 0,3$	$7,3 \pm 0,6$	$4,6 \pm 0,3$
$85,3 \pm 0,3$	$8,4 \pm 0,3$	$6,3 \pm 0,6$	$3,9 \pm 0,3$
IR-Drift-Spektrum			
$\nu = 3019-2857$ (CH_2 , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 1932 , 1899 (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); 1688 (C=O Valenzschw.); 1605 , 1509 (aromat. C=C Valenzschw.); 1486 , 1448 , (CH_2 Deformationsschw.); 892 , 827 , 792 , 708 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm^{-1}			

6.2.9 Amberchrom-Dodecyl (AC-C12)

Dieses Amberchromderivat entspricht dem von Kapitel 6.2.8, nur daß statt Oktansäurechlorid Dodekansäurechlorid für die Substitutionsreaktion verwendet wird. Dabei werden 1 g Amberchromharz mit 6,4 g (30 mmol) Dodekansäurechlorid umgesetzt. Es entsteht ein

schwach gelbes Harz. Das Ergebnis der Synthese und die spektralen Daten sind in Tabelle 6.8 dargestellt. Der Belegungsgrad ist aufgrund der größeren Kettenlänge geringer als bei AC-C8, eine Tendenz, die auch bei den Etherderivaten beobachtet wird. Auf die Darstellung des IR-Spektrums wird verzichtet.

Tab. 6.8 Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC-C12

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Differenz zu 100 % [%] = O-Gehalt	Belegung [mmol CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CO-/g]
85,8 ± 0,3	8,7 ± 0,3	5,5 ± 0,6	3,4 ± 0,4
IR-Drift-Spektrum			
ν = 3019-2855 (CH ₂ , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 1931, 1898 (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); 1688 (C=O Valenzschw.); 1604, 1509 (aromat. C=C Valenzschw.); 1486, 1450, (CH ₂ Deformationsschw.); 891, 827, 792, 708 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm ⁻¹			

6.2.10 Amberchrom-Chloracetyl (AC-CA)

Bei diesem Amberchromderivat werden 1 g AC mit 2,6 g (25 mmol) Chloracetylchlorid nach der Vorschrift aus Kapitel 6.2.1 umgesetzt. Bei den gewählten Reaktionsbedingungen ist davon auszugehen, daß keine Friedel-Crafts-Alkylierung zwischen Aromat und Halogenalkan stattfindet. Das Harz verfärbt sich durch die Belegung nach gelb-braun. Die Ergebnisse der Elementaranalyse und die Daten des IR-Spektrums sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt. Im IR-Spektrum ist die Carbonylbande deutlich bei 1693 cm⁻¹ zu erkennen. Eine Bande für die C-Cl-Schwingung, die bei ca. 830-560 cm⁻¹ zu erwarten wäre, ist nicht eindeutig auszumachen. Da aber in diesem Bereich auch die Deformationsschwingungen der Aromaten liegen, kann es zu Überlagerungen gekommen sein.

Tab. 6.9 Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC-CA

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Differenz zu 100 % [%] = O/Cl-Gehalt	Belegung [mmol ClCH ₂ CO-/g]
79,2 ± 0,3	6,6 ± 0,3	14,2 ± 0,6	2,8 ± 0,1
IR-Drift-Spektrum			
ν = 3020-2927 (CH ₂ , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 1932, 1900 (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); 1693 (C=O Valenzschw.); 1604, 1509 (aromat. C=C Valenzschw.); 1486, 1447, (CH ₂ Deformationsschw.); 892, 829, 793, 709 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm ⁻¹			

Die Berechnung des Belegungsgrades erfolgt folgendermaßen:

1000 mg Harz enthält zu 14,2 % Sauerstoff und Chlor. Das entspricht einer Masse von 142 mg. Diese 142 mg setzen sich aus äquimolaren Mengen Sauerstoff und Chlor zusammen, also

$$\begin{aligned}
 142 \text{ mg} &= m_{\text{O}} + m_{\text{Cl}} && \text{mit } m = n \cdot M \\
 142 \text{ mg} &= n_{\text{O}} \cdot M_{\text{O}} + n_{\text{Cl}} \cdot M_{\text{Cl}} && \text{da } n_{\text{O}} = n_{\text{Cl}} = n \\
 142 \text{ mg} &= n \cdot (M_{\text{O}} + M_{\text{Cl}}) \\
 \mathbf{142 \text{ mg} / (M_{\text{O}} + M_{\text{Cl}}) = n} &&& \text{Gl. 6.1}
 \end{aligned}$$

mit: $m_{\text{O/Cl}}$ = Masse Sauerstoff bzw. Chlor in g
 $M_{\text{O/Cl}}$ = Molmasse Sauerstoff (16) bzw. Chlor (35) in g/mol
 n = Molzahl in mmol

6.2.11 Amberchrom-Trichloracetyl (AC-TCA)

Bei dieser Synthese wird als Säurechlorid das Trichloracetylchlorid eingesetzt. Dabei werden 1 g AC-Harz mit 5,4 g (30 mmol) Säurechlorid umgesetzt. Das weiße AC-Harz verfärbt sich bei der Synthese nach dunkelbraun. Eine Elementaranalyse ergibt die in Tabelle 6.10 zusammengefaßten Ergebnisse. Die Berechnung des Belegungsgrades erfolgt nach dem unter 6.2.2.10 angegebenen Schema, nur mit der Annahme, daß $n_{\text{Cl}} = 3n_{\text{O}}$ ist. Dies muß nicht genau stimmen, da auch Halogenalkane eine elektrophile Substitution mit Aromaten eingehen. Die funktionelle Gruppe der Halogenalkane kann im IR-Spektrum nicht nachgewiesen werden, da die charakteristischen Banden vermutlich mit denen der aromatischen out of plane Schwingungen überlagern. Die tief braune Farbe und die ausgeprägte Carbonylbande deuten aber auf ein Gelingen der Reaktion ohne große Nebenprodukte hin.

Tab. 6.10 Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC-TCA

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Differenz zu 100 % [%] = O/Cl-Gehalt	Belegung [mmol $\text{Cl}_3\text{CCO-}/\text{g}$]
$73,6 \pm 0,3$	$5,7 \pm 0,3$	$20,7 \pm 0,6$	$1,7 \pm 0,1$
IR-Drift-Spektrum			
$\nu = 3021\text{-}2925$ (CH_2 , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 1932 , 1899 (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); 1720 (C=O Valenzschw.); 1604 , 1509 (aromat. C=C Valenzschw.); 1486 , 1447 , (CH_2 Deformationsschw.); 891 , 833 , 792 , 708 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm^{-1}			

6.2.12 Amberchrom-Nitro (AC-NO₂)

Das Amberchrom-Nitroderivat wird über eine Nitrierung des Aromaten hergestellt. [145] Zur Herstellung der Nitriersäure werden 10 mL (0,15 mol) konzentrierte Salpetersäure vorgelegt und unter Eiskühlung 12 mL konzentrierte Schwefelsäure zugegeben. In einem Dreihalskolben versehen mit Rührer, Tropftrichter und Innenthermometer wird 1 g Amberchromharz (10 mmol Aromat) vorgelegt. Dann gibt man unter Kühlung und Rühren langsam die auf 10 °C gekühlte Nitriersäure zu. Dabei darf die Innentemperatur 10 °C nicht überschreiten. Nach Beendigung der Zugabe wird die Suspension 2 bis 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung werden ca. 100 mL Wasser vorsichtig in die Lösung gegeben. Das nitrierte Harz wird abgesaugt und mit Wasser neutral gewaschen. Nach dem Waschen mit Aceton wird das Harz 24 h bei 120 °C getrocknet. Die Ergebnisse der Elementaranalyse und des IR-Spektrums sind in Tabelle 6.11 dargestellt.

Tab. 6.11 Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC-NO₂

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Stickstoffgehalt [%]	Belegung [mmol –NO ₂ /g]
60,8 ± 0,3	5,0 ± 0,3	6,3 ± 0,3	4,5 ± 0,2 ^a 8,7 ± 0,2 ^b
IR-Drift-Spektrum			
$\nu = 3020\text{--}2929$ (CH ₂ , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 1927 (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); 1605, 1584 (aromat. C=C Valenzschw.); 1529, 1340 (asymm. und symm. N=O Valenzschw.) 1448, (CH ₂ Deformationsschw.); 895, 836, 797, 763, 711 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm ⁻¹			

^a Belegung über den Stickstoffgehalt berechnet

^b Belegung über den Sauerstoffgehalt (Differenz zu 100 %) berechnet

Die Belegung des Harzes berechnet sich aus dem Stickstoff- und Sauerstoffgehalt sehr unterschiedlich, mit einer Abweichung von 100 %. Eine Begründung dafür läßt sich noch nicht angeben. Für weitere Berechnungen wird die Belegung über den Stickstoffanteil berechnet, da der Stickstoff in der Elementaranalyse quantifiziert wurde und der Sauerstoffgehalt lediglich durch Differenzbildung berechnet wird. Die beiden Banden für die N=O Valenzschwingung bei 1529 und 1340 cm⁻¹ sind aber sehr deutlich im IR-Drift-Spektrum zu sehen (Abbildung 6.8), so daß davon auszugehen ist, daß der Reaktionsweg zum gewünschten Produkt führte.

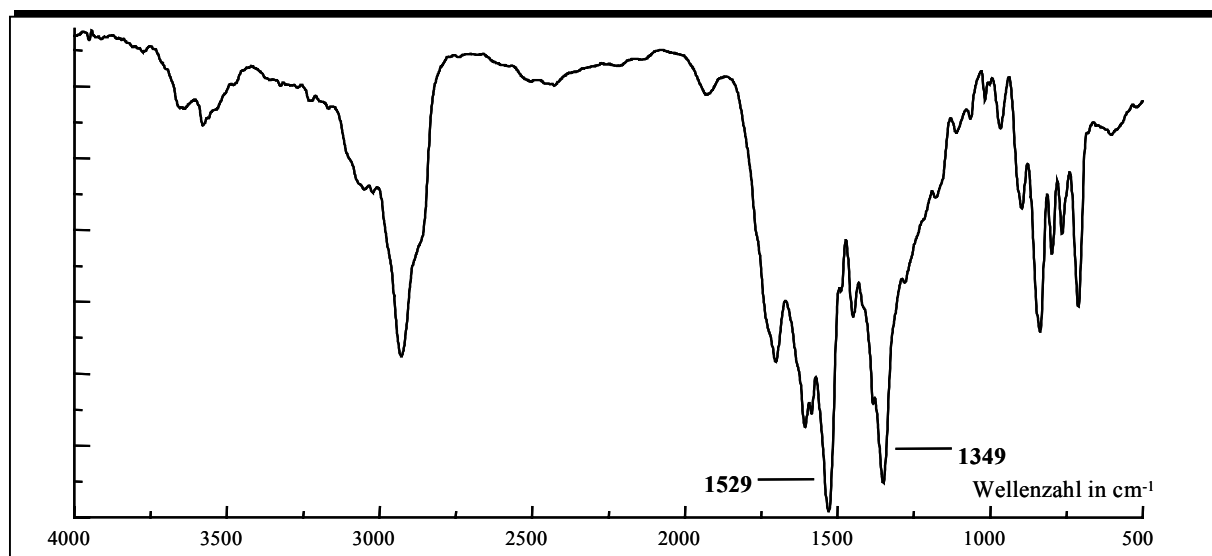


Abb. 6.8: IR-Drift-Spektrum vom Amberchrom-Nitroderivat

6.2.13 Amberchrom-Sulfonsäure (AC-SO₃H)

Diese Amberchromderivat wurde bereits von *Dumont und Fritz* 1995 veröffentlicht. [73] 1 g des AC-Harzes werden in einem Dreihalskolben mit Rührer in 3-4 mL Eisessig suspendiert. Unter Eiskühlung werden langsam 20 mL konzentrierte Schwefelsäure zugetropft. Nach der Zugabe wird das Gemisch 90 min bei 85 °C erhitzt. Zur Aufarbeitung wird die Suspension in 200 mL Eiswasser gegeben, das Harz abfiltriert und mit Wasser, Methanol, Wasser und Aceton gewaschen. Das Harz hat sich dunkelbraun gefärbt. Von der Synthese werden zwei Ansätze parallel durchgeführt. Die Ergebnisse der Analysen sind in Tabelle 6.12 zusammengefaßt.

Tab. 6.12 Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC-SO₃H

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Differenz zu 100 % [%] = O+S-Gehalt	Belegung [mmol -SO ₃ H/g]
68,9 ± 0,3	7,4 ± 0,3	23,7 ± 0,6	3,0 ± 0,1
71,7 ± 0,3	8,0 ± 0,3	20,3 ± 0,6	2,5 ± 0,1
IR-Drift-Spektrum			
ν = 3020-2927 (CH ₂ , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); 2413 (O-H Valenzschw.) 1932, 1867 (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); 1601, 1509 (aromat. C=C Valenzschw.); 1486, 1449, (CH ₂ Deformationsschw.); 1178 (R-SO ₃ - Valenzschw.); 893, 829, 794, 709 (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm ⁻¹			

Die Berechnung des Sulfonierungsgrades erfolgt nach der unter Kapitel 6.2.10 erläuterten Vorgehensweise, nur mit der Voraussetzung, daß $n_O = 3 \cdot n_S$ ist. Dies führt zu den Belegungen von 2,5 und 3,0 mmol/g, was einem Mittelwert von 2,75 mmol/g entspricht. *Dumont und Fritz* erzielten unter den gleichen Reaktionsbedingungen 2,7 mmol/g. [73] Dies spricht für eine recht robuste Synthese. Die Präsenz der Sulfongruppe ist im IR-Drift-Spektrum

(Abbildung 6.9) deutlich an der OH-Valenzschwingung bei 2413 cm^{-1} (breit, in intramolekularen Chelat-H-Brücken) und der Valenzschwingung der Sulfongruppe bei 1178 cm^{-1} zu erkennen.

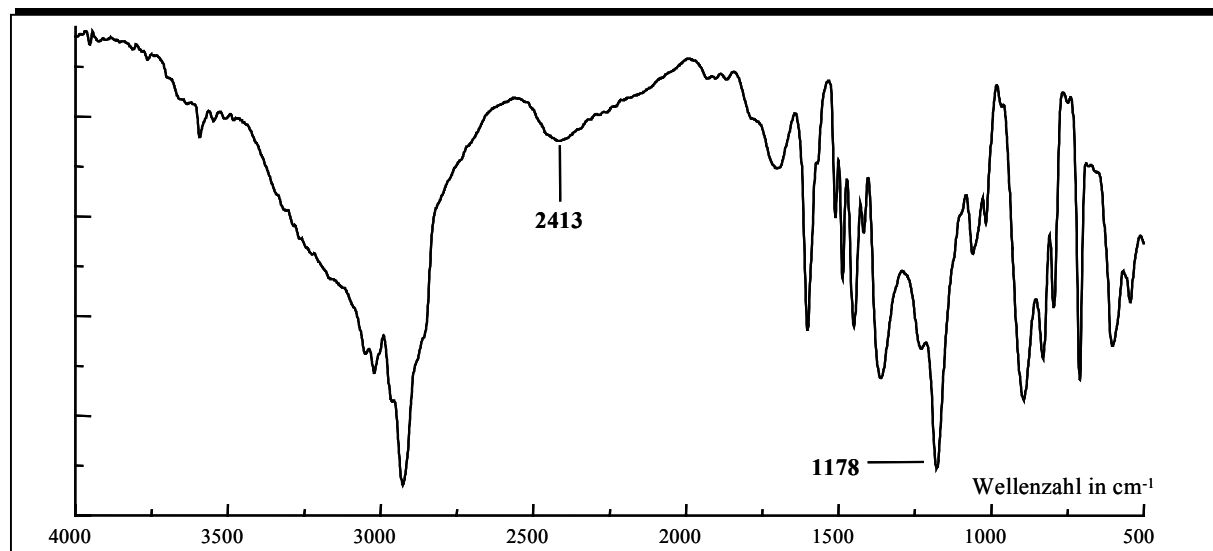


Abb. 6.9: IR-Drift-Spektrum vom Amberchrom-SO₃H-Derivat

6.2.14 Amberchrom-Thiocyanat (AC-SCN)

Die Darstellung dieses Derivates gelingt über eine Rhodanierung des Aromaten mit dem Pseudohalogen Dirhodan (SCN)₂. [146] In einem Becherglas werden 1 g des Harzes (10 mmol Aromat) mit 2,5 g (22 mmol) Kaliumrhodanid in 8 mL Eisessig suspendiert. Die Suspension wird auf 10 °C gekühlt und unter ständigem Rühren werden 2 g (12,5 mmol) Brom in 2 mL Eisessig langsam zugetropft. Die Innentemperatur darf dabei 20 °C nicht überschreiten. Anschließend läßt man das Gemisch 3 h bei Raumtemperatur stehen. Zur Aufarbeitung gibt man das Gemisch in 100 mL Wasser und neutralisiert die Lösung. Das Harz wird abgesaugt und mit Wasser, Methanol, Wasser und Aceton gewaschen. Nach dem Trocknen bei 120 °C wird eine Elementaranalyse und ein IR-Spektrum aufgenommen. Die Resultate sind in Tabelle 6.13 dargestellt.

Tab. 6.13 Elementaranalyse und IR-Drift-Spektrum von AC-SCN

Kohlenstoffgehalt [%]	Wasserstoffgehalt [%]	Stickstoffgehalt [%]	Belegung [mmol SCN bzw. Amid/g]
52,7 ± 0,3	4,5 ± 0,3	10,1 ± 0,3	7,2 ± 0,2
IR-Drift-Spektrum			
$\nu = 3267, 3177$ (N-H Valenzschw.) $3022-2924$ (CH ₂ , C-H Valenzschw., Aryl-H Valenzschw.); $2156, 2046$ (S-C≡N Valenzschw.) $1934, 1899, 1866$ (aromat. Ober- und Kombinationsschw.); $1604, 1509$ (aromat. C=C Valenzschw.); 1485 (CH ₂ Deformationsschw.); 1263 (N-H Valenzschw. Amid, breit) $891, 828, 793, 707$ (aromat. C-H Deformationsschw. out of plane) cm ⁻¹			

Die Berechnung des Belegungsgrades kann über den Stickstoffgehalt (7,2 mmol/g) oder über den Schwefelgehalt, der sich aus der Differenz zu 100 % ergibt, erfolgen. Der Schwefelgehalt beträgt demnach 32,7 %, einer Belegung von 10,2 % entsprechend. Die Differenz zwischen den berechneten Belegungen ist ein Hinweis auf einen nicht eindeutigen Reaktionsverlauf. Vermutlich ist ein Teil der Thiocyanatgruppen hydrolysiert, wodurch sich die 32,7 % aus -SH und -SCN Gruppen zusammensetzen (vergl. Abb. 6.13). Das IR-Spektrum zeigt deutlich die Bande der Thiocyanatgruppe bei 2156 und 2046 cm^{-1} aber auch zwei Banden bei 3267 und 1263 cm^{-1} , ein weiterer Hinweis auf eine stattgefundene Hydrolyse der Thiocyanatgruppe.

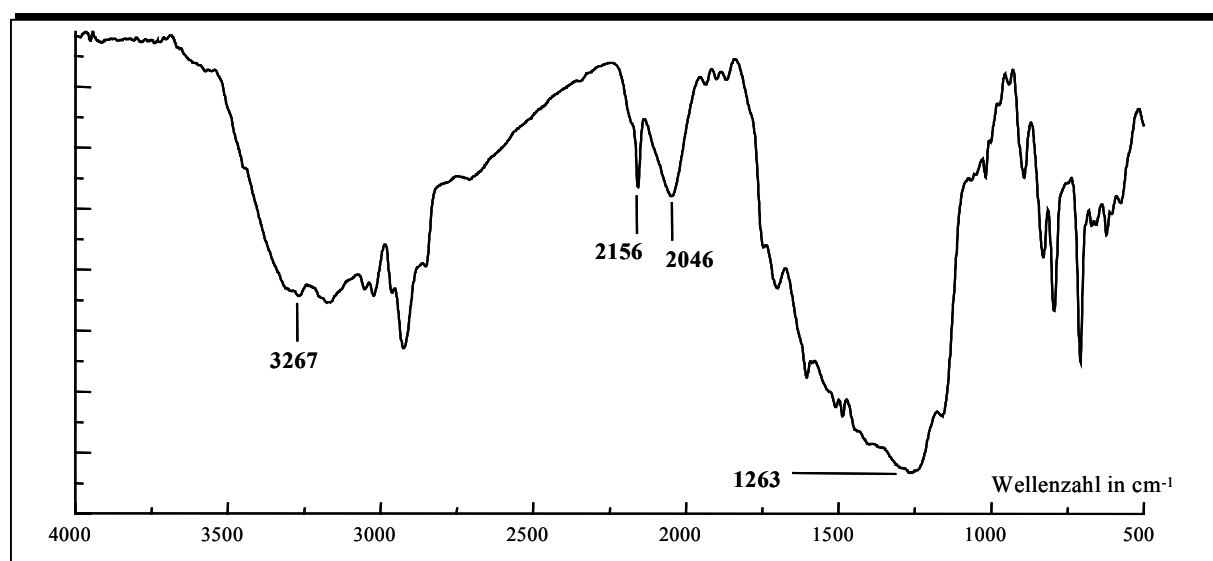


Abb. 6.10: IR-Drift-Spektrum vom Amberchrom-SCN-Derivat

6.2.15 Füllen von HPLC-Säulen

Für die Untersuchung und Charakterisierung der Festphasenmaterialien werden diese in 50 x 4,0 mm i. D. dimensionierte ($V = 0,628 \text{ cm}^3$) HPLC-Säulen gefüllt. Das Füllen geschieht nach der unter 5.2.2 beschriebenen Methode. Für die Bestimmung der Füllmenge wird die Säule zuvor leer und nach dem Füllen voll gewogen. Die Differenz entspricht dann der eingefüllten Harzmenge. Die Füllmengen sind in Tabelle 6.14 aufgelistet.

Tab. 6.14: Füllmengen der Polystyrenmaterialien in der HPLC-Säule

Harz	1. Füllung [mg] ± 1 %	2. Füllung [mg] ± 1 %	3. Füllung [mg] ± 1 %	Mittelwert [mg] ± 3 %
ENV+	215	221	217	218
AC	162	167	174	168
AC-A	161	165	195	174
AC-COC1	195	216	209	207
AC-COC2	189	194	-	192
AC-COC3	167	168	164	166
AC-C8	207	206	232	215
AC-C12	232	232	-	232
AC-CA	191	193	-	192
AC-TCA	188	197	-	193
AC-NO ₂	259	260	262	260
AC-SO ₃ H	237	226	243	235
AC-SCN	291	297	296	295

Da das Volumen der HPLC-Säule konstant ist, kommen die unterschiedlichen Füllmengen durch die jeweilige molare Masse des Harzes und die Dichte der Packung zustande. In Abbildung 6.11 sind die Füllmengen der Harze in Abhängigkeit von der Masse des Substituenten/g dargestellt.

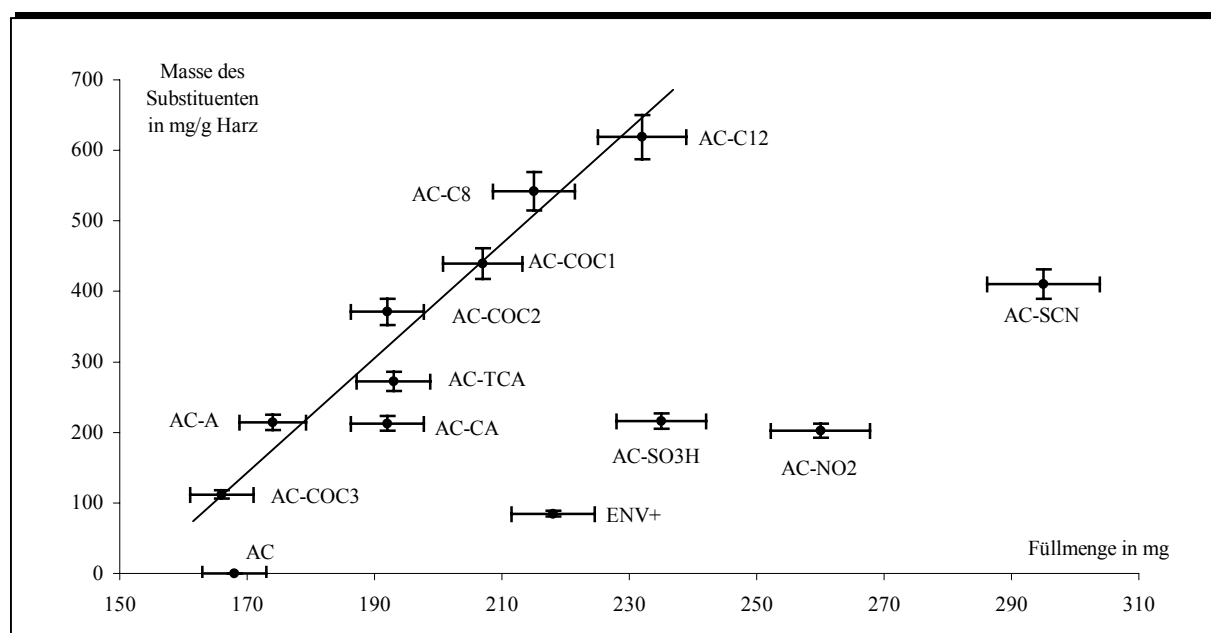


Abb. 6.11: Füllmengen der Harze in Abhängigkeit zur Masse des Substituenten/g, die Fehlerbalken entsprechen 3 % für die Füllmenge und 5 % für die Masse des Substituenten

Die Masse des Substituenten/g berechnet sich folgendermaßen:

$$m_{\text{Ligand/g}} = n_{\text{Ligand/g}} \cdot (M_{\text{Ligand}} - M_{\text{H}}) \quad \text{Gl. 6.2}$$

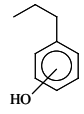
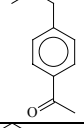
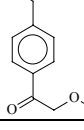
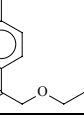
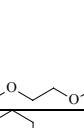
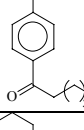
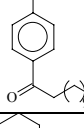
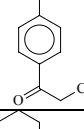
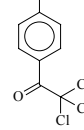
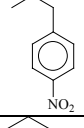
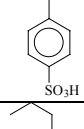
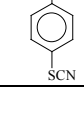
mit: $m_{\text{Ligand/g}}$ = Masse des Liganden in 1 g Harz in mg
 $n_{\text{Ligand/g}}$ = Belegung des Harzes in mmol/g (siehe Tab. 6.15)
 M_{Ligand} = Molmasse des eingefügten Liganden in g/mol (siehe Tab.6.15)
 M_{H} = Molmasse des substituierten Protons in g/mol

Das Diagramm zeigt eine deutliche lineare Korrelation zwischen der Füllmenge eines Harzes und der Masse des Substituent pro g Harz. Dieses gilt vor allem für die Materialien, die eine rein aliphatische Kette als Substituenten aus Kohlenstoff- und Sauerstoffatomen besitzen. Besitzt der Substituent weitere Heteroatome wie Chlor, Schwefel oder Stickstoff, lassen sich diese Materialien nicht mit den anderen korrelieren. Dies ist bereits bei AC-CA und AC-TCA zu beobachten. Bei ENV+, AC-SO₃H, AC-NO₂ und AC-SCN ist ebenfalls eine Korrelation zwischen der Füllmenge und der Masse des Substituenten angedeutet. Da aber sowohl die Belegung von AC-NO₂ als auch die von AC-SCN vermutlich fehlerhaft ist, läßt sich nicht mit Sicherheit sagen, ob ein linearer Zusammenhang besteht.

6.2.16 Zusammenfassung und Diskussion der Harzfunktionalisierungen

Die hier vorgestellten Materialien unterscheiden sich zum einen in ihrer Polystyrenbasis und zum anderen grundlegend in ihrer Funktionalisierung. Als Polystyrenmaterial ist zum einen das kommerzielle ENV+ von ICT und zum anderen das Amberchrom CG 161c zu nennen, welches als Basismaterial für alle Derivatisierungen verwendet wurde. Die Derivatisierung wurde meistens über eine Friedel-Crafts-Acylierung durchgeführt, so daß den Harzen eine Ketofunktion gemeinsam ist. Tabelle 6.15 gibt eine Übersicht über die verwendeten Festphasenmaterialien.

Tab.6.15: Übersicht über die Festphasenmaterialien auf Polystyren-Basis

Struktur	Bezeichnung	Belegung in mmol Substituent/g	M _{Substituent} in g/mol	Farbe
	ENV+	unbekannt	17	orange-braun
	AC	-	0	weiß
	AC-A	5,1 ± 0,8	43	schwach gelb
	AC-COC1	6,1 ± 0,4	73	braun
	AC-COC2	3,2 ± 0,2	117	gelb-braun
	AC-COC3	0,7 ± 0,1	161	schwach gelb
	AC-C8	4,3 ± 0,2	127	schwach gelb
	AC-C12	3,4 ± 0,2	183	schwach gelb
	AC-CA	2,8 ± 0,1	77	gelb-braun
	AC-TCA	1,7 ± 0,1	145	dunkelbraun
	AC-NO ₂	4,5 ± 0,2	46	braun
	AC-SO ₃ H	2,7 ± 0,3	80	braun-violett
	AC-SCN	7,2 ± 0,2	58	orange

Die Auswahl der durchgeführten Harzfunktionalisierungen geschah mit dem Ziel, Harze mit bestimmten, genau definierten Eigenschaften herzustellen. Dies wurde zum einen anhand der

Kenntnis von Mesomerie- und induktiven Effekten funktioneller Gruppen auf ein aromatisches System und zum anderen anhand der Ergebnisse der LSER-Gleichungen von bereits untersuchten Harzen durchgeführt. Die Auswahl der Funktionalisierung geschah also nicht nach dem Prinzip „trial and error“, sondern basierte auf der Grundlage bereits vorhandener Ergebnisse, die im weiteren Verlauf dieses Kapitels vorgestellt werden.

ENV+ ist ein hydroxyliertes Harz, besitzt also Wasserstoffbrückenakzeptor und -donator Eigenschaften. AC-A zeichnet sich vornehmlich durch die Ketogruppe aus, ebenso wie AC-COC1 und AC-COC2. Bei letzteren kommen aber mit zunehmender Kettenlänge die Ethergruppeneigenschaften hinzu, während die Ketogruppe aufgrund der geringeren Belegung ihren Einfluß verlieren müßte. Die AC-C8 und AC-C12- Derivate besitzen durch den größeren aliphatischen Anteil einen gesteigerten hydrophoben Charakter, haben aber ebenfalls über die Ketogruppe hydrophile Eigenschaften. Die Chloracetylderivate sollten starke hydrophile Anteile durch eventuell vorhandene Dipole haben. Das Nitroderivat zeichnet sich durch einen besonders hydrophilen Charakter aufgrund des Dipols aus, ebenso wie das AC-SO₃H-Harz, das zusätzlich aufgrund der Sulfonsäuregruppe aciden Charakter hat. Einen weiteren Effekt auf die Eigenschaften der Harze hat die unterschiedliche Belegung mit elektronenziehenden bzw. -schiebenden Substituenten. Bei elektronenschiebenden Substituenten (-SCN, -CH₃) entsteht ein negativ polarisierter aromatischer Ring, während bei den anderen (-NO₂, -SO₃H, Ketone) ein positiv polarisiertes aromatisches System resultiert.

6.3 Bestimmung des Solvatationsparameters „Retentionsfaktor“ für acide und basische Analyten

Für die Bestimmung der Phaseneigenschaften anhand des LSER-Modells unter aciden und basischen Bedingungen und die Durchführung der Clusteranalyse ist es notwendig, eine ausreichende Anzahl von Retentionsfaktoren von Analyten auf den unter 6.2 vorgestellten stationären Phasen unter isokratischen Bedingungen zu kennen. Die den Retentionsfaktor beeinflussenden Faktoren „Temperatur“ und „mobile Phase“ müssen für eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse stets dieselben sein.

Die Bedingungen, Analyten und Ergebnisse der Bestimmung von Retentionsfaktoren acider und basischer Analyten sollen hier diskutiert werden. Aufgrund der Materialeigenschaften der stationären Phasen, konkret der Polystyrenmaterialien, ist die Messung von Retentionsfaktoren nicht unproblematisch. Der Retentionsfaktor eines Analyten berechnet sich nach Gleichung 5.2. Die Retentionszeit t_R wird an der Spitze des durch den Analyten verursachten Peaks bestimmt. Bei den hier durchgeführten Messungen ist der Fehler der Bestimmung relativ groß, da die Peaks aufgrund starker Diffusion der Analyten und unterschiedlich langer Weglängen sehr breit und flach sind. In extremen Fällen liegt zwischen Peakanfang und –ende ein Zeitraum von ca. 20 Minuten.

Die Durchflußzeit einer unretardierten Substanz beschreibt die Zeit, die ein Analyt im vorgegebenen chromatographischen System (Kapillarlängen, Säulenlänge, Probenschleife) benötigt, um ohne Wechselwirkungen mit der stationären Phase vom Injektionsventil zum Detektor zu gelangen. Dabei stellt die Wahl dieser Substanz in diesem Fall ein größeres Problem dar, da die Polystyrenmaterialien sogar sehr polare Substanzen retardieren.

6.3.1 Acide Laufmittelbedingungen

Im ersten Teil des Kapitels 6.3 werden die Messungen unter aciden Bedingungen behandelt.

6.3.1.1 Die aciden Analyten und ihre Eigenschaften

Für die Bestimmung der Eigenschaften der 13 vorgestellten Phasen unter aciden Bedingungen werden 19 aromatische Analyten ausgewählt, die alle die Fähigkeit besitzen, polare Wechselwirkungen einzugehen. Sie entsprechen in etwa denen aus Kapitel 5, Tabelle 5.2. Es handelt sich dabei um zwei aromatische Carbonsäuren, einen aromatischen Alkohol, ein Keton und verschieden substituierte Phenole. Benzaldehyd wird aufgrund seiner schnellen Oxidation zur Säure nicht weiter verwendet. Die Säuren besitzen mit 0,59 die gleiche Wasserstoffbrückenacidität α_2^H , 4-Nitrophenol zeichnet sich durch einen ausgeprägten Dipol

($\pi_2^H = 1,72$) aus, und die Nitrotoluene sind aufgrund der Nitro- und Methylgruppe recht groß, was sich im Cavity-Term, $V_x/100$, zeigt. Die stärkste Basizität β_2^H besitzt Benzylalkohol mit 0,56, während 2-Iodphenol stark polarisierbar ist, verdeutlicht im R_2 -Wert von 1,36. Zusammengefaßt besitzen alle Analyten in ihren Eigenschaften ausgeprägte polare Komponenten.

Von den 19 Analyten werden Stammlösungen in Methanol mit einer Konzentration von ca. 1000 ng/ μ L angesetzt und die Lösungen im Kühlschrank aufbewahrt. Für die Messungen der Retentionsfaktoren werden die Stammlösungen in einem Lösungsmittelgemisch Methanol-Wasser (50/50) auf eine Konzentration von ca. 20 ng/ μ L verdünnt. Die Injektionslösungen werden maximal eine Woche im Kühlschrank aufbewahrt. Für die Bestimmungen werden 20 μ L über eine 20 μ L Probenschleife injiziert.

6.3.1.2 Konditionieren der HPLC-Säulen und Laufmittelbedingungen

Konditionieren der Säulen

Nachdem die Polystyrenmaterialien nach dem unter 6.2.15 beschriebenen Verfahren in die HPLC-Säulen gefüllt sind, werden die Säulen an die HPLC-Anlage angeschlossen und konditioniert. Dies geschieht über den folgenden Laufmittelgradienten bei einem Fluß von 1 mL/min: 1-60 min 100 % Methanol, 70-100 min Methanol/Wasser (10:90), 110 min 100 % Methanol. Die Konditionierung ist beendet, wenn im UV-Detektor eine konstante Basislinie erreicht ist.

Für die Messungen der Retentionsfaktoren der aciden Analyten ist es notwendig, einen Phosphatpuffer mit pH 2 zu verwenden, da die Carbonsäuren und Phenole sonst teilweise dissoziiert als Anionen vorliegen und nicht retardiert würden. Der verwendete Phosphatpuffer wird aus ortho-Phosphorsäure und tri-Natriumphosphat als Stammlösung in einer Konzentration von ca. 120 mmol/L Phosphat hergestellt. Diese Stammlösung wird für die Verwendung als Laufmittel 1:10 verdünnt. Nach der ersten Konditionierung erfolgt dann eine zweite unter sauren Bedingungen nach folgendem Gradienten (Fluß: 1 mL/min): 0-20 min 100 % Methanol, 30-40 min Methanol/Wasser (10:90), 50-80 min. Methanol/Puffer (pH 9) (10:90), 90-120 min Methanol/Wasser (10:90), 125 min 100 % Methanol.

Wahl der mobilen Phase

Die Wahl der Laufmittelzusammensetzung für die Bestimmung der Retentionsfaktoren der 19 Analyten auf allen 13 stationären Phasen hängt von zwei Faktoren ab. Zum einen dürfen die Retentionszeiten schwach retardierter Analyten nicht zu kurz und zum anderen die der stark retardierten nicht so lang sein. Aufgrund der enormen Peakverbreiterung ist eine Auswertung

im letzten Fall sonst nicht mehr möglich. In Abbildung 6.12 sind drei Fälle, eine sehr kurze, eine mittlere und eine lange Retentionszeit, dargestellt. Dabei wird deutlich, daß die Peaks mit kurzen Retentionszeiten am besten auszuwerten sind, da sie eine deutliche Peakspitze besitzen. Sie besitzen aber eine große Unsicherheit, da die Analyten in diesem Fall kaum retardiert werden.

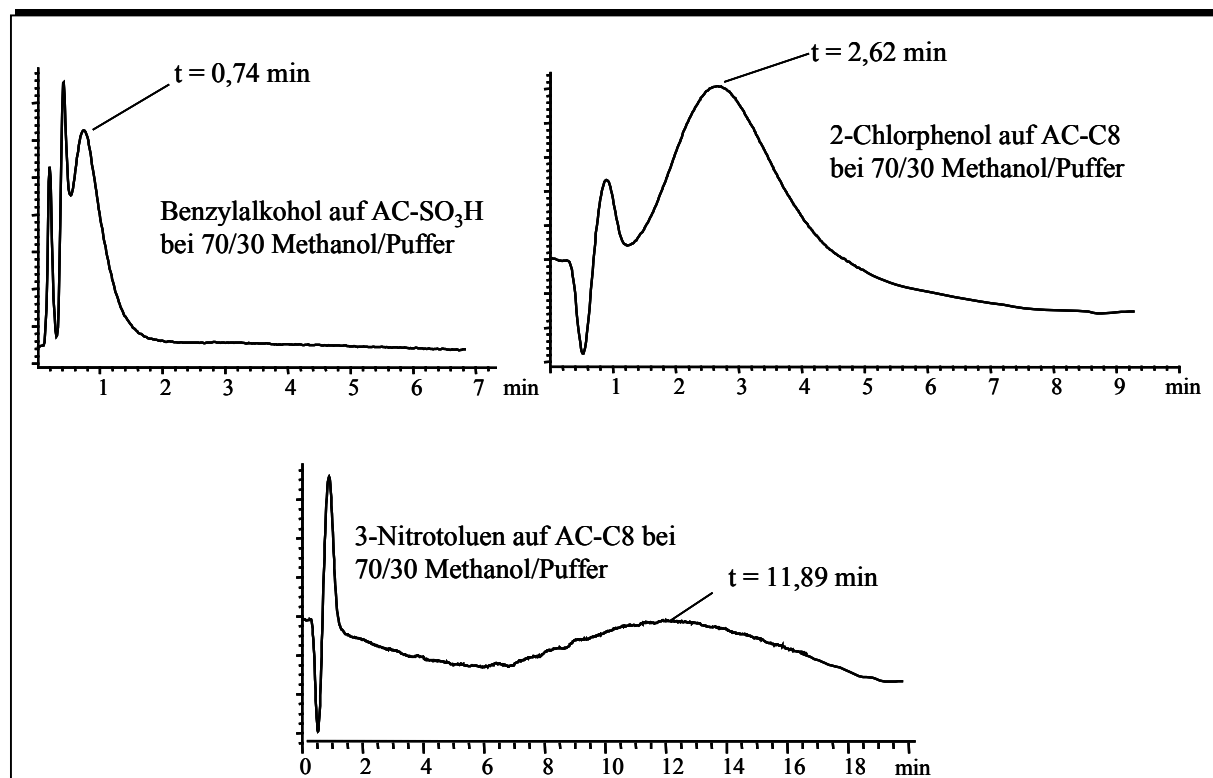


Abb. 6.12: Peakformen bei drei unterschiedlich langen Retentionszeiten

Wird die Retentionszeit größer als zehn Minuten, wie es beim 3-Nitrotoluen geschehen ist, erfährt das Signal eine starke Verbreiterung und Abflachung, in diesem Fall über zwölf Minuten. Die Spitze des Peaks ist nicht mehr eindeutig festzulegen, wodurch eine große Unsicherheit bei der Integration entsteht. Im Idealfall liegt die Retentionszeit zwischen zwei und zehn Minuten. Man erhält ein eindeutiges Signal, das gut auszuwerten ist. Ein solches Beispiel zeigt 2-Chlorphenol auf AC-C8.

Da alle 19 Analyten für eine Vergleichbarkeit auf allen Harzen unter der gleichen isokratischen Laufmittelzusammensetzung bestimmt werden müssen, kann die Wahl der mobilen Phase nur ein Kompromiß sein. Die besten Ergebnisse liefert dabei die Zusammensetzung Methanol/Phosphatpuffer (70:30). Die Retentionszeiten aller Substanzen liegen zwischen ca. einer und 30 Minuten. Aufgrund dieser Problematik wird bei den Polystyrenmaterialien auf eine Bestimmung der LSER-Daten in Abhängigkeit vom Laufmittel, wie es bei den Kieselgelphasen durchgeführt wurde, verzichtet.

Bestimmung der Durchflußzeit einer unretardierten Substanz

Für die Bestimmung der Durchflußzeit t_0 wird Thioharnstoff eingesetzt. Es ist nicht auszuschließen, daß Thioharnstoff bei Methanol/Puffer (70:30) auf den Polystyrenmaterialien auch retardiert wird. Dies läßt sich generell nicht feststellen, da es aber auf allen 13 stationären Phasen die kürzeste „Retentionszeit“ besitzt, kann es als Bezugspunkt verwendet werden.

6.3.1.3 Die Retentionsfaktoren der aciden Analyten

Die Bestimmung der Retentionszeiten wird nach den unter 6.3.1.2 angegebenen Bedingungen durchgeführt. Für eine gute Reproduzierbarkeit wird die HPLC-Säule über einen Säulenofen stets auf 30 °C gehalten, da die Temperatur einen starken Einfluß auf die Retentionszeiten der Analyten hat. [116] Für die Bestimmung des Fehlers der Retentionszeit werden die 19 Analyten auf zwei stationären Phasen, ENV+ und AC, jeweils dreimal injiziert. Die Abweichung vom Mittelwert beträgt in Abhängigkeit von der Peakform 1 bis 3 %. Die Berechnung der Retentionsfaktoren erfolgt nach Gleichung 5.2. In Tabelle 6.16 sind die Ergebnisse zusammengefaßt. Auf einigen stationären Phasen konnten nicht alle Retentionszeiten bestimmt werden, da die Peakverbreiterung zu stark und das Signal zu flach und dadurch eine sinnvolle Auswertung unmöglich war.

Die in Tabelle 6.16 aufgeführten Retentionsdaten sind die Grundlage jeder weiteren Analyse, ob LSER-Modell oder Clusteranalyse. Beim LSER-Modell werden sie benutzt, um 19 LSER-Gleichungen für jedes Harz aufzustellen und durch eine multiple lineare Regression die Eigenschaften des chromatographischen Systems bezüglich der fünf LSER-Parameter zu ermitteln. Die Clusteranalyse hingegen vergleicht die Retentionsmuster auf jedem Harz miteinander und findet auf diese Weise Materialähnlichkeiten. Die Genauigkeit der Retentionsdaten ist deshalb von besonderer Bedeutung für alle weiteren Analysen.

Tab. 6.16: Retentionsfaktoren von 19 Analyten auf 13 Polystyrenmaterialien bei Methanol/Puffer (pH 2) (70:30), hellgraue Kästen: $k_A > k_A$ auf AC

Analyt	ENV+	AC	AC-A	AC-COC1	AC-COC2	AC-COC3	AC-C8	AC-C12	AC-CA	AC-TCA	AC-NO ₂	AC-SO ₃ H	AC-SCN
	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %
Acetophenon	9,68	7,65	4,29	4,38	5,74	6,46	5,94	5,34	4,15	6,52	1,88	1,37	6,17
Benzoessäure	4,78	2,43	2,27	1,79	2,21	2,66	2,75	2,45	1,43	4,09	0,46	0,46	2,17
Benzylalkohol	1,85	1,07	0,81	0,71	0,76	1,01	1,23	0,92	0,47	1,19	0,25	0,33	1,11
m-Tolylsäure	8,22	4,87	4,22	3,12	4,25	5,61	4,37	3,70	3,05	6,91	0,69	0,61	4,01
Phenol	2,13	1,18	1,56	1,18	1,23	1,26	1,90	1,51	0,87	1,41	0,49	0,37	1,17
2-Chlorphenol	5,33	3,34	4,14	2,90	3,29	3,45	4,62	3,73	2,75	3,68	1,20	0,71	2,97
2-Nitrophenol	16,49	13,75	10,21	9,51	11,18	12,08	12,46	11,23	8,66	12,95	4,63	2,74	11,17
4-Nitrophenol	10,83	3,74	7,52	4,95	4,95	4,35	6,16	4,37	5,03	6,41	4,82	1,48	3,94
2-Methylphenol	4,21	2,87	3,08	2,21	2,47	2,74	3,73	3,06	1,88	2,89	0,63	0,47	2,35
3-Methylphenol	3,85	2,24	2,53	1,91	2,17	2,34	3,07	2,41	1,72	2,77	0,64	0,45	2,09
4-Methylphenol	4,23	2,35	2,68	2,06	2,30	2,53	3,03	2,42	1,80	2,99	0,64	0,47	2,12
2-Fluorphenol	2,54	1,42	1,82	1,28	1,43	1,53	2,16	1,70	1,18	1,75	0,54	0,38	1,28
3-Bromphenol	9,70	5,63	8,04	5,44	5,93	6,10	8,19	6,67	5,37	7,98	1,79	1,52	4,95
2-Iodphenol	13,27	6,99	9,17	7,25	7,66	7,33	9,84	7,68	8,05	9,49	2,38	1,59	6,75
2-Methoxyphenol	3,36	2,28	1,91	1,62	1,98	2,13	2,56	2,06	1,70	2,45	0,75	0,52	2,17
4-Methoxyphenol	3,34	1,42	1,83	1,33	1,45	1,58	1,94	1,44	1,09	2,03	0,58	0,41	1,54
2-Nitrotoluen	27,19	28,38	14,22	12,61	19,27	22,37	21,12	19,54	14,70	n.b.	5,86	3,88	18,02
3-Nitrotoluen	38,65	27,29	17,00	17,36	25,90	n.b.	25,46	23,68	14,95	n.b.	8,79	5,18	18,33
4-Nitrotoluen	38,24	24,34	15,88	19,61	24,87	n.b.	23,53	23,01	15,51	n.b.	9,11	5,36	19,89

Aus der Tabelle wird deutlich, daß alle Analyten auf ENV+ die größten Retentionsfaktoren besitzen. Die Summe der Wechselwirkungen zwischen Analyt und stationärer Phase ist auf diesem Material am größten und es verfügt somit über die größte Retentionskraft für acide Analyten. Amberchrom ist reines Polystyren, besteht also zu 100 % aus Kohlen- und Wasserstoff, und besitzt eine deutlich geringere Retentionskraft als das kommerzielle ENV+. Demnach müssen die hydrophilen Anteile des ENV+ Harzes zu einer Verstärkung der Retention führen. Vergleicht man Amberchrom mit seinen Derivaten, erkennt man für viele Analyten auf fast allen Harzen eine Vergrößerung der Retentionsfaktoren. Sie sind in der Tabelle 6.16 grau unterlegt. Demnach führen polare funktionelle Gruppen für Analyten mit entsprechenden Eigenschaften zu einer Verlängerung der Retentionszeit und somit zu einer selektiven Verbesserung der Retentionskraft des Materials. Die meisten Analyten haben auf AC-C8 (13) und AC-TCA (14) eine stärkere Retention, dicht gefolgt von AC-COC3 und AC-C12 (beide 11). Bis auf Acetophenon, 2-Nitrophenol und 2- und 3-Nitrotoluen werden alle anderen Analyten auf irgendeinem Harz stärker retardiert als auf Amberchrom selbst.

6.3.1.4 Die Elutionsreihenfolgen auf 13 Harzen

Für die Diskussion und qualitative Interpretation der Elutionsreihenfolgen auf den 13 Materialien ist in Tabelle 6.17 die Reihenfolge nach absteigenden Retentionsfaktoren sortiert. Bei der Untersuchung der Elutionsreihenfolge muß man stets berücksichtigen, daß auf keiner der Phasen eine Trennung der Analyten erfolgen kann, da es sich hier um SPE-Materialien handelt. Wie in Abbildung 6.12 zu sehen ist, sind die Peaks sehr breit; Unterschiede in der Retentionszeit müssen deshalb sehr vorsichtig diskutiert werden. Sie sollen einen ersten Eindruck geben, ob auf den jeweiligen Materialien unterschiedliche Wechselwirkungen vorherrschen oder nicht. Erst die genauere Analyse mit Hilfe des LSER-Modells kann für eine quantitative Betrachtung genutzt werden.

Tab. 6.17: Elutionsreihenfolgen von 19 Analyten auf 13 Harzen bei Methanol/Puffer (pH 2) (70:30), sortiert nach kleiner werdenden Retentionsfaktoren

AC	AC-COC3	AC-SCN	AC-C12	AC-COC2	AC-TCA
2-Nitrotoluen		4-Nitrotoluen	3-Nitrotoluen	3-Nitrotoluen	
3-Nitrotoluen		3-Nitrotoluen	4-Nitrotoluen	4-Nitrotoluen	
4-Nitrotoluen	2-Nitrotoluen	2-Nitrotoluen	2-Nitrotoluen	2-Nitrotoluen	
2-Nitrophenol	2-Nitrophenol	2-Nitrophenol	2-Nitrophenol	2-Nitrophenol	2-Nitrophenol
Acetophenon	2-Iodphenol	2-Iodphenol	2-Iodphenol	2-Iodphenol	2-Iodphenol
2-Iodphenol	Acetophenon	Acetophenon	3-Bromphenol	3-Bromphenol	3-Bromphenol
3-Bromphenol	3-Bromphenol	3-Bromphenol	Acetophenon	Acetophenon	m-Tolylsäure
m-Tolylsäure	m-Tolylsäure	m-Tolylsäure	4-Nitrophenol	4-Nitrophenol	Acetophenon
4-Nitrophenol	4-Nitrophenol	4-Nitrophenol	2-Chlorphenol	m-Tolylsäure	4-Nitrophenol
2-Chlorphenol	2-Chlorphenol	2-Chlorphenol	m-Tolylsäure	2-Chlorphenol	Benzoessäure
2-Methylphenol	2-Methylphenol	2-Methylphenol	2-Methylphenol	2-Methylphenol	2-Chlorphenol
Benzoessäure	Benzoessäure	Benzoessäure	Benzoessäure	4-Methylphenol	4-Methylphenol
4-Methylphenol	4-Methylphenol	2-Methoxyphenol	4-Methylphenol	Benzoessäure	2-Methylphenol
2-Methoxyphenol	3-Methylphenol	4-Methylphenol	3-Methylphenol	3-Methylphenol	3-Methylphenol
3-Methylphenol	2-Methoxyphenol	3-Methylphenol	2-Methoxyphenol	2-Methoxyphenol	2-Methoxyphenol
2-Fluorphenol	4-Methoxyphenol	4-Methoxyphenol	2-Fluorphenol	4-Methoxyphenol	4-Methoxyphenol
4-Methoxyphenol	2-Fluorphenol	2-Fluorphenol	Phenol	2-Fluorphenol	2-Fluorphenol
Phenol	Phenol	Phenol	4-Methoxyphenol	Phenol	Phenol
Benzylalkohol	Benzylalkohol	Benzylalkohol	Benzylalkohol	Benzylalkohol	Benzylalkohol

ENV+	AC-C8	AC-A	AC-COC1	AC-SO ₃ H	AC-CA	AC-NO ₂
3-Nitrotoluen	3-Nitrotoluen	3-Nitrotoluen	4-Nitrotoluen	4-Nitrotoluen	4-Nitrotoluen	4-Nitrotoluen
4-Nitrotoluen	4-Nitrotoluen	4-Nitrotoluen	3-Nitrotoluen	3-Nitrotoluen	3-Nitrotoluen	3-Nitrotoluen
2-Nitrotoluen	2-Nitrotoluen	2-Nitrotoluen	2-Nitrotoluen	2-Nitrotoluen	2-Nitrotoluen	2-Nitrotoluen
2-Nitrophenol	2-Nitrophenol	2-Nitrophenol	2-Nitrophenol	2-Nitrophenol	2-Nitrophenol	4-Nitrophenol
2-Iodphenol	2-Iodphenol	2-Iodphenol	2-Iodphenol	2-Iodphenol	2-Iodphenol	2-Nitrophenol
4-Nitrophenol	3-Bromphenol	3-Bromphenol	3-Bromphenol	3-Bromphenol	3-Bromphenol	2-Iodphenol
3-Bromphenol	4-Nitrophenol	4-Nitrophenol	4-Nitrophenol	4-Nitrophenol	4-Nitrophenol	Acetophenon
Acetophenon	Acetophenon	Acetophenon	Acetophenon	Acetophenon	Acetophenon	3-Bromphenol
m-Tolylsäure	2-Chlorphenol	m-Tolylsäure	m-Tolylsäure	2-Chlorphenol	m-Tolylsäure	2-Chlorphenol
2-Chlorphenol	m-Tolylsäure	2-Chlorphenol	2-Chlorphenol	m-Tolylsäure	2-Chlorphenol	2-Methoxyphenol
Benzoessäure	2-Methylphenol	2-Methylphenol	2-Methylphenol	2-Methoxyphenol	2-Methylphenol	m-Tolylsäure
4-Methylphenol	3-Methylphenol	4-Methylphenol	4-Methylphenol	4-Methylphenol	4-Methylphenol	4-Methylphenol
2-Methylphenol	4-Methylphenol	3-Methylphenol	3-Methylphenol	2-Methylphenol	3-Methylphenol	3-Methylphenol
3-Methylphenol	Benzoessäure	Benzoessäure	Benzoessäure	Benzoessäure	2-Methoxyphenol	2-Methylphenol
2-Methoxyphenol	2-Methoxyphenol	2-Methoxyphenol	2-Methoxyphenol	3-Methylphenol	Benzoessäure	4-Methoxyphenol
4-Methoxyphenol	2-Fluorphenol	4-Methoxyphenol	4-Methoxyphenol	4-Methoxyphenol	2-Fluorphenol	2-Fluorphenol
2-Fluorphenol	4-Methoxyphenol	2-Fluorphenol	2-Fluorphenol	2-Fluorphenol	4-Methoxyphenol	Phenol
Phenol	Phenol	Phenol	Phenol	Phenol	Phenol	Benzoessäure
Benzylalkohol	Benzylalkohol	Benzylalkohol	Benzylalkohol	Benzylalkohol	Benzylalkohol	Benzylalkohol

Bei einer genauen Analyse der Elutionsreihenfolgen fällt auf, daß es kaum signifikante Veränderungen in der Abfolge gibt, wie es bei den Kieselgelmaterien zu beobachten war. Dies war auch zu erwarten, da das Basismaterial Polystyren, das für alle Harze im Prinzip gleich ist, auf die Retention der Analyten einen sehr großen Einfluß hat. Die Wechselwirkung

zwischen Analyt und dem Polystyrenmaterial ist sehr dominant und kann durch funktionelle Gruppen nicht vollständig überdeckt werden. Es lassen sich aber Retentionsmuster einiger Analyten erkennen, die auf chemisch äquivalenten Phasen gleich sein sollten. Über die Retentionsmuster müßte man dann die Harze einander zuordnen können.

Zu den Analyten, die ein signifikantes Retentionsmuster bilden, gehören 4-Nitrophenol, Acetophenon, und Benzoesäure. Acetophenon ist ein großes Molekül mit keiner Acidität, einer durchschnittlichen Polarisierbarkeit und einer recht starken Basizität. Eluiert es erst sehr spät, ist es ein Zeichen für eine unpolare Phase mit geringen Anteilen polarer Eigenschaften. Auf einer solchen Phase wird Acetophenon nach 4-Nitrophenol und Benzoesäure eluieren. Diese Reihenfolge findet man auf AC und AC-COC3, die praktisch identische Reihenfolgen aufweisen, und auf AC-COC2 und AC-C12. Diese Harze sind sich in ihrer chemischen Struktur sehr ähnlich. AC-COC3 und AC-COC2 besitzen einen geringen Belegungsgrad und haben deshalb fast die gleichen Eigenschaften wie AC. Bei AC-COC2 erkennt man aber schon einen leichten Einfluß der Sauerstoffatome, da 4-Nitrophenol nach m-Tolylsäure eluiert. Das gleiche gilt für AC-C12. Diese beiden liegen mit ihren Eigenschaften zwischen der AC-Gruppe und einer zweiten Gruppe, der AC-A-Gruppe. Bei dieser Gruppe von Harzen, zu der noch AC-COC1, AC-C8, ENV+, AC-CA, AC-NO₂ und AC-SO₃H gehören, eluiert zuerst Benzoesäure, dann Acetophenon und zuletzt 4-Nitrophenol. Auf diesen Phasen gibt es scheinbar Möglichkeiten zu polaren Wechselwirkungen. Unterschiede innerhalb dieser Gruppe sind vor allem im Abstand der Analyten zueinander, also wie viele Analyten zwischen ihnen eluieren, zu finden. Beim AC-NO₂-Derivat liegen die vier Analyten am weitesten auseinander, beim ENV+ am engsten zusammen. AC-A und AC-COC1 sind in ihren Elutionsreihenfolgen praktisch identisch, auch wenn man alle Analyten in die Überlegungen mit einbezieht.

Ein komplett eigenes Verhalten zeigt AC-TCA. Auf dieser Phase scheinen Carbonsäuren stärker retardiert zu werden, da m-Tolylsäure nach den drei anderen Musteranalyten eluiert. Dies kommt auf keiner anderen Phase vor. Des weiteren wird Benzoesäure in Vergleich zu den anderen Phasen selektiv stärker zurückgehalten

Die Harze lassen sich für eine einfachere Mustererkennung in der Reihenfolge AC-Gruppe, Zwischengruppe und AC-A-Gruppe sortieren. Mehr als eine grobe Einteilung der Harze in Gruppen ist anhand der Elutionsreihenfolgen nicht möglich. Man muß auch bei der Interpretation der häufig sehr kleinen Retentionsunterschiede vorsichtig sein. Zum Beispiel haben m-Tolylsäure und Acetophenon ein Δk von 0,07, was aus Tabelle 6.16 hervorgeht. Meistens sind die Unterschiede zwischen den ausgewählten Analyten zur Mustererkennung

aber ausreichend groß, obwohl sie natürlich nicht basisliniengetrennt sind, da es sich hier nicht um Materialien für die Chromatographie handelt. Diese qualitative Analyse und die Retentionsfaktoren mit ihren absoluten Werten zeigen aber, daß die Funktionalisierung von Polystyrenmaterialien einen Einfluß auf die selektive Retentionskraft, also die absolute Verstärkung der Retention von polaren Analyten, besitzt und die Selektivität der Materialien, d.h. die Elutionsreihenfolge, hat. Wie groß der Einfluß tatsächlich ist, kann erst später diskutiert werden.

6.3.2 Basische Laufmittelbedingungen

Der zweite Teil des Kapitels 6.3 beschäftigt sich mit der Bestimmung von basischen Analyten bei basischen Laufmittelbedingungen.

6.3.2.1 Die basischen Analyten und ihre Eigenschaften

Wie oben angesprochen, sind die Phaseneigenschaften laufmittelabhängig, was sich vermutlich auch auf den pH-Wert bezieht. Bislang wurden stets nur die Phaseneigenschaften in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der mobilen Phase bezüglich ihrer Polarität bestimmt. Da sich aber die physikalisch-chemischen Eigenschaften der mobilen und stationären Phase in Abhängigkeit des pH-Wertes verändern, müssen für eine Anwendbarkeit der LSER-Gleichung einer Phase die Eigenschaften unter beiden Bedingungen bekannt sein. Bei Extraktionen von basischen Analyten wird stets ein basischer pH-Wert, für die von aciden ein saurer verwendet.

Für ihre Bestimmung werden 16 aromatische polare Analyten ausgewählt, deren Eigenschaften bekannt sind. Es handelt sich dabei um verschieden substituierte Amine und Pyridine, Pyrimidin, Pyrrol und ein Harnstoffderivat. Sie sind mit ihren Eigenschaften in Tabelle 6.18 dargestellt. Die Eigenschaften lassen sich aus literaturbekannten Tabellenwerken entnehmen [45,147], bzw. nach Gleichung 5.2 und 5.3 berechnen. [48] Die basischen Analyten unterscheiden sich deutlich von den aciden Analyten. Der Cavity-Term $V_x/100$ schwankt zwischen 0,577 und 1,073 und liegt damit deutlich unter den Werten der aciden Analyten. Die Ausprägung der Basizität und Acidität ist wie zu erwarten vertauscht und die Dipolarität bzw. Polarisierbarkeit sind in ihrer Intensität durchschnittlich gleich groß. 4-Nitroanilin zeichnet sich mit einem Wert von 1,91 durch eine extrem starke Dipolarität aus, ebenso wie 3-Nitroanilin. Sehr interessante Eigenschaften hat Phenylharnstoff, da es sowohl eine Acidität wie auch Basizität von 0,77 besitzt.

Tab. 6.18: Physikalisch-chemische Eigenschaften von 16 basische Analyten [45,147]

Analyt	R_2	π_2^H	α_2^H	β_2^H	$V_N/100$
Anilin	0,955	0,96	0,26	0,50	0,816
2-Methylanilin	0,966	0,92	0,23	0,59	0,957
3-Methylanilin	0,946	0,95	0,23	0,55	0,957
4-Methylanilin	0,923	0,95	0,23	0,52	0,957
2-Chloranilin	1,033	0,92	0,25	0,40	0,939
3-Chloranilin	1,053	1,10	0,30	0,36	0,939
4-Chloranilin	1,060	1,13	0,30	0,35	0,939
3-Nitroanilin	1,200	1,71	0,40	0,35	0,991
4-Nitroanilin	1,220	1,91	0,42	0,38	0,991
Pyridin	0,631	0,84	0,00	0,52	0,675
2-Methylpyridin	0,598	0,75	0,00	0,48	0,816
2-Ethylpyridin	0,613	0,71	0,00	0,49	0,957
3,4-Dimethylpyridin	0,676	0,85	0,00	0,48	0,957
Pyrimidin	0,606	1,00	0,00	0,65	0,634
Pyrrol	0,613	0,73	0,41	0,29	0,577
Phenylharnstoff	1,110	1,40	0,77	0,77	1,073

Da die basischen Moleküle im Durchschnitt kleiner sind als die aciden, werden andere Eigenschaften für die Retention wichtiger, wodurch ausgeprägte polare Eigenschaften einer stationären Phase die Retention eines Analyten stärker beeinflussen können.

Von den 16 Analyten werden Stammlösungen in Methanol mit einer Konzentration von ca. 1000 ng/ μ L angesetzt und im Kühlschrank gelagert. Für die Bestimmungen werden diese Lösungen auf ca. 20 ng/ μ L in Methanol/Wasser (50:50) verdünnt und für maximal eine Woche im Kühlschrank aufbewahrt. Für die Messungen der Retentionsfaktoren werden von den Injektionslösungen 20 μ L über eine Probenschleife injiziert.

6.3.2.2 Konditionieren der HPLC-Säulen und Laufmittelbedingungen

Konditionieren der Säulen

Die fertig gepackten Säulen werden für die Bestimmung der Retentionsfaktoren basischer Analyten bei einem Laufmittel mit dem pH-Wert 9 konditioniert, da die Analyten bei einem neutralen oder aciden pH-Wert ionisiert vorliegen könnten. Das Laufmittel wird durch die Verwendung eines Phosphatpuffers auf den gewünschten pH-Wert eingestellt. Die Phosphatpuffer-Stammlösung wird aus ortho-Phosphorsäure und Natrium-tri-phosphat mit einer Konzentration von ca. 100 mmol/L hergestellt und für das Laufmittel 1:10 verdünnt. Die Konditionierung der Phasen für die basischen Bedingungen verläuft nach dem unter 6.3.1.2 angegebenen Gradienten.

Bei der Konditionierung der AC-SCN Phase konnte beim basischen Laufmittel keine konstante Absorption des UV-Detektors erreicht werden. Dies ist auf eine Hydrolyse der

Rhodanidgruppe, bei der vermutlich das entsprechende Thiophenol und Cyanate entstehen, zurückzuführen. Die Hydrolysereaktion ist in Abbildung 6.13 schematisch dargestellt.

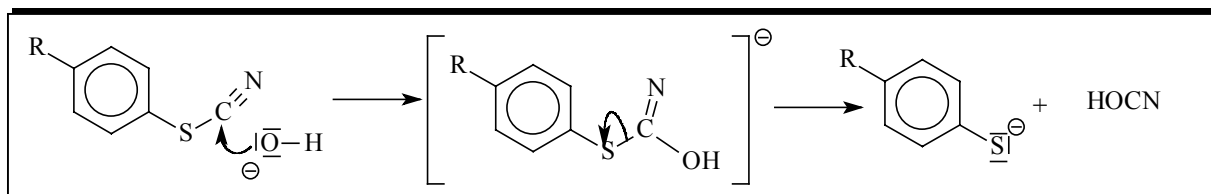


Abb. 6.13: Hydrolyseweg der Rhodanidgruppe im alkalischen Medium

Da die AC-SCN Phase im alkalischen Milieu nicht stabil ist, können die basischen LSER-Eigenschaften dieses Materials nicht bestimmt werden.

Wahl der mobilen Phase

Die Zusammensetzung der mobilen Phase ergibt sich aus den Messungen unter aciden Bedingungen. Für eine direkte Vergleichbarkeit der basischen mit den aciden LSER-Eigenschaften der Harze ist es unbedingt notwendig, das gleiche Laufmittel, also Methanol/Puffer (70:30), zu wählen. Auch hier treten bezüglich der Peakformen die bereits unter 6.3.1.2 diskutierten Probleme auf.

Bestimmung der Durchflußzeit einer unretardierten Substanz

Für die Bestimmung von t_0 wird auch hier Thioharnstoff eingesetzt, das auf allen Harzen stets vor den Analyten eluiert. Es ist also davon auszugehen, daß Thioharnstoff bei diesem Laufmittel nicht retardiert wird. Die Durchflußzeit liegt aufgrund der kurzen Säulen zwischen 0,6 und 0,8 min.

6.3.2.3 Die basischen Retentionsfaktoren

Die Retentionsfaktoren werden nach den unter 6.3.2.3 angegebenen Bedingungen bestimmt. Die Reproduzierbarkeit der Retentionszeiten ist recht gut, da die Retentionszeiten der basischen Analyten bei diesem Laufmittel lediglich zwischen 1 und 8 min. variieren. Die Auswertungen der Chromatogramme sind deshalb nicht ganz so problematisch. Die Abweichung der nach Gl. 5.2 berechneten k -Werte wird dennoch mit 3 % angegeben. In der folgenden Tabelle 6.19 sind die Retentionsfaktoren der 16 basischen Analyten auf zwölf Harzen, AC-SCN kann aufgrund von Hydrolyse nicht berücksichtigt werden, bei Methanol/Puffer (pH 9) (70:30) zusammengefaßt.

Tab. 6.19: Retentionsfaktoren von 16 Analyten auf 12 Harzen bei Methanol/Puffer (pH 9) (70:30) rote Schrift: $k_A > k_{A \text{ auf ENV+}}$, hellgrauer Kasten: $k_A > k_{A \text{ auf AC}}$

Analyt	ENV+	AC	AC-A	AC-COC1	AC-COC2	AC-COC3	AC-C8	AC-C12	AC-CA	AC-TCA	AC-NO ₂	AC-SO ₃ H
	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %	k ± 3 %
Anilin	2,740	2,571	1,946	2,722	2,859	2,342	1,750	1,815	2,174	1,712	0,532	0,336
2-Methylanilin	4,347	5,997	3,473	4,263	5,373	4,983	3,399	3,502	3,934	4,011	0,680	0,501
3-Methylanilin	4,872	4,952	3,215	3,926	4,678	4,497	3,121	3,172	3,615	3,247	0,565	0,527
4-Methylanilin	5,105	4,736	2,993	3,874	4,561	4,323	2,863	2,905	3,437	2,767	0,521	0,559
2-Chloranilin	9,356	11,457	7,782	9,625	11,502	10,747	7,650	8,094	8,335	8,014	1,549	1,429
3-Chloranilin	8,232	7,595	6,594	8,124	8,682	7,616	6,184	6,290	6,837	6,445	1,564	1,321
4-Chloranilin	7,907	6,795	5,970	7,392	8,004	6,497	5,326	5,286	6,368	5,530	1,578	1,440
3-Nitroanilin	9,753	5,647	6,890	8,154	7,667	5,736	5,184	4,956	7,168	6,178	3,187	1,356
4-Nitroanilin	10,181	3,922	7,000	8,074	6,524	4,222	4,471	3,960	7,161	6,204	4,976	1,854
Pyridin	1,627	1,159	0,531	1,101	1,110	0,981	0,522	0,565	0,724	0,877	0,070	0,086
2-Methylpyridin	2,484	2,043	0,758	1,387	1,573	1,695	0,828	0,893	1,027	1,407	0,064	0,144
2-Ethylpyridin	3,982	3,360	1,221	1,956	2,406	2,719	1,354	1,473	1,632	2,386	0,070	0,146
3,4-Dimethylpyridin	6,162	4,676	1,528	2,402	2,833	3,655	1,525	1,597	2,055	3,452	0,258	0,311
Pyrimidin	0,713	0,445	0,231	0,651	0,598	0,353	0,451	0,223	0,324	0,323	0,018	n.b.
Pyrrol	1,439	1,172	1,230	1,800	1,682	1,117	1,121	1,189	1,321	1,014	0,379	0,171
Phenylharnstoff	1,477	0,700	0,679	1,312	1,063	0,669	0,508	0,580	0,748	0,768	0,497	0,417

Anhand der Retentionsfaktoren ist zu erkennen, daß ENV+ für basische Analyten nicht mehr so retentionsstark ist wie für acide. Sieben Analyten, also fast die Hälfte der hier

ausgewählten, haben auf mindestens einem Harz einen größeren Retentionsfaktor als auf ENV+. Sie sind in der Tabelle 6.19 durch rote Zahlen hervorgehoben. Dies ist aber nicht nur auf die Funktionalisierung der Harze zurückzuführen, da 2-Methylanilin und 2-Chloranilin auf Amberchrom den größten Retentionsfaktor haben. Analyten, die aufgrund der Funktionalisierung von AC eine längere Retentionszeit als auf ENV+ haben, sind Anilin und 3- und 4-Chloranilin auf AC-COC2, sowie Pyrrol auf AC-COC1. Vergleicht man die Amberchromharze untereinander, erkennt man für mehrere Analyten eine Verstärkung der Retention auf fast allen Harzen. Sie sind in der Tabelle an den hellgrauen Kästen zu erkennen. Lediglich AC-SO₃H hat bei allen Analyten deutlich kleinere k-Werte, was im Prinzip auch auf AC-NO₂ zutrifft. Letzteres zeigt lediglich beim 4-Nitroanilin stärkere Wechselwirkungen, ein Analyt, der sich besonders durch seine extrem große Dipolarität auszeichnet. Die meisten Steigerungen im Retentionsfaktor von Analyten erkennt man auf den AC-COC-Harzen, die über eine Keto- und Ethergruppe in der aliphatischen Seitenkette verfügen. Sie können also durch die freien Elektronenpaare vornehmlich als Wasserstoffbrückenakzeptor fungieren. Betrachtet man die Analyten, bei denen keine Verbesserung der Retentionszeiten erreicht wird, stellt man fest, daß es sich dabei um alle Pyridine, Pyrimidin und 3- und 4-Methylanilin handelt. Die Pyridine sowie Pyrimidin besitzen keine Acidität, wie aus Tabelle 6.18 hervorgeht, und können somit nicht mit einer eventuell vorhandenen Basizität, einem Wasserstoffbrückenakzeptor, wechselwirken. Da ENV+ bei den Nitroanilinen die größten Retentionsfaktoren aufweist, ist dies ein deutlicher Hinweis auf eine polare Funktionalisierung.

Die qualitative Diskussion der Retentionszeiten verspricht sehr viel für die Analyse der Phaseneigenschaften mit Hilfe des LSER-Modells. Durch die Funktionalisierung des AC-Harzes konnte zum Teil eine Vergrößerung der Retentionskraft im Vergleich zu AC selbst, aber auch zum kommerziellen Harz ENV+ erzielt werden. Zuvor sollen aber noch die neuen Selektivitäten der Harze anhand der Elutionsreihenfolgen untersucht werden.

6.3.2.4 Die Elutionsreihenfolgen

Die Elutionsreihenfolgen der 16 Analyten auf den zwölf Harzen sind in der folgenden Tabelle 6.20 nach kleiner werdenden Retentionsfaktoren sortiert dargestellt. Für eine bessere Übersichtlichkeit sind die Harze in einer bestimmten Reihenfolge sortiert, die sich am Retentionsmuster von drei Analyten, 4-Nitroanilin, Anilin und 3,4-Dimethylpyridin, orientiert. Diese drei Analyten sind farblich hervorgehoben, wodurch man sehr schnell die Veränderung des Retentionsmusters erkennt.

Tab. 6.20: Elutionsreihenfolgen von 16 basischen Analyten auf zwölf Harzen bei Methanol/Puffer (pH 9) (70:30), sortiert nach kleiner werdenden Retentionsfaktoren

ENV+	AC-TCA	AC-NO ₂	AC-SO ₃ H	AC-A	AC-CA
4-Nitroanilin	2-Chloranilin	4-Nitroanilin	4-Nitroanilin	2-Chloranilin	2-Chloranilin
3-Nitroanilin	3-Chloranilin	3-Nitroanilin	4-Chloranilin	4-Nitroanilin	3-Nitroanilin
2-Chloranilin	4-Nitroanilin	4-Chloranilin	2-Chloranilin	3-Nitroanilin	4-Nitroanilin
3-Chloranilin	3-Nitroanilin	3-Chloranilin	3-Nitroanilin	3-Chloranilin	3-Chloranilin
4-Chloranilin	4-Chloranilin	2-Chloranilin	3-Chloranilin	4-Chloranilin	4-Chloranilin
3,4-Dimethylpyridin	2-Methylanilin	2-Methylanilin	4-Methylanilin	2-Methylanilin	2-Methylanilin
4-Methylanilin	3,4-Dimethylpyridin	3-Methylanilin	3-Methylanilin	3-Methylanilin	3-Methylanilin
3-Methylanilin	3-Methylanilin	Anilin	2-Methylanilin	4-Methylanilin	4-Methylanilin
2-Methylanilin	4-Methylanilin	4-Methylanilin	Phenylharnstoff	Anilin	Anilin
2-Ethylpyridin	2-Ethylpyridin	Phenylharnstoff	Anilin	3,4-Dimethylpyridin	3,4-Dimethylpyridin
Anilin	Anilin	Pyrrol	3,4-Dimethylpyridin	Pyrrol	2-Ethylpyridin
2-Methylpyridin	2-Methylpyridin	3,4-Dimethylpyridin	Pyrrol	2-Ethylpyridin	Pyrrol
Pyridin	Pyrrol	Pyridin	2-Ethylpyridin	2-Methylpyridin	2-Methylpyridin
Phenylharnstoff	Pyridin	2-Ethylpyridin	2-Methylpyridin	Phenylharnstoff	Phenylharnstoff
Pyrrol	Phenylharnstoff	2-Methylpyridin	Pyridin	Pyridin	Pyridin
Pyrimidin	Pyrimidin	Pyrimidin		Pyrimidin	Pyrimidin

AC-COC1	AC-COC2	AC-C8	AC-C12	AC-COC3	AC
2-Chloranilin	2-Chloranilin	2-Chloranilin	2-Chloranilin	2-Chloranilin	2-Chloranilin
3-Nitroanilin	3-Chloranilin	3-Chloranilin	3-Chloranilin	3-Chloranilin	3-Chloranilin
3-Chloranilin	4-Chloranilin	4-Chloranilin	4-Chloranilin	4-Chloranilin	4-Chloranilin
4-Nitroanilin	3-Nitroanilin	3-Nitroanilin	3-Nitroanilin	3-Nitroanilin	2-Methylanilin
4-Chloranilin	4-Nitroanilin	4-Nitroanilin	4-Nitroanilin	2-Methylanilin	3-Nitroanilin
2-Methylanilin	2-Methylanilin	2-Methylanilin	2-Methylanilin	3-Methylanilin	3-Methylanilin
3-Methylanilin	3-Methylanilin	3-Methylanilin	3-Methylanilin	4-Methylanilin	4-Methylanilin
4-Methylanilin	4-Methylanilin	4-Methylanilin	4-Methylanilin	4-Nitroanilin	3,4-Dimethylpyridin
Anilin	Anilin	Anilin	Anilin	3,4-Dimethylpyridin	4-Nitroanilin
3,4-Dimethylpyridin	3,4-Dimethylpyridin	3,4-Dimethylpyridin	3,4-Dimethylpyridin	2-Ethylpyridin	2-Ethylpyridin
2-Ethylpyridin	2-Ethylpyridin	2-Ethylpyridin	2-Ethylpyridin	Anilin	Anilin
Pyrrol	Pyrrol	Pyrrol	Pyrrol	2-Methylpyridin	2-Methylpyridin
2-Methylpyridin	2-Methylpyridin	2-Methylpyridin	2-Methylpyridin	Pyrrol	Pyrrol
Phenylharnstoff	Pyridin	Pyridin	Phenylharnstoff	Pyridin	Pyridin
Pyridin	Phenylharnstoff	Phenylharnstoff	Pyridin	Phenylharnstoff	Phenylharnstoff
Pyrimidin	Pyrimidin	Pyrimidin	Pyrimidin	Pyrimidin	Pyrimidin

4-Nitroanilin repräsentiert polare Analyten mit einer ausgeprägten Dipolarität bzw. Polarisierbarkeit und relativ starken Acidität. Anilin ist relativ klein, ein basischer Analyt mit einer durchschnittlichen Polarisierbarkeit bzw. Dipolarität. 3,4-Dimethylpyridin zählt zu den eher unpolaren Verbindungen, da es über keine Acidität verfügt, relativ groß und nur schwach polarisierbar ist. Es besitzt lediglich eine gewisse Basizität. Die Elutionsreihenfolge dieser drei Analyten gibt Aufschluß über die auf der stationären Phase vorherrschenden Eigenschaften. Die Betrachtung von zwei Analyten reicht für eine Einteilung der Harzeigenschaften nicht aus, da zu wenige Wechselwirkungen berücksichtigt würden.

Die Position von 4-Nitroanilin in der Rangfolge gibt Auskunft über die Dipolarität der stationären Phase. Je später dieser Analyt von der Säule eluiert, desto ausgeprägter sind die polaren Eigenschaften „Dipolarität“ und „Polarisierbarkeit“ der stationären Phase. Sie nehmen in Tabelle 6.20 von links oben nach rechts unten ab. 3,4-Dimethylpyridin wird auf relativ aciden Phasen, die nur wenig solvatisiert werden, besonders gut retardiert. Man kann solche Phasen als relativ unpolar bezeichnen. Anilin mit mittelmäßig ausgeprägten Eigenschaften wird auf Phasen mit großen polaren Anteilen stets zwischen 4-Nitroanilin und 3,4-Dimethylpyridin eluieren, auf eher unpolaren vor diesen beiden Analyten, da es das kleinste Molekül ist. Letzteres ist beim AC und AC-COC3 Harz zu beobachten.

Eine Außenseiterrolle nehmen das ENV+ und AC-TCA Harz ein, da sie anhand der Elutionsreihenfolge der Analyten zu den polaren und gleichzeitig auch zu den unpolaren Harzen zählen. 4-Nitroanilin wird auf diesen Phasen am stärksten retardiert, was auf polare Eigenschaften hindeutet. Gleichzeitig eluiert 3,4-Dimethylpyridin aber auch recht spät, ebenfalls nach Anilin, ein Sachverhalt der für eine unpolare Phase spricht.

Diese qualitative Diskussion der Elutionsreihenfolgen gibt erste Aufschlüsse über die vorherrschenden Eigenschaften auf den stationären Phasen. Sie ist jedoch zu ungenau, um alle Ergebnisse exakt zu erklären.

6.4 Die „aciden und basischen LSER-Gleichungen“ der Harze bei 70 % Methanol

Für eine genauere Betrachtung der Eigenschaften und für eine Charakterisierung der Polystyrenmaterialien erfolgt nun die Berechnung der LSER-Gleichungen für jedes Harz unter aciden und basischen Bedingungen bei dem hier gewählten Laufmittel Methanol/Puffer (70:30). Zunächst werden die aciden Eigenschaften und darauf folgend die basischen vorgestellt. Die Erkenntnisse, die anhand von LSER-Gleichungen gesammelt wurden, wurden verwendet, um neue Materialien herzustellen. Dabei sind die ermittelten Eigenschaften nicht nur laufmittelabhängig, sondern besitzen auch eine Abhängigkeit vom Belegungsgrad der Phase. Sie gelten also nur für die hier synthetisierten Phasen, deren Belegungen in Kapitel 6.2.16 zusammenfassend dargestellt sind. Da nie alle aromatischen Ringe in einem Material substituiert vorliegen, handelt es sich bei den Eigenschaften um die der vorliegenden Mischphase. Das Ziel war, möglichst retentive Harze für polare Analyten herzustellen, indem selektiv die polaren Eigenschaften der Materialien verbessert werden sollten. Eine Vergrößerung des Retentionsfaktors eines Analyten ist also eine Verbesserung der Retentionskraft des Materials.

Wie zuvor bei den Kieselgelmaterialien kann man anhand der Phasen- bzw. Systemeigenschaften der Harze eine qualitative und eine quantitative Diskussion durchführen. Die erste bezieht sich in diesem Fall nicht auf die Variation der Phaseneigenschaften mit Veränderung des Laufmittels, sondern nur auf die Eigenschaften einer Phase bei Methanol/Puffer (70:30). Über den Vergleich mit dem Ausgangsmaterial Amberchrom, unter der Voraussetzung des gleichen Laufmittels, lassen sich konkret Aussagen über die Auswirkungen der durchgeführten Derivatisierung machen. Mit Amberchrom als reinem Polystyrenmaterial hat man sozusagen ein absolutes Vergleichsmaterial, da es zu 100 % aus Kohlen- und Wasserstoff besteht. Die zweite sich anschließende Diskussion beschäftigt sich mit den normalisierten Phaseneigenschaften der Harze. In Anlehnung an die Kieselgelmaterialien kann auch hier davon ausgegangen werden, daß die Retention eines Analyten vom Belegungsgrad des Materials abhängt. Die Ausgangsbedingung ist jedoch nicht ganz dieselbe. Bei den Kieselgelphasen startet man mit einem polaren Ausgangsmaterial (Kieselgel) und verändert es durch Derivatisierung zu einem unpolaren RP-Material. Je größer die Belegung, desto unpolarer und desto stärker ist die Retention von Analyten. Amberchrom ist von sich aus ein unpolares Material, das durch Derivatisierung polare funktionelle Gruppen erhält. Je größer die Belegung mit polaren funktionellen Gruppen, desto polarer wird das Material. So gesehen hängt der Cavity-Term v , ein Maß für die freie Energie zur Lösungsmittelkäfigbildung in der solvatisierten Phase bzw. im Laufmittel, hier ebenfalls vom Belegungsgrad der Phase ab, was eine Normalisierung der polaren Phaseneigenschaften rechtfertigt. Darüber wird eine Klassifizierung der Materialien ermöglicht.

Für eine bessere Übersicht der Regressionsergebnisse und für einen direkten Vergleich der Eigenschaften der Harze befinden sich im Anhang ausklappbare Wertetabellen, die neben den Text zu legen sind.

6.4.1 Die „aciden LSER-Gleichungen“ der Harze bei 70 % Methanol

Die Bestimmung der Phaseneigenschaften bei Methanol/Puffer (pH 2) (70:30) für jedes der 13 Harze erfolgt durch multiple lineare Regression von Gleichung 2.30. Dafür werden pro Harz 19 LSER-Gleichungen aufgestellt, bei denen die fünf Phaseneigenschaften die unbekannten Variablen darstellen. Die Retentionsfaktoren der 19 Analyten sind Tabelle 6.16 zu entnehmen, die entsprechenden log k -Werte sind im Anhang zusammengestellt. Die Analyteigenschaften befinden sich in Tabelle 5.2. Wie in Kapitel 5 genauer erläutert wurde, ist es gerechtfertigt, Analyten vom Datensatz für die MLR zu entfernen.

6.4.1.1 Qualitative Analyse - Die aciden Systemeigenschaften

Zu Beginn werden die Eigenschaften von ENV+ vorgestellt und im Anschluß folgen Amberchrom und seine Derivate. Ausführliche Information über die Regressionsergebnisse befinden sich im Anhang in Kapitel 9.

Isolute® ENV+ (ENV+)

Die multiple lineare Regression für den ENV+-Datensatz liefert ein recht gutes Ergebnis, allerdings erst nachdem 2-Nitrophenol und Benzoesäure aus dem Datensatz entfernt worden sind. Die Regressionskonstante R ist mit 0,99058 (N = 17) sogar besser als für einige HPLC-Materialien, wodurch die Methode der trocken gefüllten, kurzen HPLC-Säulen gerechtfertigt wird. Die mittlere Standardabweichung (engl.: standard deviation, SD) beträgt 0,069, was einem prozentualen Fehler von 17 % (Gl. 2.35) für den berechneten k-Wert entspricht. Für ENV+ ergeben sich damit folgende acide Phaseneigenschaften:

$$\log k_{70, \text{ENV+ pH2}} = -0,97 + 0,08R_2 + 0,39\pi_2^H - 0,71\Sigma\alpha_2^H - 2,17\Sigma\beta_2^H + 2,49V_x/100$$

Von den fünf Eigenschaften sind drei, die Polarisierbarkeit r , die Dipolarität s und der Cavity-Term v , positiv, d.h. die Retention verstärkend, und zwei, die Wasserstoffbrückenacidität b und Wasserstoffbrückenbasizität a , negativ. Außerdem ist der c -Wert, der Achsenabschnitt, stark negativ und schwächt damit sehr stark die Retention jedes Analyten. Bei dem hier gewählten Laufmittel verfügt das System lediglich über eine schwache positive Polarisierbarkeit, die für die Retention von Analyten, egal wie stark deren Polarisierbarkeit ist, nur eine untergeordnete Rolle spielt. Die Dipolarität des Materials ist aber schon deutlich größer als die des Laufmittels und kann auch einen nennenswerten Beitrag zur Retention eines Analyten mit entsprechender Eigenschaft haben. Im Vergleich zu den Kieselgelmaterialien ist der Cavity-Term v mit 2,49 hier noch um einiges größer, obwohl das Laufmittel mit 70 % Methanol noch relativ unpolar ist. Demnach begünstigt die freie Energie die Käfigbildung in der solvatisierten Phase. Diese Eigenschaft hat den größten Einfluß auf die Retention. Die Acidität und Basizität der solvatisierten Phase sind deutlich kleiner als die der mobilen Phase. Besonders die Acidität b hat mit einem Wert von -2,17 einen negativen Einfluß auf die Retentionszeiten von vor allem basischen Analyten. Dies liegt an der starken Acidität von Methanol ($\alpha = 0,93$) und Wasser ($\alpha = 1,17$) (Tab. 5.13), die durch die Hydroxylgruppen im ENV+ Harz nicht kompensiert werden kann. Die Basizität des Laufmittels ist dagegen nicht ganz so ausgeprägt, wodurch der größere Wert von a mit -0,71 zu erklären ist.

Amberchrom® CG 161c (AC)

Der Amberchrom-Datensatz liefert nach dem Entfernen von 2-Nitrophenol ein sehr gutes Regressionsergebnis mit $R = 0,99285$ ($N = 18$). Die Standardabweichung für den berechneten $\log k$ -Wert beträgt 0,064, einem prozentualen Fehler für k von 16 % entsprechend. Die LSER-Gleichung für Amberchrom unter aciden Bedingungen bei 70 % Methanol ergibt folgendes Bild:

$$\log k_{70, AC \text{ pH}2} = -0,98 - 0,09R_2 + 0,20\pi_2^H - 0,92\Sigma\alpha_2^H - 2,41\Sigma\beta_2^H + 2,81V_x/100$$

Aus der Gleichung geht hervor, daß nur noch zwei Eigenschaften, die Dipolarität und der Cavity-Term, positiv sind und somit die Retention von Analyten fördern. Anhand der Veränderung der Werte kann man den Effekt, den Hydroxylgruppen auf die Eigenschaften haben, sehr schön erklären. Im Vergleich zu ENV+ hat AC eine geringere Acidität a , Basizität b , Dipolarität s und Polarisierbarkeit r . Lediglich der Cavity-Term v ist geringfügig um 0,3 Einheiten größer. Durch das Fehlen der Hydroxylgruppen entstehen zwei Effekte. Zum einen wird die stationäre Phase nicht mehr so stark solvatisiert, da die polaren Gruppen für die Wechselwirkung mit den Wasser- und Methanolkolekülen fehlen, zum anderen hat das Harz geringere Anteile an polaren Eigenschaften. Den Effekt der Hydroxylgruppen kann man hervorragend an der Acidität - sie ist um 0,2 Einheiten negativer - und der Basizität a , die bei AC sogar um 0,3 Einheiten kleiner ist, beobachten. Die Hydroxylgruppen bieten die Möglichkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken, da sie als Akzeptor und Donator fungieren können. Dies gilt für das Laufmittel als auch für die Analyten. Durch eine erhöhte Solvatisierung vergrößert sich somit die Polarität der Phase, aber auch die Energie, die zur Ausbildung eines „Lösungsmittelkäfigs“ in der stationären Phase aufgebracht werden muß, da die Kohäsivität zunimmt. Darüber ist der geringere v -Wert der ENV+ Phase zu erklären. Anhand dieser, für die Retention von Analyten deutlich schlechteren Phaseneigenschaften, sind die deutlich kleineren Retentionsfaktoren in Tabelle 6.16 zu erklären.

Die hier ermittelten Phaseneigenschaften stimmen nur z.T. mit denen für ein anderes Polystyrenmaterial (PLRP-S 100) überein [116], die allerdings bei 60 % Methanol ermittelt wurden:

$$\log k_{60} = -0,38 + 0,53R_2 - 0,09\pi_2^H - 1,22\Sigma\alpha_2^H - 2,43\Sigma\beta_2^H + 2,50V_x/100$$

Der Cavity-Term unterscheidet sich nur durch 0,3 Einheiten, die Aciditäten sind identisch und die Basizität im Rahmen der Fehler auch. Lediglich die Dipolarität und Polarisierbarkeit sind hinsichtlich ihrer Tendenz vertauscht. Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen

Laufmittel (Zusammensetzung und pH-Wert) und verschiedenen Materialien zeigen die Materialien in ihren Eigenschaften relativ gute Übereinstimmung.

Für eine Überprüfung des Einflusses der Derivatisierungsreaktion auf die Eigenschaften des AC-Harzes, wird eine komplette Synthese ohne Derivatisierungsreagenz durchgeführt. Die Elementaranalyse ergibt die gleichen Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalte wie für AC. Das Ergebnis der multiplen linearen Regression ($R = 0,99261$, $N = 18$ (ohne 2-Nitrophenol), $SD = 0,064$) liefert folgendes Ergebnis:

$$\log k_{70, AC \text{ pH}_2, \text{blind}} = -1,08 - 0,09R_2 + 0,20\pi_2^H - 0,84\Sigma\alpha_2^H - 2,42\Sigma\beta_2^H + 2,87V_x/100$$

Die Werte sind praktisch mit denen von AC zuvor identisch. Lediglich die Basizität a erscheint leicht verändert, um 0,08 Einheiten, ebenso wie v , um 0,06 Einheiten, was aber im Rahmen der Fehler (siehe Anhang) nicht ins Gewicht fällt. Demnach haben die Reaktionsbedingungen keinen Einfluß auf die Phaseneigenschaften.

Amberchrom-Acetyl (AC-A)

Auch bei dieser Phase kann 2-Nitrophenol durch das LSER-Modell nicht beschrieben werden. Nachdem es aus dem Datensatz entfernt worden ist, ergibt sich eine Regressionskonstante R von 0,99225 und eine Standardabweichung von 0,056 für den berechneten $\log k$ -Wert. Für den Retentionsfaktor berechnet sich daraus ein Fehler von 14 %.

$$\log k_{70, AC-A \text{ pH}_2} = -0,90 + 0,29R_2 + 0,27\pi_2^H - 0,52\Sigma\alpha_2^H - 2,42\Sigma\beta_2^H + 2,12V_x/100$$

Diese Phase besitzt eine Ketogruppe direkt in Nachbarschaft zum aromatischen System. Gegenüber AC hat diese Phase eine um 0,4 Einheiten erhöhte Polarisierbarkeit und eine um 0,4 Einheiten größere Basizität a . Letztere ist sogar besser als bei ENV+. Die Acidität und Dipolarität sind annähernd gleich geblieben. Durch den Sauerstoff der Ketogruppe kann die Phase sehr gut als Wasserstoffbrückenpaarakzeptor fungieren, wodurch die Steigerung im a -Wert zu erklären ist. Ebenso ist die verbesserte Polarisierbarkeit der Phase durch den Dipol zwischen den freien Elektronenpaaren des Sauerstoffs und des elektronenarmen Ringes zu erklären. Durch die Erhöhung der Polarität der Phase erfolgt aber gleichzeitig eine verstärkte Solvatisierung, wodurch die Kohäsivität der stationären Phase steigt und die Energiedifferenz für die „Käfigbildung“ zwischen stationärer und mobiler Phase geringer wird. Dies äußert sich im deutlich kleineren v Wert der AC-A Phase. Demnach sollten kleine, polarisierbare Moleküle mit einer großen Acidität auf dieser Phase stärker retardiert werden als auf AC.

Amberchrom-Monoetheracetyl (AC-COC1)

Neben der Ketogruppe besitzt dieses Harz auch eine Ethergruppe und hat einen noch größeren Belegungsgrad als AC-A. Die multiple lineare Regression liefert ohne 2-Nitrophenol und Benzoessäure eine Regressionskonstante R von 0,99143. Dies entspricht einer Standardabweichung von 0,067 für log k (17 % für k).

$$\log k_{70, \text{AC-COC1 pH2}} = -0,95 + 0,24R_2 + 0,30\pi_2^H - 0,74\Sigma\alpha_2^H - 2,41\Sigma\beta_2^H + 2,18V_x/100$$

Gegenüber AC-A ist hauptsächlich die Basizität α verändert. Sie ist um ca. 0,2 Einheiten schlechter und schwächt damit die Retention von aciden Analyten deutlich mehr als AC-A. Alle anderen Werte sind nahezu unverändert, was auch zu erwarten war, da sich die beiden Phasen strukturell sehr ähnlich sind. Vermutlich führt die Ethergruppe in direkter Nachbarschaft zur Ketogruppe zu einer weiteren Erhöhung der Solvatisierung, wodurch die Wechselwirkung zwischen Analyt und den polaren Gruppen der stationären Phase nicht mehr so gut möglich ist. Generell hat AC-COC1 aber fast die gleichen Eigenschaften wie AC-A

Amberchrom-Dietheracetyl (AC-COC2)

Bei dieser Phase ist die aliphatische Kette um eine Ethoxygruppe verlängert. Durch die Verlängerung des Moleküls ist die Belegung nur noch halb so groß wie bei AC-COC1. Nachdem auch hier 2-Nitrophenol und Benzoessäure aus dem Datensatz der 19 Analyten entfernt worden sind, ergibt sich eine Regressionskonstante R von 0,99364 und eine Standardabweichung von 0,062 für log k (17 % für k). Dies entspricht in etwa den Ergebnissen der AC Phase.

$$\log k_{70, \text{AC-COC2 pH2}} = -0,98 + 0,12R_2 + 0,30\pi_2^H - 0,87\Sigma\alpha_2^H - 2,61\Sigma\beta_2^H + 2,52V_x/100$$

Aufgrund der geringeren Belegung dieses Harzes erkennt man an den Phaseneigenschaften eine deutliche Tendenz zum reinen Amberchrom. Die Polarisierbarkeit beträgt nur noch 0,12 und die Basizität liegt mit -0,87 nur noch um 0,05 Einheiten besser als bei AC. Da der Cavity-Term mit 2,52 wieder deutlich größer ist als bei AC-A und AC-COC1 kann man davon ausgehen, daß es deutlich weniger stark solvatisiert wird und die Retention von großen Molekülen fördert. Gegenüber AC hat es aber eine verbesserte Polarisierbarkeit und Dipolarität und bietet damit Analyten mit äquivalenten Eigenschaften bessere Möglichkeiten zur Wechselwirkung.

Amberchrom-Trietheracetyl (AC-COC3)

Bei diesem Derivat ist die Etherkette wieder um eine Ethoxygruppe ergänzt, wodurch die Belegung des Harzes mit Liganden nur noch sehr gering ist. Die Regressionsergebnisse beziehen sich auf 16 Analyten, da die Retentionsfaktoren der drei Nitrotoluene nicht bestimmt werden konnten und 2-Nitrophenol erneut aus dem Datensatz entfernt worden ist. Dementsprechend ist R mit 0,98562 relativ schlecht, ebenso wie die recht große Standardabweichung (0,071). Die Retentionsfaktoren sind mit einem Fehler von 18 % behaftet.

$$\log k_{70, \text{AC-COC3 pH2}} = -1,14 - 0,07R_2 + 0,18\pi_2^H - 0,73\Sigma\alpha_2^H - 2,38\Sigma\beta_2^H + 2,90V_x/100$$

Die Eigenschaften dieses AC-Derivats sind praktisch identisch mit denen von AC. Lediglich die Basizität ist aufgrund der Keto- und Ethergruppen noch leicht verbessert (-0,73 gegenüber -0,92). Die polaren Gruppen der Liganden haben aber praktisch keinen Einfluß mehr auf den Cavity-Term v, da dieser mit 2,90 sogar geringfügig größer ist als bei AC selber. Generell verfügt AC-COC3 über die gleichen Eigenschaften wie AC. Der Belegungsgrad, also die Dichte der Substituenten, hat demnach einen großen Einfluß auf die Phaseneigenschaften.

Amberchrom-Oktyl (AC-C8)

Da AC-COC3 einen geringfügig größeren Cavity-Term besitzt als AC, sollte der Effekt einer aliphatischen Kette auf diese Phaseneigenschaft getestet werden, in der Hoffnung, daß sich v weiter vergrößert, da bei einer rein aliphatischen Kette keine Sauerstoffatome die Polarität der Phase erhöhen.

Die Regression der LSER-Gleichung ergibt mit allen 19 Analyten eine Regressionskonstante von 0,99058, einen Fehler von 0,063 für log k, der 16 % für k entspricht. Die LSER-Gleichung für diese, den ODS-Materialien ähnliche Phase, ergibt sich zu:

$$\log k_{70, \text{AC-C8 pH2 SI}} = -0,34 + 0,30R_2 + 0,23\pi_2^H - 0,82\Sigma\alpha_2^H - 2,35\Sigma\beta_2^H + 1,77V_x/100$$

Bei den Eigenschaften dieser Phase sind zwei Tendenzen sehr auffällig: der c- und der v-Wert. Bei allen anderen Materialien war der c-Wert stets deutlich negativ bei ca. -1. Hier liegt er bei -0,34 und schwächt die Retention von Analyten dadurch in einem deutlich geringeren Ausmaß. Gleichzeitig ist der Cavity-Term mit 1,77 deutlich kleiner und praktisch identisch mit dem der ODS-Phase aus Kapitel 5 bei diesem Laufmittel. Die Basizität, Acidität und Dipolarität sind identisch mit der von AC, was anhand der Substituentenstruktur auch zu erwarten war. Die Polarisierbarkeit r ist aber deutlich verbessert. Es läßt sich aufgrund des geringen v Wertes auch eine gesteigerte Solvatisierung der stationären Phase vermuten, findet aber durch die anderen polaren Eigenschaften wie Acidität und Basizität keine Bestätigung.

Für eine Überprüfung der Reproduzierbarkeit der LSER-Gleichung wird dieses Material ein zweites Mal synthetisiert, und die Retentionsfaktoren werden auf der neu gepackten Säule gemessen. Das Ergebnis der Regression sieht folgendermaßen aus ($R = 0,99058$, $N = 18$ (ohne Benzoessäure, $SD = 0,066$, 16 % für k):

$$\log k_{70, AC-C8 \text{ pH2 SII}} = -0,49 + 0,36R_2 + 0,23\pi_2^H - 0,82\Sigma\alpha_2^H - 2,49\Sigma\beta_2^H + 1,83V_x/100$$

Neben einigen geringen Abweichungen, die aber alle nicht signifikant auf ein anderes Material hindeuten, sind die Werte praktisch identisch.

Amberchrom-Dodecyl (AC-C12)

Diese Phase gleicht dem AC-C8 Derivat, besitzt lediglich eine Kette von zwölf Methylengruppen und einen geringfügig kleineren Belegungsgrad. Nach dem Entfernen von Benzoessäure liefert die multiple lineare Regression mit $R = 0,99322$ ein gutes Ergebnis. Für die $\log k$ -Werte ergibt sich daraus eine Standardabweichung von lediglich 0,059 (15 % für k).

$$\log k_{70, AC-C12 \text{ pH2}} = -0,36 + 0,29R_2 + 0,21\pi_2^H - 0,95\Sigma\alpha_2^H - 2,56\Sigma\beta_2^H + 1,85V_x/100$$

Die Phaseneigenschaften bestätigen das Ergebnis für die AC-C8 Phase. Da die Energie für den Transfer einer Methylengruppe von Wasser zu n-Hexadekan identisch ist mit der für den Transfer zu n-Pentan [90], sollte die Kettenlänge keinen Einfluß auf den Cavity-Term haben. Dies wird auch bestätigt, da sie weniger als 0,1 Einheiten auseinander liegen. Bis auf die Acidität und Basizität, die bei AC-C12 kleiner sind, sind alle anderen Werte identisch. Vermutlich ist diese Entwicklung auf die geringere Solvatisierung der stationären Phase zurückzuführen. Ein Vergleich mit AC wird hier nicht durchgeführt, da die Wertentwicklungen mit denen der AC-C8-Phase identisch sind.

Amberchrom-Chloracetyl (AC-CA)

Dieses Derivat ist dem AC-A Harz sehr ähnlich, die Belegung ist aber nur ca. halb so groß. Es verfügt neben der Ketogruppe zusätzlich über ein endständiges Chloratom. Nachdem hier Benzylalkohol und 2-Nitrophenol aus dem Datensatz der 19 Gleichungen für die multiple lineare Regression entfernt worden sind, ist R mit 0,99020 relativ gut. Die Standardabweichung beträgt 0,070. Der Fehler für k beträgt 18 %.

$$\log k_{70, AC-CA \text{ pH2}} = -1,26 + 0,38R_2 + 0,29\pi_2^H - 0,75\Sigma\alpha_2^H - 2,31\Sigma\beta_2^H + 2,34V_x/100$$

Gegenüber AC und AC-A zeichnet sich dieses Harz durch eine extrem verbesserte Polarisierbarkeit $r = +0,38$ aus, ein Effekt, der wohl dem Liganden zuzuordnen ist. Betrachtet

man die Polarisierbarkeiten von Essigsäure ($R_2 = 0,265$), Chloressigsäure ($R_2 = 0,373$) und Trichloressigsäure ($R_2 = 0,589$) [45], wird die Zunahme von r gegenüber AC verständlich. Aufgrund dieser Wertentwicklung wird das folgende AC-TCA-Derivat synthetisiert. Bis auf die Basizität sind die Eigenschaften von AC-CA denen von AC-A sehr ähnlich. Die verringerte Basizität kann auf den -I-Effekt des Chloratoms zurückzuführen sein, wodurch eine geringere Elektronendichte am Sauerstoffatom entsteht. Die Wechselwirkung des Sauerstoffs als Wasserstoffbrücken-Akzeptor ist dadurch verringert. Durch die erhöhte Polarisierbarkeit ist der Cavity-Term wiederum deutlich kleiner als bei AC, liegt mit 2,34 aber höher als beim AC-A.

Amberchrom-Trichloracetyl (AC-TCA)

Dieses AC-Derivat besitzt an der Acetylgruppe drei endständige Chloratome und ist demnach eng verwandt mit AC-A und AC-CA. Aufgrund sehr schlechter Peakformen konnten die Retentionszeiten der Nitrotoluene nicht bestimmt werden und da Benzoesäure als Ausreißer noch zusätzlich vom Datensatz entfernt wird, beziehen sich die Regressionsergebnisse auf 15 Analyten. Die Regressionskonstante beträgt 0,97404 und die Standardabweichung 0,090 (23 % für k). Obwohl die Regressionskonstante schlechtere Übereinstimmung der Daten als bei AC-CA andeutet, ist die Standardabweichung minimal besser. Dennoch ist ein Fehler über 20 % nicht zufriedenstellend.

$$\log k_{70, \text{AC-TCA pH2}} = -1,10 + 0,10R_2 + 0,32\pi_2^H - 0,86\Sigma\alpha_2^H - 2,53\Sigma\beta_2^H + 2,75V_x/100$$

Die Phaseeigenschaften des AC-TCA Derivates sind recht enttäuschend, wenn man zuvor die von AC-CA betrachtet hat. Statt einer weiter gesteigerten Polarisierbarkeit ist diese fast bis auf das Niveau von AC wieder gesunken. Die Dipolarität ist unverändert bei ca. 0,3, gleicht also der von AC-A und AC-CA, die Basizität und Acidität entsprechen der von AC, ebenso wie der Cavity-Term. Demnach hat die Trichloracetylgruppe lediglich auf die Dipolarität einen leichten Einfluß genommen.

Amberchrom-Nitro (AC-NO₂)

Bei diesem Derivat handelt sich um nitriertes Polystyren, es wurde also nicht durch eine Friedel-Crafts-Acylierung hergestellt. Die Regressionskonstante beläuft sich auf 0,98738 nachdem 2-Fluorphenol nicht mit berücksichtigt wurde, die Standardabweichung beträgt 0,091 (23 % für k) für die berechneten $\log k$ Werte. Eine Ursache für den recht großen Fehler können die sehr kurzen Retentionszeiten sein, die durch die sehr geringe Retentionskraft dieser Phase zustande kommen.

$$\log k_{70, \text{AC-NO}_2 \text{ pH}2} = -1,03 + 0,37R_2 + 1,05\pi_2^{\text{H}} - 1,12\Sigma\alpha_2^{\text{H}} - 2,14\Sigma\beta_2^{\text{H}} + 0,99V_x/100$$

Die Bestätigung der geringen Retentionskraft dieser Phase zeigt sich im sehr kleinen v Wert, der sonst immer die größte der retentionsfördernden Eigenschaften ist. Bei diesem Derivat ist die Dipolarität aber mit 1,05 größer und damit für die entsprechenden Analyten die entscheidende Größe. Diese extreme Verbesserung der Dipolarität ist aufgrund der Dipolarität von Nitrotoluen ($\pi_2^{\text{H}} = 1,11$) zu erwarten gewesen. Neben dieser Eigenschaft ist auch die Polarisierbarkeit leicht verbessert, ebenso wie die Acidität b , die sogar den von ENV+ übertrifft. Gleichzeitig ist die Basizität deutlich kleiner, was nur über eine starke Solvatisierung der Nitrogruppen erklärt werden kann. Die Nitrogruppe stellt mit ihren beiden Sauerstoffatomen eine relativ starke Wasserstoffbrückenakzeptor Base dar ($\beta_{\text{Nitrotoluen}} = 0,28$) und hat keinerlei acide Eigenschaften ($\alpha_{\text{Nitrotoluen}} = 0$), die die Basizität der Phase eigentlich verstärken und die Acidität unverändert lassen sollte. Da es aber genau anders herum ist, muß davon ausgegangen werden, daß neben der Nitrierung auch eine Sulfonierung des Aromaten stattgefunden hat. Dieses Ergebnis ist konform mit der Elementaranalyse, bei der eine Diskrepanz zwischen gemessenen Stickstoff- und berechneten Sauerstoffgehalt festzustellen war. Dieses führte zu unterschiedlichen Belegungen bei Berechnung anhand des Stickstoff- bzw. des Sauerstoffgehaltes (Kapitel 6.2.12). Diese Vermutung wird anhand der folgenden LSER-Gleichung des Sulfonsäurederivates bekräftigt.

Amberchrom-Sulfonsäure (AC-SO₃H)

Dieses Derivat wird durch eine Sulfonierung von Amberchrom hergestellt. Die Regression liefert unter Verwendung aller 19 Analyten ein zufriedenstellendes Ergebnis mit $R = 0,98499$ und einer Standardabweichung von 0,083 (21 % für k). Es ergibt sich folgende Gleichung:

$$\log k_{70, \text{AC-SO}_3\text{H pH}2} = -0,86 + 0,27R_2 + 0,58\pi_2^{\text{H}} - 1,01\Sigma\alpha_2^{\text{H}} - 1,95\Sigma\beta_2^{\text{H}} + 1,14V_x/100$$

Es ist davon auszugehen, daß die Sulfonsäuregruppe bei dem hier vorliegenden pH-Wert fast vollständig dissoziiert vorliegt, da es sich um eine sehr starke Säure handelt. Die Eigenschaften sind demnach die einer Mischphase aus unsubstituierten Ringen, dissoziierten Sulfonsäuregruppen und einem sehr geringen Teil nicht dissoziierter Gruppen. Erwartungsgemäß ist die Acidität der Phase durch die Sulfonsäure gegenüber dem reinen AC um 0,5 Einheiten deutlich verbessert. Obwohl die Sulfonsäuregruppe auch über HBA (engl.: Hydrogen-bond-acceptor, Wasserstoffbrücken-Akzeptor) Eigenschaften verfügt, ist die Basizität der Phase geringer. Eine Verbesserung ist dafür bei der Polarisierbarkeit zu

verzeichnen, die aber nicht an die der AC-NO₂-Phase heranreicht. Die Verbesserung der polaren Eigenschaften hat aber auch hier zur Folge, daß der Cavity-Term deutlich kleiner wird. Er stellt aber immer noch die größte positive Eigenschaft dar.

Amberchrom-Thiocyanat (AC-SCN)

Dieses Amberchromderivat wird über eine Rhodanierung mit Dicyan hergestellt. Nachdem 2-Nitrophenol vom Datensatz entfernt worden ist, ergibt die Regression eine Regressionskonstante R von 0,99223 und eine Standardabweichung von 0,060 (15 % für k).

$$\log k_{70, \text{AC-SCN pH2}} = -1,04 + 0,06R_2 + 0,25\pi_2^H - 0,81\Sigma\alpha_2^H - 2,02\Sigma\beta_2^H + 2,44V_x/100$$

Dieses Harz scheint besonders gut für Analyten mittlerer Größe und einer großen Acidität geeignet zu sein, da es AC in Polarisierbarkeit, Dipolarität und Basizität gleicht, aber eine verbesserte Acidität aufweist, und dies scheinbar kaum auf Kosten des Cavity-Terms v. Dies wird durch Tabelle 6.16 auch bestätigt, da Benzylalkohol ($\beta = 0,56$) und 4-Methoxyphenol ($\beta = 0,48$) auf AC-SCN länger retardiert werden als auf AC. Die Acidität der Phase kann nur durch eine Hydrolyse, die im Rahmen der Aufarbeitung stattgefunden haben könnte, erklärt werden (Abb. 6.13), wodurch Thiophenol entsteht, welches dann als HBD (engl.: Hydrogenbond-donor, Wasserstoffbrücken-Donator) Säure agiert.

6.4.1.2 Quantitative Analyse, Klassifizierung der Harze unter aciden Bedingungen

Eine Klassifizierung oder Zuordnung von Harzen mit gleichen Eigenschaften läßt sich über die normalisierten polaren Eigenschaften r/v , s/v , a/v und b/v sowie über ihre Hydrophobizität $c + v$ durchführen. Eine Klassifizierung von SPE-Materialien bezüglich ihrer Eigenschaften ermöglichen dem Analytiker eine einfache Auswahl des für sein Problem geeigneten Materials. In der folgenden Abbildung sind die normalisierten polaren Eigenschaften der 13 Harze in ansteigender Ordnung dargestellt. Die vier Diagramme sind so dargestellt, daß die Harze mit den die Retention von Analyten am meisten fördernden Eigenschaften rechts im Diagramm erscheinen.

Die normalisierten Eigenschaften enthalten Informationen über das Verhältnis zwischen hydrophilen und hydrophoben Eigenschaften der Phase. Sie sagen nichts über die absoluten Werte aus. Über die normalisierten Phaseneigenschaften kann zuerst nur eine Aussage über die Verhältnisse der Eigenschaften einer stationären Phase gemacht werden, wobei gleiche Werte große Ähnlichkeiten zwischen zwei Phasen bezüglich ihres hydrophob/hydrophil-Verhältnisses indizieren. Sie geben auch Auskunft über die Gewichtung der

Eigenschaftstypen. Am folgenden Rechenbeispiel sei demonstriert, was damit gemeint ist: $r/v = 0,5/2 = 0,25$ bedeutet, daß die hydrophobe Eigenschaft vier mal größer ist als die hydrophile Polarisierbarkeit. Eine Vergrößerung der normalisierten Polarisierbarkeit auf eins bedeutet, daß beide Werte gleich groß sind, was durch zum Beispiel 0,5/0,5 oder 2/2 zustande kommen kann. Beim ersten Fall (0,5/0,5) hat die Phase zwar die gleiche numerische Polarisierbarkeit wie im Beispiel zuvor, aber ihr v-Wert ist deutlich kleiner und somit „unwichtiger“ geworden. Im zweiten Fall (2/2) ist der v-Wert gleich groß geblieben, der r-Wert aber deutlich angestiegen, was zu einem Verhältnis von eins führt. Ebenso wie in Fall 1 sind beide Werte gleich gewichtet, so daß die Phasen bezüglich ihrer Selektivität gleich sind. Phase 2 mit den großen Werten ist aber deutlich retentiver als Phase 1, eine Aussage, die über die normalisierten Eigenschaften nicht gemacht werden kann.

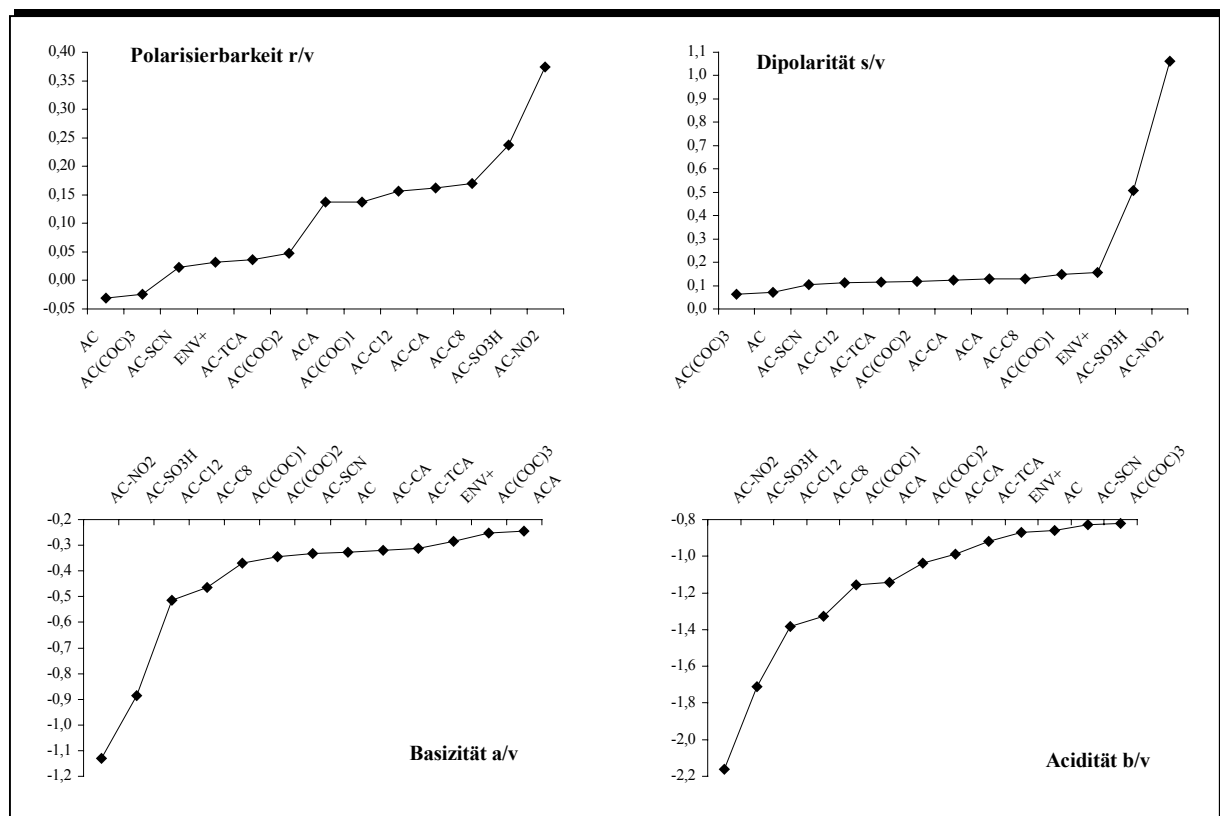


Abb. 6.14: Normalisierte Eigenschaften r/v, s/v, a/v und b/v von 13 Harzen sortiert nach ansteigenden Werten bei 70 % Methanol und pH 2

Es läßt sich auch hier nicht vermeiden, daß die Einteilung in Gruppen unterschiedlicher normalisierter Phaseneigenschaften unter Verwendung der Vorkenntnisse über die Materialien erfolgt. In Abbildung 6.14 sind die vier normalisierten polaren Eigenschaften der 13 Harze bei pH 2 und Methanol/Wasser (70:30) dargestellt. Die Unterschiede zwischen den Gruppen werden im Diagramm z.T. nicht immer deutlich, da unterschiedliche Skalierungen der y-Achsen vorliegen.

Die normalisierte Polarisierbarkeit $r/v_{70\text{ pH}2}$

Die Polarisierbarkeit gibt Auskunft über die Fähigkeit der stationären Phase, mit freien Elektronenpaaren in Wechselwirkung zu treten. In Abbildung 6.14 sind die normalisierten Polarisierbarkeiten der 13 Harze in aufsteigender Ordnung dargestellt. Aus der Abbildung wird deutlich, daß es große Unterschiede bezüglich dieser Eigenschaft zwischen den 13 untersuchten Polystyrenmaterialien gibt. Die Einteilung der Harze in Gruppen erfolgt anhand der Abbildung, die zwischen einzelnen Harzgruppen deutliche Sprünge im r/v Wert erkennen läßt. In Tabelle 6.21 sind die Materialien in vier Gruppen eingeteilt. Gruppe 1, Harze ohne Polarisierbarkeit, umfaßt Harze mit einem r/v -Wert kleiner 0, die zweite Gruppe besitzt diese Eigenschaft nur in geringem Ausmaß, was sich an Werten zwischen 0 und 0,1 zeigt. In Gruppe drei befinden sich die Harze mit einem r/v -Wert zwischen 0,1 und 0,2 und die letzte Gruppe besitzt Werte größer als 0,2. Im Verhältnis zum v -Wert spielt die Polarisierbarkeit bei den meisten Phasen eine untergeordnete Rolle, nur bei denen, die einen Quotienten von über 0,2 besitzen, hat die Polarisierbarkeit einen nennenswerten Einfluß. Dies trifft auf zwei Harze zu.

Tab. 6.21: Normalisierte Polarisierbarkeit von 13 Harzen bei 70 % Methanol und pH 2

$r/v < 0$	$0 < r/v < 0,1$	$0,1 < r/v < 0,2$	$r/v > 0,2$
AC AC-COC3	AC-SCN ENV+ AC-TCA AC-COC2	AC-A AC-COC1 AC-C12 AC-CA AC-C8	AC-SO ₃ H AC-NO ₂ PLRP-S 100 (0,21) ^a [116]

^a 60 % Methanol

Diese Einteilung konnte z.T. auch schon in Tabelle 6.17 anhand der Elutionsreihenfolgen durchgeführt werden. AC und AC-COC3 stehen dort als unpolare Harze ganz oben links, während AC-SO₃H und AC-NO₂ als sehr polar rechts unten eingeordnet wurden. AC-A befindet sich dort aber noch zwischen diesen beiden, wird hier aber in einer Gruppe mit schwächerer Polarisierbarkeit eingeordnet.

Die normalisierte Dipolarität $s/v_{70\text{ pH}2}$

Die Abbildung der Dipolaritäten der Harze zeigt ein ganz anderes Bild als das r/v -Diagramm. Fast alle Harze, mit Ausnahme von AC-SO₃H und AC-NO₂, besitzen die gleiche normalisierte Dipolarität und bilden die erste von drei Gruppen mit Werten zwischen 0 und 0,2. In der zweiten Gruppe mit s/v -Werten zwischen 0,1 und 0,2 befindet sich das sulfonierte Harz und in der dritten Gruppe mit einem s/v -Wert über eins das AC-NO₂. Es ist dabei durchaus möglich, daß es weitaus mehr Gruppierungen gibt oder das nitrierte und sulfonierte

Harz doch zu einer gemeinsamen Gruppe gehören. Da sich AC-NO₂ aber deutlich von den anderen abhebt, erscheint es gerechtfertigt, eine dritte Gruppe zu eröffnen, besonders begründet in der Tatsache, daß Unterschiede in den Phaseneigenschaften häufig nur sehr gering ausfallen. Beim Nitroderivat bedeutet der Wert von eins, daß die Phase eine gleich große Dipolarität wie „Käfigbildungstendenz“ besitzt. Bei den meisten anderen besitzt die Dipolarität lediglich 1/10 des Einflusses vom v -Wert.

Tab. 6.22: Normalisierte Dipolarität von 13 Harzen bei 70 % Methanol und pH 2

$s/v < 0,2$			$0,2 < s/v < 1,0$	$s/v > 1,0$
AC-COC3	AC-C12	ENV+	AC-SO ₃ H	AC-NO ₂
AC	AC-TCA	AC-CA		
AC-SCN	AC-A	AC-COC1		
AC-COC2	AC-C8	PLRP-S 100 (-0,04) ^a [116]		

^a 60 % Methanol

Die normalisierte Basizität $a/v_{70\text{ pH}2}$

Bei der Basizität sind die Sprünge in den Werten zwischen den Harzen nicht ganz so deutlich. Bei genauerem Betrachten lassen sich hier drei Klassen von Harzen einteilen.

Tab. 6.23: Normalisierte Basizität von 13 Harzen bei 70 % Methanol und pH 2

$a/v < -0,7$	$-0,7 < a/v < -0,4$	$a/v > -0,4$	
AC-NO ₂ AC-SO ₃ H	AC-C12 AC-C8 PLRP-S 100 (-0,49) ^a [116]	AC-CA	AC-TCA
		AC-COC1	AC-COC3
		AC-SCN	AC-A
		AC	ENV+
		AC-COC2	

^a 60 % Methanol

Ebenso wie bei der Dipolarität kann auch hier bei der Basizität die Einteilung anhand der Elutionsreihenfolgen nicht wiedergefunden werden. Dies ist auch verständlich, da sich in den Retentionsreihenfolgen von Analyten stets nur die Summe der vorhandenen Wechselwirkungen äußern. Eine detaillierte Aufschlüsselung ist dort nicht möglich.

Bei den negativen Systemeigenschaften ist die Betrachtungsweise des Quotienten anders als bei den positiven, da sie generell die Retention schwächen. Ein Wert nahe bei Null ist wünschenswert für eine starke Retention von Analyten, da dann die Systemeigenschaft im Verhältnis zum positiven Cavity-Term v relativ groß ist (nicht stark negativ).

Bei den a/v Quotienten übertrifft lediglich das nitrierte Harz den Betrag von eins, der indiziert, daß a und v in ihrer Gewichtung gleich sind, wenngleich einmal retentionsfördernd und einmal die Retention verkürzend. Bei neun Harzen erreicht die Basizität maximal 2/5 des v -Betrages und bei drei Materialien ist a ca. halb so groß wie v .

Die normalisierte Acidität $b/v_{70\text{ pH}2}$

Die Acidität ähnelt in Wertentwicklung und Abfolge sehr der Basizität. Es gibt lediglich ein paar Verschiebungen in der Gruppeneinteilung, da die Sprünge in den b/v -Werten zu einer etwas anderen Gruppeneinteilung führen. Es lassen sich aber auch diesmal wieder vier Klassen von Harzen mit signifikanten Acidität/Hydrophobizität-Verhältnissen festlegen, wie es in Tabelle 6.24 zu sehen ist.

Tab. 6.24: Normalisierte Acidität von 13 Harzen bei 70 % Methanol und pH 2

$b/v < -1,6$	$-1,6 < b/v < -1,2$	$-1,2 < b/v < -1,0$	$b/v > -1,0$	
AC-NO ₂ AC-SO ₃ H	AC-C12 AC-C8	AC-A AC-COC1 AC-COC2 AC-CA	AC-TCA AC PLRP-S 100 (-0,97) ^a [116]	AC-SCN ENV+ AC-COC3

^a 60 % Methanol

Bei der Acidität b/v werden von acht Harzen Werte deutlich über -1 erreicht, wodurch die Gewichtung der Eigenschaften der Phasen zur Acidität verschoben ist. Da sie aber eine negative Systemeigenschaft darstellt, wird die Retention eines Analyten mit gleich großer Basizität und Molekülgröße verringert und nicht verstärkt. Nur bei einer Gruppe, mit b/v größer -1,0, ist v gegenüber der Acidität noch stärker ausgeprägt.

Durch diese Klassifizierung läßt sich feststellen, wie viele Polystyrenharze sich in welchem Maße ähnlich sind, also sich jeweils in der gleichen Gruppe bei einer normalisierten Eigenschaft befinden, und dadurch die gleichen Selektivitäten zeigen:

In allen vier Eigenschaften sind gleich:

$$\begin{aligned}
 &ENV+ / AC-SCN / AC-TCA, \\
 &AC-A / AC-CA / AC-COC1, \\
 &AC-C8 / AC-C12, \\
 &AC / AC-COC3 \text{ und} \\
 &AC-NO_2 / AC-SO_3H^1.
 \end{aligned}$$

¹ Die beiden Materialien haben nur in drei Eigenschaften, r , a und b Übereinstimmung, zeigen aber in der Dipolarität die gleiche Tendenz.

Die anhand der normalisierten polaren Eigenschaften gefundenen Ähnlichkeiten von Harzen können nur z.T. durch übereinstimmende Elutionsreihenfolgen wiedergefunden werden. AC und AC-COC3 befinden sich als unpolare Harze nebeneinander links oben in der Tabelle 6.17 und ENV+ und AC-TCA stehen ebenfalls nebeneinander. Das sulfonierte und nitrierte Harz wurden anhand der Elutionsreihenfolgen als polare Harze rechts unten einsortiert. Sie sind nur durch AC-CA voneinander getrennt, welches auch in direkter Nähe zu seinen struktur-analogen Harzen AC-A und AC-COC1 steht. Dieses Ergebnis zeigt deutlich, daß die Klassifizierung von Festphasenmaterialien durch Elutionsreihenfolgen sehr ungenau sein kann, da sie von den Retentionsfaktoren einzelner Analyten abhängt. Sind sich zwei Analyten im k -Wert sehr ähnlich, kann es schnell zu einer falschen Einteilung kommen, wie es am AC-C8 und AC-C12 Derivat zu sehen ist. Diese beiden Materialien sind sich strukturell sehr ähnlich, was sich auch an gleich gewichteten Phaseneigenschaften zeigt. In Tabelle 6.17 sind sie aber als unterschiedlich eingestuft, da die Elutionsreihenfolge von Acetophenon und 4-Nitrophenol vertauscht ist.

Die Hydrophobizität H

Wie in Kapitel 5.5.2 erläutert wurde, beschreibt die Summe des Achsenabschnittes c und des Cavity-Terms v die Retention eines Analyten ohne polare Eigenschaften und einem $V_x/100$ Wert von eins. Man bezeichnet diesen Wert als Hydrophobizität der Phase. Da in Kapitel 5.5.2.5 gezeigt werden konnte, daß eine Klassifizierung von Phasen anhand ihrer „intrinsischen Hydrophobizität“, also des Quotienten $(c + v)/A$, nicht möglich ist, soll hier nur die reine Hydrophobizität H betrachtet werden.

$$H = k_{v=1 \text{ und } R, \pi, \alpha, \beta=0} = 10^{(c+v)} \quad \text{Gl. 6.3}$$

Da der v -Wert stark von den polaren Eigenschaften der Phase abhängt - je größer der Wert desto geringer die Solvatisierung der stationären Phase und um so größer die Energiedifferenz zwischen Lösungsmittelkäfigbildung in der stationären und mobilen Phase - ist er ein guter Hinweis auf die Hydrophobizität der Phase. Über die Bedeutung des c -Wertes ist leider bislang sehr wenig bekannt. Es fällt auf, daß er bei allen Harzen mit Ausnahme der Oktyl- und Dodecyl-derivate fast gleich ist. Der Mittelwert für die elf Harze liegt bei -0,96 mit einer Standardabweichung von 0,1. Die anderen beiden Harze liegen mit ihren c -Werten bei -0,35. Der Achsenabschnitt der Regressionsgeraden im 5-dimensionalen Raum ist aber bei allen Phasen negativ und verkürzt somit die Retention. Wenn man sich hypothetisch eine stationäre

Phase vorstellt, bei der alle Phaseneigenschaften 0 wären, würde also jeder Analyt auf dieser Phase den gleichen Retentionsfaktor haben, der auf jeden Fall größer 0 wäre, für den obigen Wert von -0,96 wäre k ca. 0,1. Es würde also Retention stattfinden, obwohl sonst keine Wechselwirkungen vorhanden sind. Einen solchen Fall, bei dem keine Wechselwirkungen stattfinden, hat man bei den Substanzen, die man für die Bestimmung der Durchflußzeit des Systems verwendet, also z. B. Thioharnstoff, der hier verwendet wird, oder Methanol, das als mobile Phase natürlich auch nicht retardiert würde. Berechnet man nun den $\log k$ -Wert für Methanol auf ENV+, erhält man folgende Gleichungen:

$$\log k_{\text{Methanol, 70, ENV+}} = -0,97 + 0,08 \cdot 0,278 + 0,39 \cdot 0,44 - 0,71 \cdot 0,43 - 2,17 \cdot 0,47 + 2,49 \cdot 0,308$$

$$\log k_{\text{Methanol, 70, ENV+}} = -1,14 - 0,36444$$

$$\log k_{\text{Methanol, 70, ENV+}} = -1,50444$$

$$k_{\text{Methanol, 70, ENV+}} = 0,031 \quad \text{Gl. 6.4}$$

Durch die fünf Systemeigenschaften würde Methanol einen Retentionsfaktor von ca. 2,3 ($\log k = -0,36444$) auf dieser Phase bei 70 % Methanol besitzen. Der c -Wert reduziert ihn jedoch auf 0,031 ($\log k = -1,50444$), also einer mit der Durchflußzeit identischen Retentionszeit. Die Tatsache, daß Methanol nicht retardiert wird, ist also nicht auf das Fehlen von Wechselwirkungen mit der stationären Phase zurückzuführen, sondern vielmehr auf den Grundwert c , der somit enormen Einfluß auf die Retentionsfaktoren von allen Analyten hat. Ob man den Achsenabschnitt als hydrophobe Eigenschaft betrachten kann, sei nicht weiter diskutiert, da es keine eindeutige Begründung dafür oder dagegen gibt. Aufgrund der Wichtigkeit dieses Wertes und der Tatsache, daß er mit keiner Eigenschaft eines Analyten multipliziert wird, ist es gerechtfertigt, ihn für die Berechnung der Hydrophobizität mit heranzuziehen. Die Hydrophobizität H ist demnach nach Gleichung 6.3 ein Maß für die Retention einer unpolaren Substanz. In Abbildung 6.15 sind die Hydrophobizitäten der 13 Harze bei 70 % Methanol und pH 2 in absteigender Reihenfolge dargestellt.

Die Fehler ergeben sich aus den Standardabweichungen der multiplen linearen Regressionen, die zwischen 0,05 und 0,1 liegen. Es wird hier ein durchschnittlicher Fehler von 0,08 für $\log k$ angenommen, der einem Fehler von ca. 20 % für H entspricht. Die Fehlerbetrachtung dient der Einteilung der Harze in verschiedene Gruppen von typischen Hydrophobizitäten. Da die c - und v -Werte Ergebnisse einer Regression sind, sind sie auch mit Fehlern behaftet, die bei dieser theoretischen Betrachtung der Hydrophobizitäten nicht unberücksichtigt bleiben dürfen.

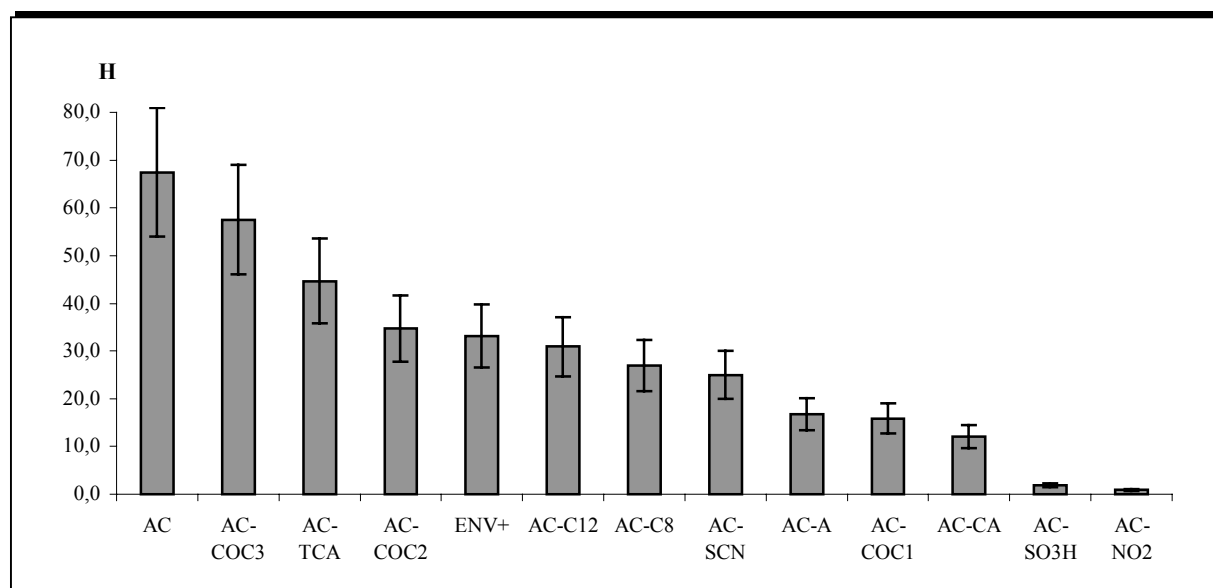


Abb. 6.15: Hydrophobizitäten von 13 Harzen bei 70 % Methanol und pH 2 in absteigender Reihenfolge

Anhand der Fehlerbalken wird deutlich, daß die Unterschiede in den Hydrophobizitäten der Harze sehr fließend sind, und eine Einteilung nur mit Vorsicht durchzuführen ist. Unter Berücksichtigung dieser Tatsache lassen sich die Harze in vier Gruppen einteilen. Sie sind in Tabelle 6.25 aufgeführt. Problematisch ist die Unterscheidung von Klasse I und II, da sich die Fehlerbalken klar überschneiden. Dennoch steigen bei AC, AC-COC3 und AC-TCA die Werte für H noch deutlich an, wodurch eine Unterteilung gerechtfertigt erscheint.

Tab. 6.25: Klassifizierung von 13 Harzen anhand ihrer Hydrophobizität bei 70 % Methanol und pH 2

I. $H < 40$ (hydrophob)	II. $20 < H < 40$	III. $10 < H < 20$	IV. $H < 10$ (hydrophil)
AC AC-COC3 AC-TCA	AC-SCN AC-C8 ENV+ AC-COC2 AC-C12	AC-CA AC-A AC-COC1	AC-NO ₂ AC-SO ₃ H

Die sich hier ergebende Einteilung entspricht in etwa der bei der Polarisierbarkeit r/v . Lediglich das Oktyl-, Dodecyl- und Chloracetylderivat sind um eine Gruppe verschoben. Man findet die gleiche Einstufung von Harzen auch in Tabelle 6.17, bei der die Einteilung mit Hilfe von Elutionsreihenfolgen durchgeführt wurde. Demnach gibt die Summe aus Cavity-Term v und Achsenabschnitt c einen zuverlässigen Hinweis auf den vorliegenden Phasentyp.

6.4.2 Die „basischen LSER-Gleichungen“ bei 70 % Methanol und Vergleich mit den aciden Systemeigenschaften

Die Berechnung der basischen LSER-Eigenschaften erfolgt durch multiple lineare Regression von Gleichung 2.30 unter Verwendung der Analyteigenschaften und der gemessenen Retentionsfaktoren bei pH 9 der 16 basischen Analyten. Die entsprechenden Werte sind den

Tabellen 6.18 und 6.19 zu entnehmen. Die Regressionsergebnisse für die basischen Eigenschaften haben nicht die Qualität, wie sie zuvor unter sauren Bedingungen erreicht wurde. Dies ist auf die häufig sehr kurzen Retentionszeiten und auf die etwas geringere Anzahl von Analyten zurückzuführen.

6.4.2.1 Qualitative Analyse - Die basischen Systemeigenschaften

Die Reihenfolge der Vorstellung der basischen Eigenschaften ist die gleiche wie in Kapitel 6.4.1.1. Neben der Diskussion der Werte erfolgt auch ein Vergleich mit den in Kapitel 6.4.1.1 vorgestellten aciden Eigenschaften der Harze.

Isolute® ENV+ (ENV+)

Die Regressionsergebnisse für zwei Säulen dieses Materials sind sehr gut. Mit allen 16 Analyten ergeben sich Regressionskonstanten R von 0,99063 (SI) und 0,98883 (SII) und Standardabweichungen von 0,059 bzw. 0,063 für log k, was einem Fehler für k von 15 bzw. 16 % entspricht. Die Gleichungen ergeben sich folgendermaßen, wobei die Übereinstimmung sehr gut ist:

$$\begin{aligned}\log k_{70, \text{ENV+ pH9 SI}} &= -0,42 + 0,79R_2 - 0,11\pi_2^H - 0,68\Sigma\alpha_2^H - 1,61\Sigma\beta_2^H + 1,54V_x/100 \\ \log k_{70, \text{ENV+ pH9 SII}} &= -0,38 + 0,79R_2 - 0,10\pi_2^H - 0,66\Sigma\alpha_2^H - 1,57\Sigma\beta_2^H + 1,52V_x/100\end{aligned}$$

Aufgrund der besseren Regressionsergebnisse für Säule I, werden im weiteren Verlauf die Eigenschaften dieser Säule verwendet.

Es ist davon auszugehen, daß die Hydroxygruppen im ENV+ bei pH 9 nur zu einem vernachlässigbar kleinen Teil dissoziiert vorliegen, da das analoge 4-Methylphenol in einer Methanol/Wasser-Mischung (70:30) einen pK_s-Wert von 11,5 besitzt. [148] Der Anteil an Phenolationen bei pH 9 ist demnach geringer als 0,5 %.

Zwei der fünf Eigenschaften, die Polarisierbarkeit r und der Cavity-Term v, sind positiv und fördern die Retention von Analyten. Die anderen, ebenso wie der Achsenabschnitt c, sind negativ. Die Basizität a vom ENV+ Material ist deutlich größer als die Acidität, was durch die vorhandene Hydroxylgruppe im Material erklärt werden kann.

Der Blick auf die Systemeigenschaften unter aciden Bedingungen zeigt, daß sich durch den veränderten pH-Wert der mobilen Phase hier andere Systemeigenschaften ergeben. Der Cavity-Term ist bei pH 9 um 1,0 Einheiten kleiner; dies bedeutet, der Energiegewinn bei der Lösungsmittelkäfgebildung in der solvatisierten stationären Phase aufgebracht werden muß, ist kleiner oder der Energieaufwand für die Käfgebildung in der mobilen Phase ist größer

geworden. Da sich die Zusammensetzung der mobilen Phase nicht verändert hat, ist wohl eher ersteres anzunehmen. Während die Basizität dieses Systems bei beiden pH-Werten praktisch identisch ist, ist die Acidität bei pH 9 um 0,8 Einheiten erhöht. Letzteres ist über die Veränderung der Acidität des Laufmittels zu erklären, aber es wäre zu erwarten gewesen, daß auch die Systembasizität mit der pH-Wert Änderung variiert. Entscheidend verschlechtert ist die Dipolarität bei pH 9, da sie negativ ist, während sie unter aciden Bedingungen positiv ist. Die Polarisierbarkeit ist dafür bei pH 9 um das 13-fache erhöht.

Nach diesen Ergebnissen wird deutlich, daß die Systemeigenschaften nicht nur von der Zusammensetzung der mobilen Phase bezüglich des organischen Anteils abhängen, sondern auch vom pH Wert.

Amberchrom

Auch beim Amberchrom wurden die Retentionsfaktoren auf zwei verschiedenen Säulen bestimmt. Die Übereinstimmung der Systemeigenschaften ist auch hier wieder recht gut. Nachdem 2-Methylanilin vom Datensatz entfernt wird, sind die Regressionskonstanten 0,99055 und 0,98900, die SD betragen 0,069 und 0,075, was einem Fehler für k von 17 und 19 % entspricht. Für weitere Berechnungen werden die Daten von Säule I verwendet.

$$\log k_{70, AC \text{ pH}9 \text{ SI}} = -0,35 + 1,46R_2 - 0,65\pi_2^H - 0,86\Sigma\alpha_2^H - 1,77\Sigma\beta_2^H + 1,44V_x/100$$

$$\log k_{70, AC \text{ pH}9 \text{ SII}} = -0,39 + 1,44R_2 - 0,66\pi_2^H - 0,83\Sigma\alpha_2^H - 1,79\Sigma\beta_2^H + 1,51V_x/100$$

Auch hier sind zwei Eigenschaften, r und v, positiv und alle anderen negativ. Im Vergleich zum ENV+ besitzt die solvatisierte Phase bei AC eine um den Faktor zwei größere Polarisierbarkeit, während die Dipolarität um den Faktor sechs geringer ist. Die Acidität der beiden Phasen ist ebenso wie der Cavity-Term vergleichbar. Die Basizität von AC ist minimal weniger ausgeprägt als die von ENV+. Mit der Polarisierbarkeit und dem Cavity-Term gibt es zwei gleich gewichtete positive Eigenschaften.

Die Veränderung der Systemeigenschaften von AC zwischen aciden und basischen Bedingungen zeigt die gleiche Tendenz wie zuvor bei ENV+. Die Basizität ist wieder identisch, v und s sind kleiner und r ebenso wie b deutlich erhöht. Allerdings sind die Tendenzen in beide Richtungen z. T. stärker ausgeprägt.

Amberchrom-Acetyl

Ebenso wie bei den beiden Harzen zuvor werden die basischen LSER-Daten vom AC-A-Derivat von zwei Säulenfüllungen bestimmt. Säule I, bei der alle 16 Analyten für die Regression verwendet wurden, zeichnet sich durch eine Regressionskonstante R von nur

0,98127 und einer Standardabweichung von 0,11 (28,8 % für k) aus. Säule II dagegen, bei der 2-Methylanilin aus dem Datensatz herausgenommen wurde, besitzt eine bessere Regression der LSER-Gleichung mit $R = 0,98914$ ($SD = 0,088$, 22 % für k).

$$\log k_{70, AC-A_{pH9} SI} = -0,59 + 1,95R_2 - 0,52\pi_2^H - 0,42\Sigma\alpha_2^H - 2,02\Sigma\beta_2^H + 0,88V_x/100$$

$$\log k_{70, AC-A_{pH9} SII} = -0,46 + 1,79R_2 - 0,43\pi_2^H - 0,39\Sigma\alpha_2^H - 2,14\Sigma\beta_2^H + 0,85V_x/100$$

Die Daten stimmen hier ebenfalls relativ gut überein, lediglich bei der Polarisierbarkeit r gibt es eine Differenz von 0,16. Da die Regressionsergebnisse von Säule II besser sind, werden im weiteren Verlauf deren Eigenschaften diskutiert.

Im Vergleich zum underivatisierten AC besitzt AC-A eine gesteigerte Polarisierbarkeit und Dipolarität, während der c-Wert gleich bleibt. Ganz erstaunlich ist die deutlich verbesserte Basizität mit -0,39. Dies ist vermutlich durch eine vermehrte Anlagerung von Hydroxylgruppen an den Sauerstoff der stationären Phase über Wasserstoffbrückenbindungen zu erklären, was zu einer Erhöhung der basischen Anteile in der solvatisierten stationären Phase gegenüber der mobilen Phase führt. Darüber ist auch die deutlich schlechtere Acidität der Phase zu erklären. Der Cavity-Term ist mit 0,85 sehr klein und ist ein Indiz für eine ausgeprägte Solvatisierung der Phase.

Auch hier zeigt der Vergleich mit pH 2 die gleichen Wertentwicklungen wie bei den anderen Harze. Die Polarisierbarkeit ist deutlich erhöht, ebenso die Acidität b, dagegen liegt die Dipolarität hier um 0,7 Einheiten kleiner.

Amberchrom-Monoetheracetyl (AC-COCl)

Bei diesem Derivat wurden die LSER-Daten ebenfalls von zwei Säulen ermittelt. Es zeigte sich, nachdem bei beiden Datensätzen Anilin entfernt wurde, eine sehr gute Übereinstimmung der Systemeigenschaften. Die Regressionskonstanten R sind mit 0,98519 und 0,99223 recht gut, ebenso wie die Standardabweichungen von 0,079 und 0,058 (20 und 14 % für k).

$$\log k_{70, AC-COCl_{pH9} SI} = -0,18 + 1,74R_2 - 0,36\pi_2^H - 0,49\Sigma\alpha_2^H - 1,37\Sigma\beta_2^H + 0,40V_x/100$$

$$\log k_{70, AC-COCl_{pH9} SII} = -0,20 + 1,77R_2 - 0,40\pi_2^H - 0,48\Sigma\alpha_2^H - 1,44\Sigma\beta_2^H + 0,40V_x/100$$

Im Rahmen der Fehler sind die Systemeigenschaften praktisch identisch, verwendet werden aber im weiteren Verlauf die von Säule II. Man erkennt gegenüber Amberchrom, daß alle polaren Eigenschaften deutlich verbessert sind, was zum einen auf die funktionellen Gruppen, aber auch auf eine gesteigerte Solvatisierung zurückzuführen ist. Die Solvatisierung der Phase äußert sich auch am sehr kleinen Cavity-Term. Besonders auffällig ist die deutlich verbesserte Acidität dieses Systems, die sogar die von ENV+ übersteigt.

Der Vergleich mit den aciden Eigenschaften dieser Phase zeigt diesmal eine verbesserte Basizität bei pH 9, eine Tendenz, die zuvor bei AC-A schwach angedeutet ist. Die Verbesserung ist eventuell durch die Sauerstoffatome im Liganden zu erklären, die als HBA-Basen fungieren können.

Amberchrom-Dietheracetyl (AC-COC2)

Nachdem hier 2-Methylanilin aus dem Datensatz der Retentionsfaktoren entfernt wurde, ergibt sich eine Regressionskonstante R von 0,99028, und eine Standardabweichung von 0,068 (17 % für k).

$$\log k_{70, \text{AC-COC2 pH9}} = -0,23 + 1,97R_2 - 0,60\pi_2^H - 0,66\Sigma\alpha_2^H - 1,50\Sigma\beta_2^H + 0,57V_x/100$$

Die Eigenschaften von AC-COC2 ähneln sehr denen von AC-COC1. Wie zu erwarten, ist der Cavity-Term aber aufgrund der geringeren Belegung mit polaren funktionellen Gruppen geringfügig größer. Die Tendenz zur schwächeren Solvatisierung zeigt sich auch bei den polaren Eigenschaften, die alle bis auf r kleiner sind.

Da sich AC-COC1 und AC-COC2 chemisch sehr ähnlich sind, ist auch hier die gleiche Wertentwicklung zwischen aciden und basischen Bedingungen zu beobachten. Die Polarisierbarkeit r ist um 1,8 Einheiten größer, die Basizität um 0,2 und die Acidität um 1,0 Einheiten. Der Cavity-Term ist dafür um 2,0 und die Dipolarität um 0,9 Einheiten kleiner.

Amberchrom-Trietheracetyl (AC-COC3)

Bei diesem Derivat zeigte sich 2-Methylanilin als „Outlier“ und wurde aus dem Datensatz entfernt. Die Regressionskonstante R beträgt 0,99101 (N = 15) und die Standardabweichung 0,070 (17 %).

$$\log k_{70, \text{AC-COC3 pH9}} = -0,41 + 1,56R_2 - 0,64\pi_2^H - 0,79\Sigma\alpha_2^H - 1,88\Sigma\beta_2^H + 1,38V_x/100$$

Die Eigenschaften von AC-COC3 sind im Rahmen der Fehler praktisch identisch mit denen von AC. Dies war aufgrund des geringen Belegungsgrades auch zu erwarten. Ebenso ergibt der Vergleich mit den aciden Systemeigenschaften das gleiche Bild wie bei AC.

Amberchrom-Oktyl (AC-C8)

Bei diesem Derivat ergibt sich für N = 14 (ohne Pyrimidin und 2-Methylanilin) eine Regressionskonstante von 0,98476 (SD = 0,088) und liefert damit das schlechteste Regressionsergebnis für die basischen LSER-Gleichungen.

$$\log k_{70, \text{AC-C8 pH9}} = -0,41 + 1,79R_2 - 0,62\pi_2^H - 0,45\Sigma\alpha_2^H - 2,24\Sigma\beta_2^H + 1,04V_x/100$$

Im Vergleich zu AC fällt besonders die erhöhte Basizität und die verringerte Acidität auf. Erwartungsgemäß hat die aliphatische Kette kaum Einfluß auf die Dipolarität der Phase.

Dagegen zeigt der Vergleich zwischen aciden und basischen Eigenschaften ein etwas anderes Bild. Der Cavity-Term ist um 0,7 kleiner und die Acidität fast identisch. Dafür ist die Basizität um 0,4 Einheiten verbessert. Die Dipolarität verringert sich um 0,8 und die Polarisierbarkeit erhöht sich um 1,5 Einheiten.

Amberchrom-Dodecyl (AC-C12)

Bei der Regression werden hier 15 Analyten berücksichtigt (-2-Methylanilin). R ergibt sich daraus zu 0,99038 und die SD zu 0,077 (19 %).

$$\log k_{70, \text{AC-C12 pH9}} = -0,37 + 1,77R_2 - 0,65\pi_2^H - 0,43\Sigma\alpha_2^H - 2,07\Sigma\beta_2^H + 0,97V_x/100$$

AC-C12 hat wegen der strukturellen Ähnlichkeit mit AC-C8 auch fast identische Systemeigenschaften. Es ist lediglich eine bessere Acidität b zu verzeichnen. Der Vergleich mit pH 2 zeigt wieder einen deutlich kleineren Cavity-Term v und eine verbesserte Acidität b. Die Basizität ist um 0,5 Einheiten verbessert, dafür die Dipolarität um eins kleiner.

Amberchrom-Chloracetyl (AC-CA)

Das Regressionsergebnis für AC-CA ist recht gut, nachdem 2-Methylanilin nicht berücksichtigt wurde. R beträgt 0,98920 und die SD 0,080.

$$\log k_{70, \text{AC-CA pH9}} = -0,37 + 1,62R_2 - 0,39\pi_2^H - 0,51\Sigma\alpha_2^H - 2,00\Sigma\beta_2^H + 0,90V_x/100$$

Die Ähnlichkeit von AC-CA mit AC-A zeigt sich in den Systemeigenschaften. Die Dipolarität und Acidität sind sehr ähnlich, ebenso wie der Cavity-Term v. Die Polarisierbarkeit r und Basizität a sind allerdings etwas kleiner.

Der Unterschied zwischen den aciden und den basischen Eigenschaften von AC-CA betrifft hauptsächlich r, s und v, die die gleichen Verstärkungen und Schwächungen wie zuvor bei AC-A verzeichnen.

Amberchrom-Trichloracetyl (AC-TCA)

Auch hier ist 2-Methylanilin wieder der einzige „Outlier“. Mit N = 15 ergibt sich für R ein Wert von 0,98959 und für die SD 0,074 (19 %).

$$\log k_{70, \text{AC-TCA pH9}} = -0,51 + 1,02R_2 - 0,27\pi_2^H - 0,62\Sigma\alpha_2^H - 2,00\Sigma\beta_2^H + 1,55V_x/100$$

Anhand der Elutionsreihenfolgen in Tabelle 6.20 war bereits eine Ausnahmestellung der

beiden Harze ENV+ und AC-TCA zu erkennen und dies zeigt sich auch bei den Systemeigenschaften. Die Phaseneigenschaften von AC-TCA ähneln in hohem Maße denen von ENV+. Durch die Derivatisierung konnte v , a und s leicht bis stark verbessert werden. Lediglich die Acidität b und die Polarisierbarkeit sind leicht verschlechtert.

Amberchrom-Nitro (AC-NO₂)

Anhand dieser Phase soll gezeigt werden, wie groß der Einfluß einzelner Analyten auf das Ergebnis der multiplen linearen Regression ist. Zuvor war häufig nur eine Substanz ein Outlier, hier sind aber alle Retentionsfaktoren aufgrund der extrem kurzen Retentionsfaktoren sehr unsicher. In Abbildung 6.16 sind die Systemeigenschaften der AC-NO₂ Phase für Regressionen mit 16, 15 und 14 Analyten dargestellt.

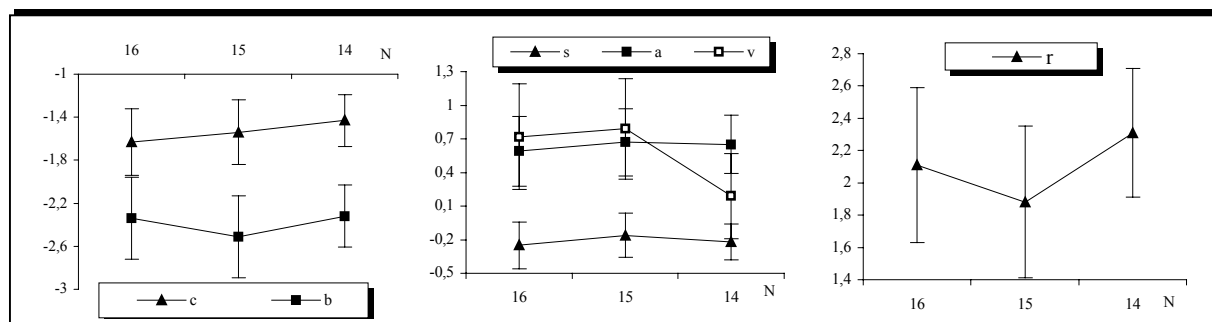


Abb. 6.16: Abhängigkeit der Systemeigenschaften von AC-NO₂ von der Anzahl der für die Regression verwendeten Analyten

Bei der Regression mit 15 Analyten wurde 2-Methylanilin nicht berücksichtigt, bei der mit 14 zusätzlich 3,4-Dimethylpyridin. Mit geringer werdender Anzahl von verwendeten Analyten wird die Regressionskonstante besser und die Fehler der Eigenschaften werden kleiner. Der Achsenabschnitt sowie die Basizität a werden in der gleichen Reihenfolge größer oder bleiben konstant. Die anderen Eigenschaften zeigen jedoch schwankende Wertentwicklungen. Für weitere Untersuchungen wird die Regression mit 14 Analyten verwendet ($R = 0,99110$, $SD = 0,122$, 32% für k), die folgende Gleichung liefert:

$$\log k_{70, AC-NO_2 pH9} = -1,43 + 2,31R_2 - 0,22\pi_2^H + 0,65\Sigma\alpha_2^H - 2,32\Sigma\beta_2^H + 0,19V_x/100$$

Die AC-NO₂-Phase fällt besonders durch eine positive Basizität auf. Ein positiver Wert bedeutet, daß die Basizität der stationären Phase größer ist als die der mobilen. Dies war zuvor bei keinem anderen Harz der Fall. Die Phase fällt aber auch durch einen extrem kleinen Cavity-Term auf, der mit 0,19 praktisch nicht zur Retention von Analyten beiträgt. Gegenüber AC besitzt diese Phase eine verschlechterte Acidität b und einen deutlich kleineren c Wert, der dadurch mitentscheidend für sehr kurze Retentionszeiten ist. Die Polarisierbarkeit bzw. Dipolarität ist hier extrem gut ausgeprägt.

Beim Vergleich mit den aciden Eigenschaften fällt besonders die Basizität auf. Während sie auf anderen Harzen im Vergleich zwischen pH 2 und 9 sehr häufig gleich oder nur schwach verbessert erschien, ist sie auf AC-NO₂ um 1,8 Einheiten erhöht und sogar positiv. Vermutlich spielt hier die unterschiedliche Solvatisierung der Nitrogruppe die entscheidende Rolle.

Amberchrom-Sulfonsäure (AC-SO₃H)

Ebenso wie beim Harz zuvor sind die Retentionszeiten auf AC-SO₃H sehr kurz, was zu relativ schlechten Regressionen führt. Für N = 15 (t_R von Pyrimidin konnte nicht bestimmt werden) ergibt sich eine Regressionskonstante R von 0,98485 und eine Standardabweichung von 0,093 (24 %).

$$\log k_{70, \text{AC-SO}_3\text{H pH9}} = -1,78 + 1,68R_2 - 0,32\pi_2^{\text{H}} + 0,03\Sigma\alpha_2^{\text{H}} - 1,65\Sigma\beta_2^{\text{H}} + 1,15V_x/100$$

Das Harz besitzt ebenfalls wie das Nitroderivat eine positive Basizität. Die Sulfonsäuregruppe liegt bei pH 9 vollständig deprotoniert vor und kann somit sehr gut als HBA Base fungieren, was diesen positiven Wert erklärt. Erstaunlich ist allerdings der recht große Cavity-Term, der normalerweise bei sehr polaren Phasen aufgrund starker Solvatisierung viel kleiner ist. Da aber der c-Wert, dessen chemisch-physikalische Bedeutung nicht geklärt ist, sehr klein ist, eluieren Analyten auf dieser Phase sehr früh.

Die Basizität ist aufgrund der Deprotonierung der Sulfonsäuregruppe bei pH 9 positiv, hätte aber auch schon bei pH 2 diese Tendenz zeigen müssen, da die Sulfonsäuregruppe auch dort zum größten Teil deprotoniert vorliegt. Daher ist auch der unter basischen und aciden Bedingungen identische Cavity-Term verständlich, da sich die Solvatisierung der stationären Phase kaum verändern dürfte. Die deutlich Verbesserung der Basizität bei pH 9 liegt vermutlich an der Solvatisierung durch Hydroxidionen, während bei pH 2 eine Solvatisierung durch Protonen bzw. Hydroniumionen erfolgt.

6.4.2.2 Quantitative Analyse, Klassifizierung der Harze unter basischen Bedingungen

Nachdem im Kapitel zuvor die Phaseneigenschaften qualitativ betrachtet wurden, soll in diesem Kapitel wie zuvor unter aciden Bedingungen eine Klassifizierung der Harze durchgeführt werden. Dafür werden ebenfalls die normalisierten Phaseneigenschaften herangezogen, die Auskunft über die Gewichtung von verschiedenen Eigenschaften geben (siehe Kapitel 6.4.1.2). Normalerweise ist zu erwarten, daß die Harze auch unter basischen Bedingungen die gleichen Klassifizierungen wie unter aciden zeigen, da es sich um die exakt

gleichen Polystyrenmaterialien handelt. Die veränderte mobile Phase kann aber zu unterschiedlichen Solvatisierungen führen, wodurch Harze, die unter aciden Bedingungen die gleichen Selektivitäten besitzen, sich jetzt deutlich unterscheiden. Das gleiche gilt auch für die Hydrophobizität H , die als Maß für die Retention eines Analyten ohne polare Eigenschaften angesehen wird. Aus diesem Grund ist die separate Betrachtung von basischen und aciden Systemeigenschaften sehr wichtig. In Abbildung 6.17 sind die vier normalisierten polaren Eigenschaften der Harze dargestellt. Sie ergeben ein ganz anderes Bild der Gewichtungen der polaren Eigenschaften im Verhältnis zum v -Wert als die aciden Werte. Während der Quotient zuvor bei den sauren Eigenschaften nur sehr selten den Wert von 1, der ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen der polaren und unpolaren Eigenschaft indiziert, erreicht wurde, werden bei den basischen sogar Werte von 13 erreicht. Diese Tatsache spricht für eine deutliche Veränderung der solvatisierten Phasen durch die Änderung des pH-Wertes. Es ist zu erwarten, daß die Selektivitäten der Harze im sauren und basischen Milieu nicht die gleichen sind.

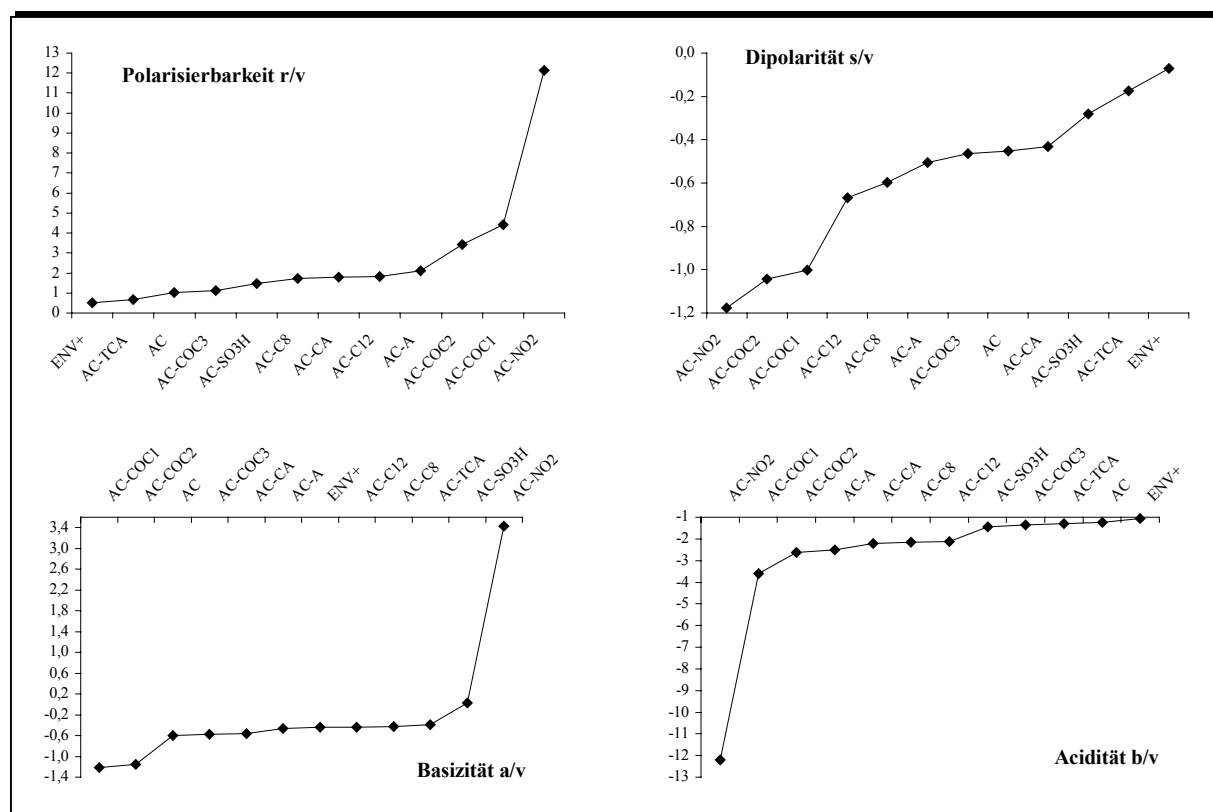


Abb. 6.17: Normalisierte Eigenschaften r/v , s/v , a/v und b/v von zwölf Harzen sortiert nach ansteigenden Werten bei 70 % Methanol und pH 9

Die Diagramme der normalisierten Eigenschaften sind die Grundlage für die Einteilung der Harze in verschiedene Gruppen. Da die Systemeigenschaften aufgrund schlechter Regres-

sionen häufig mit großen Fehlern behaftet sind, werden die Gruppenbegrenzungen nur sehr vorsichtig ausgewählt.

Die normalisierte Polarisierbarkeit $r/v_{70\text{ pH }9}$

Die Polarisierbarkeiten aller zwölf Harze sind positiv und der Quotient r/v liegt zwischen 0,50 (ENV+) und ca. 13 (AC-NO₂). Der Einfluß dieses Wertes auf die Retention von Analyten hat damit im Vergleich zu den aciden Bedingungen (ca. -0,05 bis 0,40) um ein Vielfaches zugenommen. Wie zu erwarten, besitzt auch hier das Nitroderivat die mit Abstand größte Polarisierbarkeit, aber erstaunlicherweise spielt diese bei ENV+ mit 0,51 eine eher untergeordnete Rolle, wenngleich ein solcher Wert unter aciden Bedingungen den größten Wert darstellen würde. In Tabelle 6.26 sind drei Gruppen von Harzen mit signifikant unterschiedlicher Polarisierbarkeit dargestellt.

Tab. 6.26: Normalisierte Polarisierbarkeit von zwölf Harzen bei 70 % Methanol und pH 9

$r/v < 3,0$		$3,0 < r/v < 5,0$	$r/v > 5,0$
ENV+	AC-SO ₃ H	AC-COC2 AC-COC1	AC-NO ₂
AC-TCA	AC-C8		
AC	AC-CA		
AC-COC3	AC-C12		
AC-A			

Die hier zu beobachtende Einteilung in Klassen kann anhand der Elutionsreihenfolgen in Tabelle 6.20 nicht nachvollzogen werden. Zwar sind AC-COC1 und AC-COC2 nebeneinander eingeordnet, befinden sich aber in der Mitte der Klassifizierung in Tab. 6.20. Demnach hat die Polarisierbarkeit nur bedingt Einfluß auf die Selektivitäten der Phasen und muß durch weitere Eigenschaften ergänzt werden.

Die normalisierte Dipolarität $s/v_{70\text{ pH }9}$

Wie unter aciden Bedingungen zuvor lassen sich auch hier bei der Dipolarität drei Klassen von Harzen bilden, die sich durch deutliche Stufen im s/v -Diagramm zeigen. Es lassen sich zwei deutliche Abstufungen bei ca. -0,8 und -0,3 erkennen. Damit wird schon klar, daß alle Dipolaritäten negativ sind, obwohl sie unter aciden Bedingungen positive Systemeigenschaften darstellen. In Tabelle 6.27 sind die Gruppen von Harzen gemäß ihrer Dipolaritäten dargestellt.

Tab. 6.27: Normalisierte Dipolarität von zwölf Harzen bei 70 % Methanol und pH 9

$s/v < -0,8$	$-0,8 < s/v < -0,3$		$s/v > -0,3$
AC-COC2	AC-C12	AC-COC3	AC-SO ₃ H
AC-COC1	AC-A	AC	AC-TCA
AC-NO ₂	AC-C8	AC-CA	ENV+

Auf drei Harzen, AC-SO₃H, AC-TCA und ENV+, ist die Dipolarität im Verhältnis zum Cavity-Term besonders gut ausgebildet, während bei der AC-NO₂-Phase und den AC-COC1- und AC-COC2-Phasen diese Eigenschaft gering ausgeprägt ist. Diese Gruppierung ist eine ganz andere als bei den aciden normalisierten Eigenschaften. Dort fallen das Nitro- und Sulfonsäurederivat mit großen Werten auf, während alle anderen zu einer Gruppe gehören.

Die Ähnlichkeit dieser Gruppeneinteilung mit den Elutionsreihenfolgen ist relativ gering. Einzelne Harzpaare, die in Tabelle 6.20 nebeneinander liegen, zeigen hier zwar identische normalisierte Dipolaritäten, das Gesamtbild stimmt aber nicht. Dies ist ein weiterer Hinweis auf die ausgeglichene Bedeutung der vier polaren Eigenschaften.

Die normalisierte Basizität $a/v_{70\text{ pH }9}$

Die Basizität a/v , die die Fähigkeit zur Wechselwirkung mit HBD Säuren beschreibt, liegt zwischen -1,4 und 3,4, wobei das Nitroderivat mit 3,4 besonders auffällt. Ursache für die ausgeprägte Basizität sind die Sauerstoffatome der Nitrogruppe, die als HBA Base fungieren und der sehr kleine Cavity-Term der Phase. Die meisten anderen Harze zeigen eine sehr einheitliche Gewichtung der Basizität zum Cavity-Term v . In Tabelle 6.28 sind die drei sich aus Abbildung 6.17 ergebenden Gruppen dargestellt.

Tab. 6.28: Normalisierte Basizität von zwölf Harzen bei 70 % Methanol und pH 9

$a/v < -1,0$	$-1,0 < a/v < 0,0$		$a/v > 0,0$
AC-COC2 AC-COC1	AC AC-COC3 AC-CA AC-A	ENV+ AC-C12 AC-TCA AC-C8	AC-SO ₃ H AC-NO ₂

Die Bedeutung der Basizität für die Retention von Analyten liegt hier im gleichen Bereich wie bei den aciden Selektivitäten (-0,2 bis -1,2), nur hat hier z. T. eine Umkehr in der Rangfolge stattgefunden. Die veränderte mobile Phase führt dazu, daß Phasen mit basischen funktionellen Gruppen im Verhältnis zu ihrem v -Wert mehr Gewichtung auf der polaren Eigenschaft haben (AC-NO₂ und AC-SO₃H). Die Reihenfolge der Harze anhand ihrer Elutionsreihenfolgen kann auch hier nicht wiedergefunden werden.

Die normalisierte Acidität $b/v_{70\text{ pH }9}$

Die Acidität der Phasen liegt zwischen -1 und -12 und ergibt eine Einteilung in drei Gruppen von Materialien. Das Nitroderivat fällt dabei besonders auf, da es sich mit einem z.T. zehnfach größeren Wert in der Gewichtung von Acidität und Cavity-Term von den anderen Materialien unterscheidet. Die Gruppen sind in Tabelle 6.29 dargestellt.

Tab. 6.29: Normalisierte Acidität b/v von zwölf Harzen bei 70 % Methanol und pH 9

b/v < -5,0	-5,0 < b/v < -2,0		b/v > -2,0	
AC-NO ₂	AC-COC1	AC-CA	AC-SO ₃ H	AC
	AC-COC2	AC-C12	AC-COC3	ENV+
	AC-A	AC-C8	AC-TCA	

Anhand der Gruppeneinteilung läßt sich sagen, welche Harze die gleichen Selektivitäten besitzen, da Harze, die sich in einer Gruppe befinden, auch die identische Gewichtung von Eigenschaften haben. Im Gegensatz zu den aciden Eigenschaften konnte hier stets nur in drei Gruppen eingeteilt werden, wodurch eine größere Struktur vorliegt.

In allen vier Eigenschaften sind gleich:

$$\begin{aligned}
 &ENV+ / AC-TCA, \\
 &AC / AC-COC3, \\
 &AC-COC1 / AC-COC2 \text{ und} \\
 &AC-C8 / AC-C12 / AC-CA / AC-A.
 \end{aligned}$$

Drei Harzpaare und eine Gruppe von vier Harzen haben in allen vier normalisierten Eigenschaften ähnliche Werte. Diese Einteilung läßt sich zum größten Teil auch in Tabelle 6.20 wiederfinden. ENV+ und AC-TCA stehen nebeneinander, ebenso AC und AC-COC3, sowie AC-COC1 und AC-COC2. Die Gruppe von vier Harzen ist durch die COC1- und COC2-Derivate getrennt. Diese sehr gute Übereinstimmung zeigt, daß das LSER-Modell die experimentellen Daten gut beschreibt und daß die normalisierten polaren Eigenschaften ein geeignetes Mittel für eine Klassifizierung darstellen. Sie geben einen guten Einblick in die Selektivitäten von Festphasenmaterialien. Die Tatsache, daß bei den basischen Eigenschaften erst die Betrachtung des Gesamtbildes der normalisierten Phaseneigenschaften das experimentelle Resultat bestätigt zeigt, daß die Gewichtung der einzelnen Phaseneigenschaften sehr ausgeglichen ist und nicht wie zuvor eine oder zwei sehr dominant sind und die Elutionsreihenfolgen praktisch alleine bestreiten.

Im Vergleich zur Klassifizierung unter aciden Bedingungen gibt es deutliche Übereinstimmungen, aber auch kleine Unterschiede. Die Harzpaare ENV+/AC-TCA und AC/AC-COC3 werden beide Male als ähnlich erkannt, ebenso AC-C8 und AC-C12. Bei den basischen Bedingungen gehört zu letztem Harzpaar aber auch AC-CA und AC-A, die bei aciden Bedingungen mit AC-COC1 als ähnlich erkannt werden. Die Unterschiede in der Zuordnung treffen vor allem Harze, die über sehr große polare Anteile verfügen. So zeigen AC-NO₂ und

AC-SO₃H, die sich bei den aciden Eigenschaften sehr ähnlich sind, beim basischen Laufmittel nur in der normalisierten Basizität Übereinstimmung.

Eine weitere Methode bietet die Einteilung anhand der Hydrophobizitäten (siehe Kapitel 6.4.1.2) In Abbildung 6.18 sind die Hydrophobizitäten der Harze in absteigender Reihenfolge bei 70 % Methanol dargestellt. Der Fehler von H ergibt sich aus der Standardabweichung der multiplen linearen Regression für die Berechnung von log k (SD = 0,08, SD für k = 20 %).

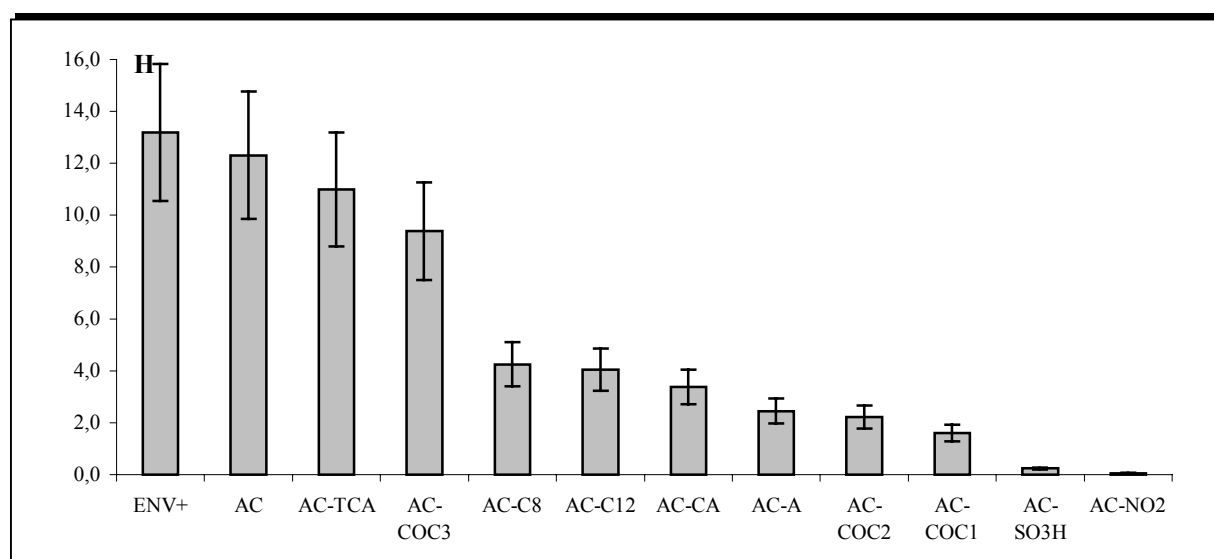


Abb. 6.18: Hydrophobizitäten von zwölf Harzen bei 70 % Methanol und pH 9 in absteigender Reihenfolge

Betrachtet man die H Werte, bei denen der Unterschied so groß ist, daß sich die Fehlerbalken praktisch nicht mehr überschneiden, lassen sich drei Gruppen von Harzen mit signifikant unterschiedlichen H Werten unterscheiden. Sie sind in Tabelle 6.30 zusammengefaßt.

Tab. 6.30 Klassifizierung von Harzen anhand ihrer Hydrophobizitäten bei 70 % Methanol und pH 9

I. $H > 6,0$ (hydrophob)	II. $6,0 < H < 1,0$	H < 1,0 (hydrophil)
ENV+	AC-C8	AC-SO ₃ H
AC	AC-C12	AC-NO ₂
AC-TCA	AC-CA	
AC-COC3	AC-A	
	AC-COC2	
	AC-COC1	

Hydrophobizitäten mit Werten größer als sechs findet man bei AC und dem sehr ähnlichen AC-COC3, die über praktisch keine polaren funktionellen Gruppen verfügen. Auf diesen beiden Harzen eluiert 4-Nitroanilin sehr früh. In dieser I. Gruppe befindet sich aber auch ENV+ und AC-TCA, bei denen 4-Nitroanilin erst sehr spät eluiert, eigentlich ein Indiz für polare Harze. Wie aber schon zuvor erwähnt, könnten sie aufgrund der späten Elution von

3,4-Dimethylpyridin im Vergleich zu Anilin auch als unpolare Harze eingestuft werden. Durch ihre Hydrophobizität muß man sie eindeutig zu letzteren zählen, womit sie eine Ausnahmestellung unter den hier untersuchten Harzen einnehmen. Sehr hydrophile Harze sind das Nitro- und Sulfonsäurederivat.

Die Zuordnung der Harze zu Gruppe I und III findet man auch unter aciden Bedingungen, wobei dort ENV+ in einer mittleren Gruppe zu finden ist. Setzt man den Vergleich zwischen aciden und basischen Bedingungen fort, fällt besonders die Ausprägung der Hydrophobizitäten auf. Die basischen H Werte von Gruppe I erreichen maximal 14, während die aciden Werte zwischen 2 und 70 liegen. Demnach wird durch die Änderung des pH-Wertes der mobilen Phase die Hydrophobizität des Systems extrem herabgesetzt, was für alle stationäre Phasen eine deutlich erhöhte Solvatisierung bedeutet. Vermutlich wird mehr Wasser aus der mobilen Phase in der stationären Phase eingelagert, da der pH-Wert hauptsächlich Einfluß auf die Eigenschaften des Wassers und weniger auf die des Methanols hat.

6.4.3 Zusammenfassung

Die multiple lineare Regression der LSER-Gleichung liefert für die 19 aciden Analyten recht gute Ergebnisse. Die Regressionskonstanten liegen zwischen 0,97404 und 0,99562 und die Standardabweichungen zwischen 0,056 und 0,091. Dies entspricht einem prozentualen Fehler von 14 bis 23 % für k. Die Regressionen der basischen LSER-Gleichungen werden mit 14 bis 16 Analyten durchgeführt, wodurch die Regressionskonstanten generell schlechter sind. Des weiteren sind die Retentionszeiten der basischen Analyten häufig sehr kurz, wodurch weitere Fehler hinzukommen. Die Konstanten liegen zwischen 0,98476 und 0,99223 und die Standardabweichungen zwischen 0,058 und 0,122 (14-32 % für k). Das Füllen der Säulen hat keinen Einfluß auf die Systemeigenschaften, da eine große Übereinstimmung zwischen den Eigenschaften von zwei Säulen des gleichen Materials beobachtet werden konnte. Anhand dieser Regressionsergebnisse kann gezeigt werden, daß die Bestimmung der Retentionsfaktoren von Analyten auf diesen SPE-Materialien, die trocken in 5 cm HPLC-Säulen gefüllt werden, mit einer ausreichenden Genauigkeit durchgeführt werden kann. Als mobile Phase wird dabei einmal Methanol/Wasser (70:30) mit einem pH-Wert von 2 für die aciden „LSER-Eigenschaften“ und zum anderen mit einem pH-Wert von 9 für die basischen Eigenschaften verwendet. Da stets die gleiche mobile Phase gefahren wird, können Veränderungen der Systemeigenschaften zwischen zwei Harzen direkt auf die chemische Struktur zurückgeführt werden. Der Vergleich der Systemeigenschaften eines Harzes bei unterschiedlichem pH-Wert zeigt den Einfluß des pH-Wertes auf die Eigenschaft der solvatisierten stationären Phase. Es

muß betont werden, daß neben der mobilen Phase auch der Belegungsgrad des Materials Einfluß auf die Eigenschaften der Phasen hat. Die Ergebnisse sind nur für die hier synthetisierten Phasen repräsentativ, deren Belegungen nur z.T. reproduzierbar waren. Es handelt sich auch stets um Mischphasen aus substituierten und unsubstituierten aromatischen Systemen.

Amberchrom, das als reines Polystyrenmaterial über keine funktionellen Gruppen verfügt, besitzt unter aciden Bedingungen zwei positive Eigenschaften, einen v -Wert von 2,81 und eine Dipolarität von 0,2. Alle anderen sind negativ: $r = -0,09$, $a = -0,92$ und $b = -2,41$. Der Achsenabschnitt c ist mit $-0,98$ ebenfalls negativ. Die Derivatisierung von Amberchrom hat hauptsächlich auf drei Eigenschaften Einfluß, die Polarisierbarkeit r , Dipolarität s und den Cavity-Term v . Die Acidität b ist beim Sulfonsäurederivat um 0,5 Einheiten verbessert, bleibt ansonsten aber unbeeinflußt. Ebenso konnten bei der Basizität a nur kleine Veränderungen erzielt werden. Das Acetylderivat zeigt eine um 0,4 Einheiten verbesserte Basizität, während das Nitro- und Sulfonsäurederivat einen um 0,2 bis 0,3 Einheiten kleineren a Wert besitzen.

Die Polarisierbarkeit hat mit 0,38 beim AC-CA seine größte Wertentwicklung, und die Dipolarität erreicht ihren Spitzenwert beim Nitroderivat ($s = 1,05$). Der Cavity-Term ist um so kleiner, je größer die polaren Anteile der stationären Phase sind.

ENV+ besitzt trotz einer hohen Dipolarität (0,39) und Basizität ($-0,71$) auch einen großen Cavity-Term (2,49) wodurch die Retentionskraft dieses Harzes für polare und unpolare Analyten recht gut ist.

Die quantitative Analyse der aciden Harzeigenschaften, die sich mit den normalisierten Phaseneigenschaften und der Hydrophobizität der Harze befaßt, ergibt eine Einteilung der Harze in vier Gruppen bei der Polarisierbarkeit und der Acidität. Bei der Dipolarität und Basizität können drei Gruppen von Harzen unterschieden werden. Anhand der Gruppeneinteilungen können Harze mit gleichen Selektivitäten oder Gewichtungen der Eigenschaften identifiziert werden. Drei Harzpaare, AC-C8/AC-C12, AC/AC-COC3 und AC-NO₂/AC-SO₃H, und zwei Gruppen von drei Harzen, ENV+/AC-SCN/AC-TCA sowie AC-A/AC-CA/AC-COC1, sind in allen vier normalisierten Eigenschaften identisch. Diese Einteilung kann auch über die Elutionsreihenfolgen der Analyten bestätigt werden.

Die Hydrophobizität H gibt Auskunft über den Retentionsfaktor eines Analyten, der keine polaren Eigenschaften besitzt. Die größten Hydrophobizitäten besitzen AC, AC-COC3 und AC-TCA, während das Sulfonsäure- und Nitroderivat mit deutlichem Abstand die hydrophilsten Harze sind. ENV+ befindet sich mit $H = 40$ an der fünften Stelle der hier untersuchten Harze.

Unter basischen Bedingungen besitzt AC einen v -Wert von 1,44 und eine Polarisierbarkeit r von 1,46. Alle anderen Eigenschaften sind negativ: $s = -0,65$, $a = -0,86$ und $b = -1,77$. Der c -Wert ist mit $-0,35$ deutlich größer als unter aciden Bedingungen. Bis auf die Basizität a sind alle anderen Eigenschaften gegenüber den aciden Bedingungen deutlich verändert, was die Abhängigkeit der Systemeigenschaften vom pH-Wert der mobilen Phase verdeutlicht. Die Veränderungen der Phaseneigenschaften durch die Derivatisierung zeigen generell aber die gleichen Tendenzen, wobei diesmal alle fünf Eigenschaften betroffen sind. Die Polarisierbarkeit, die Dipolarität und die Basizität haben bei der AC-NO₂-Phase die größten Werte ($r = 2,32$, $s = -0,22$, $a = +0,65$), die Acidität ist beim AC-COC1 Harz besonders stark ausgeprägt ($b = -1,44$). Der Cavity-Term verhält sich genauso wie unter aciden Bedingungen. Je polarer die Phase ist, desto kleiner wird er und spielt beim Nitroderivat, das ja über sehr ausgeprägte polare Eigenschaften verfügt, mit 0,19 praktisch keine Rolle bei der Retention von Analyten. Insgesamt hat sich die Gewichtung der Phaseneigenschaften unter basischen Bedingungen deutlich zu den polaren Werten verschoben. Dies zeigt sich besonders bei den normalisierten Phaseneigenschaften. Während bei den aciden Systemeigenschaften nur selten der Wert von 1, der ein ausgeglichenes Verhältnis einer polaren Eigenschaft zum Cavity-Term indiziert, überschritten wird, erreichen die basischen normalisierten Eigenschaften sogar Werte von 13. Diese Entwicklung kann auch an den deutlich kleineren Hydrophobizitäten nachvollzogen werden ($H = 0$ bis 14). Die Klassifizierung der Harze ergibt für alle polaren Eigenschaften eine Einteilung in drei Gruppen, wodurch eine etwas gröbere Einteilung entsteht. Es gibt zwei Harzpaare und zwei Gruppen von drei Harzen, die in allen vier Eigenschaften identisch sind und somit gleiche Selektivitäten besitzen. Dieses Ergebnis wird auch hier durch die Elutionsreihenfolgen der 16 basischen Analyten bestätigt. Der Vergleich mit der unter aciden Bedingungen durchgeführten Klassifizierung ergibt Übereinstimmung bei ENV+/AC-TCA, AC/AC-COC3, AC-CA/AC-A und AC-C8/AC-C12. Diese Paare besitzen aufgrund ihrer chemisch sehr ähnlichen Strukturen auch ähnliche Selektivitäten, sowohl unter aciden als auch unter basischen Bedingungen.

Die Ergebnisse zeigen, daß die LSER-Eigenschaften in hohem Maße die experimentellen Daten (Elutionsreihenfolgen) widerspiegeln und damit eine einfache und schnelle Methode zur Identifizierung des Phasentyps liefern. Sie zeigen auch, daß ein deutlicher Unterschied in den Phaseneigenschaften zwischen basischen und aciden Bedingungen besteht, der sich auf die Extraktionen von basischen, neutralen und aciden Analyten auswirkt. Es ist durchaus denkbar, daß einige neutrale Analyten unter basischen, andere unter aciden Bedingungen besser extrahiert werden.

6.5 Clusteranalyse

In Kapitel 6.3 wurde eine Charakterisierung der Polystyrenmaterialien anhand der Elutionsreihenfolge von drei Analyten vorgenommen. Mehr Analyten und somit eine größere Anzahl von Eigenschaften konnten bei dieser Methode nicht berücksichtigt werden, da das menschliche Auffassungsvermögen den Inhalt einer großen Zahlentabelle, Tab. 6.16 und 6.19, nicht erfassen kann. Die Elutionsreihenfolgen vereinfachen dann schon das Erkennen von Ähnlichkeiten, lassen aber die Abstände und absoluten Retentionszeiten unbeachtet. Die anhand des LSER-Modells durchgeführte Charakterisierung und Klassifizierung in Kapitel 6.4 schon eine sehr viel genauere Einteilung, da das Modell konkrete Werte für bestimmte, zuvor vorgegebene physikalisch-chemische Eigenschaften liefert. Wie aber an den Regressionsergebnissen der MLR zu sehen war, mußten häufig Analyten aus dem Datensatz entfernt werden, da das Modell sie als „Outlier“ erkannte. Dies ist ein deutlicher Hinweis auf die Unvollständigkeit des verwendeten LSER-Modells, da es nicht alle Wechselwirkungen zwischen Analyt und chromatographischem System berücksichtigt. Des weiteren werden für die MLR Analyteigenschaften verwendet, die zuvor experimentell oder durch Berechnung aus experimentellen Daten (Kap. 2) ermittelt wurden. Sie sind somit fehlerhaft und verursachen eine weitere Unsicherheit des LSER-Modells. Aufgrund dieser Unsicherheiten der zuvor verwendeten Methoden der Charakterisierung sollen die ermittelten Retentionsfaktoren einer Clusteranalyse, die schlicht durch mathematische Operationen Ähnlichkeiten aufzeigt, unterzogen werden. Die Ergebnisse sollen dann mit denen des LSER-Modells verglichen werden. Dafür ist es unbedingt notwendig, die für die Klassifizierung verwendeten Daten bei der jeweiligen Analysenmethode genau aufeinander abzustimmen.

Die Methode des „Elutionsreihenfolgenvergleiches“ verwendet lediglich das qualitative Muster, berücksichtigt also nicht die absoluten Abstände der Retentionsfaktoren. Die Charakterisierung erfolgt also nur nach der Selektivität der Harze, nicht aber nach der Retentionskraft. Die Charakterisierung anhand des LSER-Modells erfolgte über die normalisierten polaren Eigenschaften, die, wie unter 6.4.1.2 ausführlich erläutert, lediglich Auskunft über die Gewichtung der Harzeigenschaften geben. Es wurde also auch hier eine Charakterisierung und Klassifizierung anhand der Selektivitäten durchgeführt, weshalb die Ergebnisse dieser beiden Methoden vergleichbar sind. Eine Aussage über die absolute Retentionskraft wurde lediglich in der qualitativen Analyse anhand der absoluten Werte der Cavity-Terme durchgeführt.

Die Retentionsfaktoren der 19 aciden und 16 basischen Analyten geben, sortiert nach Größe, Auskunft über a) die Selektivität und b) die Retentionskraft eines Harzes. Für eine

Clusteranalyse, die zu mit den ersten beiden Methoden vergleichbaren Ergebnissen führen soll, müssen die k-Werte so normiert werden, daß sie lediglich die Selektivität ausdrücken. Dies geschieht, indem die Retentionsfaktoren aus Tabelle 6.16 und 6.19 auf jedem Polystyrenmaterial auf den größten Wert normiert werden.

$$k_{\text{norm},i,M1} = k_{i,M1} / k_{j,M1,kj>ki} \quad \text{Gl. 6.5}$$

Dabei ist $k_{i,M1}$, der Retentionsfaktor einer Substanz i auf Material 1 (M1) und $k_{j,M1,kj>ki}$ der Retentionsfaktor einer Substanz j auf Material 1, der größer ist als der der Substanz i. Durch diese Normierung liegen alle normierten Retentionsfaktoren zwischen 0 und 1 und die absoluten Werte spielen keine Rolle mehr. Die sich anschließende Clusteranalyse spiegelt nur die Selektivitäten der Harze wider.

Verwendet man bei der Clusteranalyse die reinen Retentionsfaktoren, ohne sie zuvor zu normieren, erhält man Auskunft über Ähnlichkeiten der Harze, die sich sowohl auf die Selektivität als auch auf die absolute Retentionskraft bezieht. Sie müßte also ein anderes Bild ergeben als bei den normierten Retentionsfaktoren.

Der Nachteil der Clusteranalyse ist die fehlende Information über die ähnlichen Eigenschaften. Man erkennt zwar, daß sich Materialien ähneln, erhält aber keine Informationen über die chemisch-physikalischen Eigenschaften der Harze.

Die Clusteranalyse wird für die aciden und basischen Eigenschaften zum einen mit normierten und zum anderen mit „unbehandelten“, den reinen Retentionsfaktoren durchgeführt. Die Clusterung erfolgt dabei nach der gewichteten Average Linkage Methode (Tab. 2.3) unter Verwendung der Euklidischen Abstände durch das Statistikprogramm STATISTICA/w 5.0.

6.5.1 Clusteranalyse der aciden Retentionsfaktoren

Zu Beginn werden die Dendrogramme der normierten Retentionsfaktoren ermittelt und diskutiert. Die Ergebnisse werden dann mit denen der Charakterisierungen zuvor verglichen. Im zweiten Teil wird eine Clusteranalyse der nicht normierten Daten durchgeführt und mit denen zuvor verglichen. Die Unterschiede sollten der Retentionskraft zuzuordnen sein und somit Ähnlichkeiten bezüglich aller Harzeigenschaften aufzeigen.

Die Retentionsfaktoren der 19 aciden Analyten aus Tabelle 6.16 werden der Normierung nach Gleichung 6.5 unterzogen. Dabei können nur die Analyten verwendet werden, deren k-Werte

auf allen Materialien bestimmt wurden, wodurch die drei Nitrotoluen entfallen. Die so verbleibenden k-Werte der 16 Analyten werden durch den jeweils größten auf einem Harz geteilt, der in fast allen Fällen der von 2-Nitrophenol ist. Lediglich auf der AC-NO₂-Phase besitzt 4-Nitrophenol den größten Retentionsfaktor. Die so normierten Daten werden der Clusteranalyse unterzogen, bei der nun ein 16-dimensionaler Raum aufgespannt wird (jede Achse ein Analyt) und die Harze Punkte in diesem Raum darstellen. Das resultierende Dendrogramm ist in der folgenden Abbildung oben dargestellt.

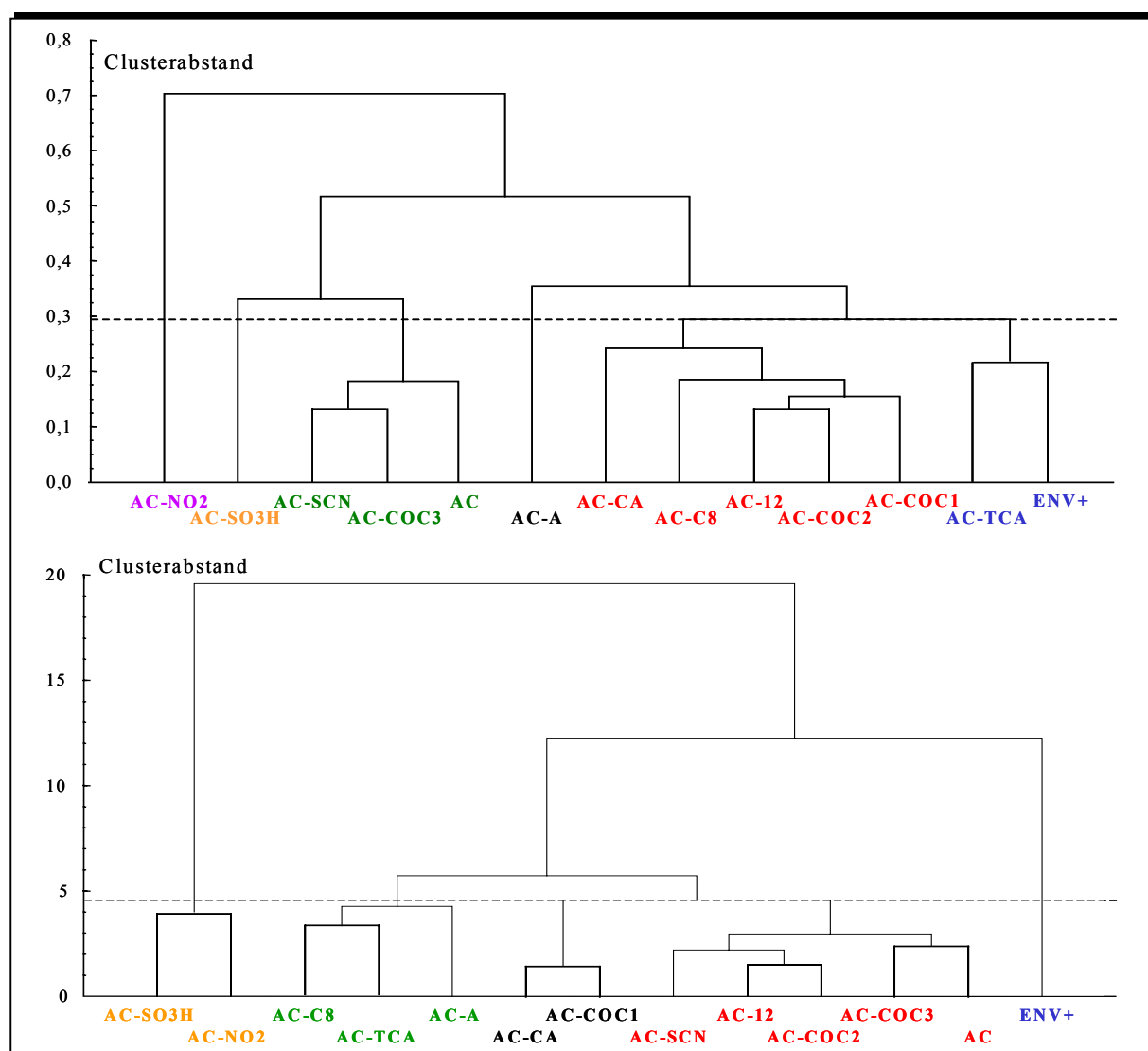


Abb. 6.19: Clusteranalysen von 13 Harzen anhand normierter (oben) und nicht normierter (unten) Retentionsfaktoren von 16 aciden Analyten nach der gewichteten Average Linkage Methode und unter Verwendung des euklidischen Abstandes

Die Interpretation des Dendrogramms erfolgt durch Betrachtung des Clusterabstandes. Die waagerechten Balken, die die Verzweigung des Diagramms bewirken, geben den räumlichen Abstand der gebildeten Cluster an. So unterscheidet sich die AC-NO₂-Phase, welche einen

eigenständigen Cluster bildet, von allen anderen Materialien durch einen Abstand von 0,7. Man kann aus diesem Diagramm nicht erkennen, ob sich z.B. ENV+ und AC-NO₂ oder AC und AC-NO₂ ähnlicher sind. Alle Harze außer AC-NO₂ bilden einen Cluster mit einem Abstand von 0,7 zum nitrierten Harz. Dieser große Cluster läßt sich nun in zwei weitere Untercluster einteilen, die sich durch einen Abstand von ca. 0,5 unterscheiden. Diese beiden Untercluster enthalten jeweils weitere Untercluster. Es liegt nun in der Verantwortung des Analytikers zu entscheiden, welche Cluster er zusammenfaßt und ab welchem Abstand er von unterschiedlichen Clustern spricht. Dieser Abstand liegt in diesem Fall bei 0,3, der im Diagramm durch eine gestrichelte Linie markiert ist. Ab diesem Abstand gelten die Cluster als signifikant unterschiedlich. Diese Einteilung ist absolut willkürlich und hängt ganz vom Betrachter und seinen Vorkenntnissen ab. Generell gilt es, eine zu feine Clusterung zu vermeiden, damit man nicht unter die Standardabweichung der ursprünglich verwendeten Meßdaten kommt. Durch die vorgenommene Einteilung entstehen sechs Gruppen von Harzen, die Ähnlichkeiten bezüglich ihrer Selektivität aufweisen. Sie sind in Abbildung 6.19 farblich gegeneinander abgehoben.

Vergleicht man nun diese Einteilung mit der, die anhand der normalisierten polaren Phaseneigenschaften durchgeführt wurde, erkennt man einige Gemeinsamkeiten. Beim Dendrogramm, das nur die Selektivität widerspiegelt (oben), werden ENV+/AC-TCA, AC/AC-COC3, AC/AC-COC1 und AC-C8/AC-C12 als ähnlich erkannt, was mit den Ergebnissen des LSER-Modells konform ist. Da es aufgrund der Aufschlüsselung in vier polare Eigenschaften sehr viel mehr Kombinationen gibt, ist diese Übereinstimmung als sehr gut zu bewerten. Des weiteren bezieht sich die Klassifizierung anhand des LSER-Modells nur auf die normierten polaren Eigenschaften, während die Clusteranalyse das Gesamtbild der Selektivitäten (polare und unpolare Eigenschaften) betrachtet. Für einen vollständigen Vergleich muß man die Einteilung nach Hydrophobizitäten (Tab. 6.25) mit berücksichtigen und gleichzeitig eine Clusteranalyse mit nicht normierten Retentionsfaktoren durchführen, die ein vollständiges Bild von Ähnlichkeiten aufzeigt. Das entsprechende Dendrogramm ist in Abbildung 6.19 unten dargestellt. Die Signifikanzlinie liegt dort bei ca. fünf. Harze, die bei beiden Dendrogrammen in einem Cluster zu finden sind, besitzen demnach die gleiche Selektivität und Retentionskraft. Dies trifft auf AC/AC-COC3 und AC-CA/AC-COC1 zu. Bei Harzen, bei denen die Hydrophobizität eine wichtige Rolle spielt, kommt die Ähnlichkeit erst bei der Betrachtung des Gesamtbildes zum Vorschein. Dies ist bei AC-SO₃H und AC-NO₂ der Fall. Im unteren Dendrogramm wird die Ausnahmestellung vom ENV+ deutlich, das für alle Analyten retentiver als die anderen zwölf Harze ist.

Anhand dieser Ergebnisse läßt sich sagen, daß die beiden Methoden der LSER-Gleichung und Clusteranalyse ähnliche Ergebnisse bei der Klassifizierung liefern. Abweichungen sind auf die grundlegenden Unterschiede der Methoden zurückzuführen und lassen sich anhand der Datenvorbereitung begründen. Die LSER-Gleichung liefert somit numerische Werte der physikalisch-chemischen Eigenschaften, die dann für eine Klassifizierung von Materialien herangezogen werden können.

6.5.2 Clusteranalyse der basischen Retentionsfaktoren

Die Clusteranalyse der basischen normierten und nicht normierten Retentionsfaktoren sind in Abbildung 6.20 dargestellt. Die Ergebnisse werden mit der Klassifizierung, die anhand der LSER-Gleichungen durchgeführt wurde, und mit der Clusteranalyse aus Kapitel 6.5.1 verglichen.

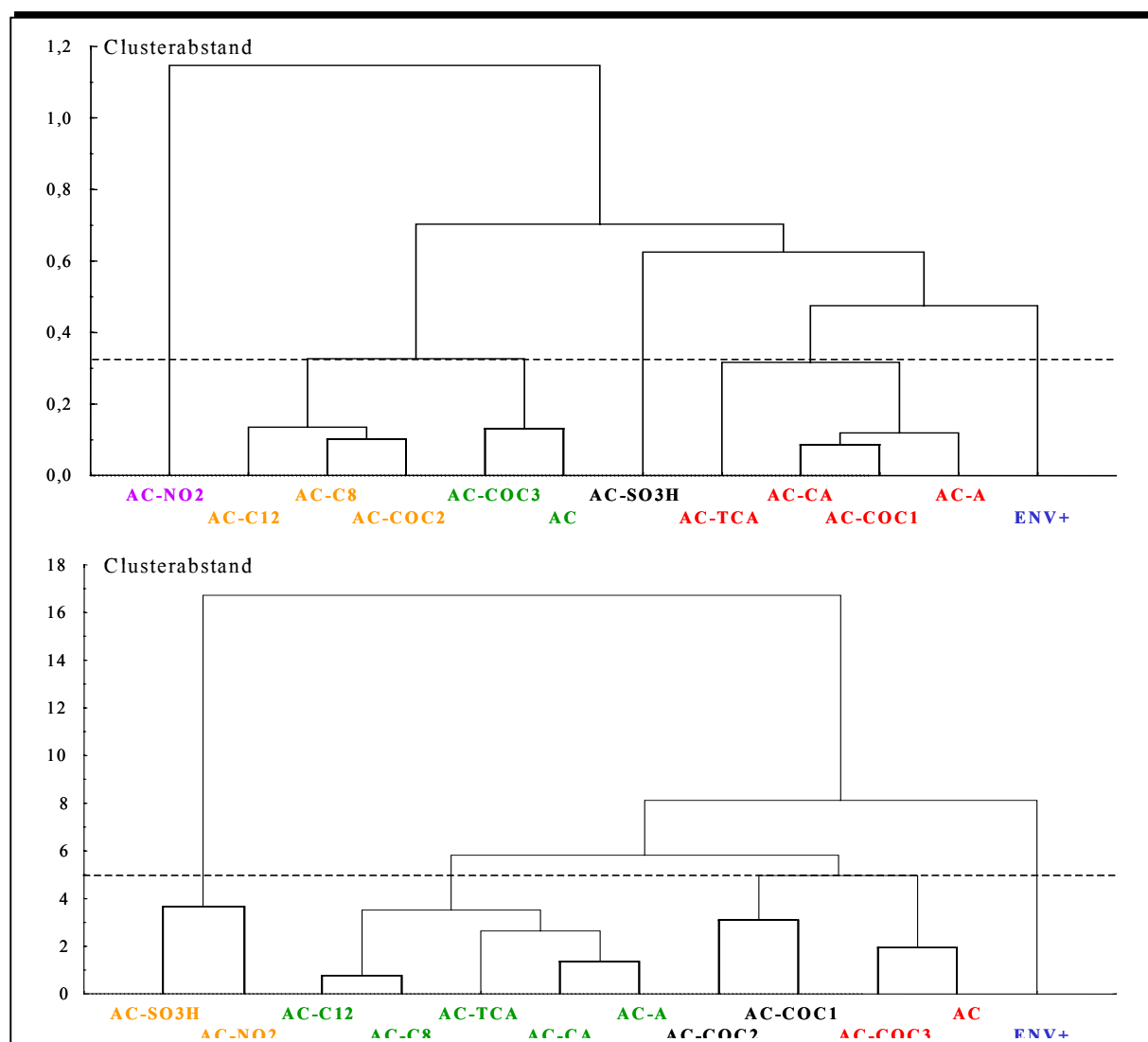


Abb. 6.20: Clusteranalysen von zwölf Harzen anhand normierter (oben) und nichtnormierter (unten) Retentionsfaktoren von 15 basischen Analyten nach der gewichteten Average Linkage Methode und unter Verwendung des euklidischen Abstandes

Im oberen Dendrogramm wird bei einem Clusterabstand von 0,3 und im unteren bei ca. 5 die Signifikanzlinie gezogen. Cluster, die sich durch einen kürzeren Abstand unterscheiden, werden als ähnlich betrachtet. Dies stimmt mit den Ergebnissen der aciden Bedingungen überein. Daraus ergeben sich bei der Selektivität sechs und bei der Gesamtbetrachtung fünf Cluster (durch unterschiedliche Farben hervorgehoben). Dies entspricht der Clusterung aus Kapitel 6.5.1.

Die AC-NO₂-Phase bildet bei den nicht normierten Daten einen eigenständigen Cluster mit einem Abstand von 1,15 zu allen anderen Harzen. Dieser große Cluster spaltet sich in zwei kleinere Cluster, die durch eine Distanz von 0,7 getrennt sind. Der eine Cluster spaltet sich noch einmal bei ca. 0,3, der andere bei 0,65 und bei 0,5.

Bei den nichtnormierten Daten erfolgt die erste Unterteilung bei einer Distanz von ca. 17. AC-SO₃H und AC-NO₂ bilden den einen Cluster, die übrigen zehn Materialien den anderen. Aus dem großen spaltet sich bei acht ENV+ ab und bildet einen eigenständigen Cluster. Bei ca. sechs erfolgt eine weitere Unterteilung in zwei fast gleich große Gruppen, von denen eine noch einmal bei der Grenze von fünf gespalten wird.

Vergleicht man diese Clusterung mit der Klassifizierung durch das LSER-Modell, entdeckt man einige Übereinstimmungen. AC-COC3 und AC sind sich ebenso wie das Oktyl- und Dodecylharzpaar in den beiden Dendrogrammen bei den polaren Eigenschaften und in ihrer Hydrophilie sehr ähnlich. Zwei weitere Harzpaare mit ähnlichen Eigenschaften in allen drei Klassifizierungen sind AC-CA/AC-A und AC-COC1/AC-COC2. Die durch die LSER-Gleichungen erkannte Ähnlichkeit zwischen ENV+ und AC-TCA kann hier nicht nachvollzogen werden, interessanterweise wohl aber bei den aciden Eigenschaften.

Vergleicht man nun die Ergebnisse der Clusteranalysen unter aciden und basischen Bedingungen, erkennt man lediglich bei der Zuordnung von AC-TCA und AC-A große Unterschiede. Die AC-COC1- und AC-COC2-Derivate werden einmal bei den nicht normierten (basisch) und einmal bei den normierten Retentionsfaktoren (acide) als ähnlich erkannt. Unter aciden Bedingungen sind sie in ihrer Selektivität, unter basischen Bedingungen scheinbar nur im Gesamtbild ähnlich.

6.5.3 Zusammenfassung

Eine Clusteranalyse der Retentionsfaktoren von 16 aciden und 15 basischen Analyten wurde jeweils mit normierten und nicht normierten Daten durchgeführt. Die normierten Daten repräsentieren dabei die Selektivitäten der Harze und die nicht normierten den Gesamteindruck aus Selektivität und Retentionskraft. Die Ergebnisse der Clusteranalysen, die

Ähnlichkeiten zwischen den getesteten Materialien aufzeigen, werden mit den anhand der LSER-Gleichungen durchgeführten Klassifizierungen verglichen. Dabei handelt es sich um zwei grundsätzlich verschiedene Methoden, die beide aber das gleiche Ziel haben.

Sowohl bei den aciden als auch bei den basischen Materialien stimmt ein großer Teil der Ergebnisse der Clusteranalyse mit der LSER-Methode überein. Besonders gute Übereinstimmung zeigen AC-NO₂/AC-SO₃H, AC-COC3/AC, AC-COC1/AC-COC2 und AC-C8/AC-C12 bei den verschiedenen Methoden. Dabei müssen allerdings jeweils das Gesamtbild und die Selektivität betrachtet werden, da die LSER-Methode nur eine Klassifizierung anhand der polaren normalisierten Eigenschaften und der Hydrophobizität gibt. Sie liefert keine Komplettaussage wie die Clusteranalyse, sondern schlüsselt Ähnlichkeiten anhand der fünf Eigenschaften getrennt auf. Die deutlich erhöhte Anzahl an Kombinationen führt zu kleinen Abweichungen zwischen der Cluster- und LSER-Analyse.

Der Vergleich zwischen den aciden und den basischen Dendrogrammen ergibt eine ähnliche Einteilung. Deutliche Unterschiede treten nur beim AC-TCA und AC-A auf. Sie werden demnach am stärksten durch die Veränderung des pH Wertes der mobilen Phase in ihren Eigenschaften beeinflusst.

6.6 Vorhersage und experimentelle Überprüfung von Extraktionsfähigkeiten ausgewählter Harze unter aciden und basischen Bedingungen

In diesem Kapitel geht es um die Überprüfung der Leistungsfähigkeit des LSER-Modells in Bezug auf die Genauigkeit der Vorhersage von Retentionsfaktoren. Des weiteren soll überprüft werden, ob Elutionsreihenfolgen, die für eine mobile Phase von 70 % Methanol berechnet werden, auf Extraktionsbedingungen bei 100 % Wasser übertragbar sind. Wie bereits in Kapitel 5.4 gezeigt werden konnte, läßt sich die Abhängigkeit der log k-Werte durch eine quadratische Gleichung beschreiben, wodurch es über den gesamten Laufmittelbereich zu Elutionsumkehrungen kommen kann. Für retentive Materialien ist der Unterschied zwischen quadratischer und linearer Regression aber sehr klein, wodurch eine Vorhersage des Extraktionsverhaltens der SPE-Materialien aus den Daten bei 70 % Methanol durchaus möglich erscheint.

Die Überprüfung der Übertragbarkeit der berechneten Retentionsfaktoren geschieht über die Bestimmung von Durchbruchvolumina der zuvor ausgewählten Analyten. Dabei wird eine konstante Stoffmenge des Analyten aus verschiedenen Volumina Wasser, das je nach Analyt den pH-Wert von 1 bzw. 12 hat, extrahiert, und die Wiederfindungsrate (WFR) flüssig-chromatographisch mittels UV-Detektion bestimmt.

Die WFR wird über Gleichung 6.6 definiert, bei der m_i die Menge des Analyten i nach der Extraktion und m_{i0} die ursprünglich eingesetzte Menge des Analyten i ist.

$$\text{WFR in \%} = m_i / m_{i0} \cdot 100 \quad \text{Gl. 6.6}$$

Der Analyt, der auf einem Harz den größten Retentionsfaktor besitzt, sollte dann auf diesem Harz auch das größte Durchbruchvolumen, das Volumen bei dem er von der Säule eluiert, besitzen.

6.6.1 Acide Bedingungen

In diesem Abschnitt werden die Extraktionen acider Analyten behandelt. Für die Überprüfung des LSER-Modells werden fünf Harze ausgewählt und die Wiederfindungsraten von fünf Analyten aus verschiedenen Volumina Wasser (pH 1) auf diesen Materialien bestimmt. Die LSER-Eigenschaften der Analyten sind bekannt, wodurch zuvor die Berechnung der Elutionsreihenfolgen auf diesen Harzen bei 70 % Methanol möglich ist.

6.6.1.1 Auswahl der Harze und Analyten

Bei der Auswahl der Harze und Analyten wird darauf geachtet, daß deutliche Unterschiede bei den berechneten Elutionsreihenfolgen zu beobachten sind. Des weiteren sollen Amberchrom, als Basismaterial für die Derivatisierungen, und das kommerziell erhältliche ENV+ als Vergleichsmaterialien herangezogen werden. Die Auswahl der Analyten soll so getroffen werden, daß sowohl Analyten, die für die Berechnung der LSER-Gleichung verwendet wurden, als auch andere Analyten Verwendung finden.

In Tabelle 6.31 sind die fünf ausgewählten Analyten (3-Hydroxyphenol oder Resorcinol, 4-Hydroxybenzoesäure, 4-Cyano-, 4-Nitro- und 3-Bromphenol) mit ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften dargestellt.

Tab. 6.31: physikalisch-chemische Eigenschaften der fünf aciden Extraktionsanalyten

Analyt	R_2	π_2^H	α_2^H	β_2^H	$V_x/100$
Resorcinol	0,940	1,63	0,79	0,29	0,834
4-Hydroxybenzoesäure	0,930	0,92	0,87	0,53	0,990
4-Cyanophenol	0,940	1,63	0,79	0,29	0,864
4-Nitrophenol	1,017	1,72	0,82	0,26	0,949
3-Bromphenol	1,060	1,15	0,70	0,16	0,950

Die fünf Analyten besitzen alle eine ausgeprägte Acidität, haben aber Dipolaritäten zwischen 0,92 und 1,72. Bis auf die große Basizität der substituierten Benzoesäure haben die anderen Eigenschaften eher durchschnittliche Werte.

Für die Extraktionen werden folgende Harze ausgewählt:

ENV+, AC, AC-C8, AC-NO₂ und AC-SO₃H

ENV+ und AC werden aus den bereits erwähnten Gründen ausgewählt. Aus Tabelle 6.16 wird deutlich, daß 13 der 19 verwendeten Analyten auf AC-C8 einen größeren Retentionsfaktor als auf AC selbst besitzen. Diese vergrößerte Retentionskraft dieses AC-Derivats soll bei Extraktionen aus 100 % Wasser überprüft werden. Das Nitroderivat ist außer für 4-Nitrophenol weniger retentiv als AC, was überprüft werden soll. Beim Sulfonsäurederivat sind alle Retentionsfaktoren deutlich kleiner als bei AC bzw. ENV+. Dieser große Unterschied sollte sich auf jeden Fall in den Wiederfindungsraten der Extraktionen zeigen. Die Elutionsreihenfolgen der Harze ergeben sich durch Berechnung der Retentionsfaktoren mittels LSER-Gleichungen der fünf Harze (Kapitel 6.4.1.1) und der Solvatationsparameter der Analyten (Tab. 6.30). Durch Normierung auf 1 für den größten Retentionsfaktor (vergl. Gl. 6.5) eines Analyten auf allen Phasen lassen sich die Elutionsreihenfolgen und –abstände übersichtlich darstellen.

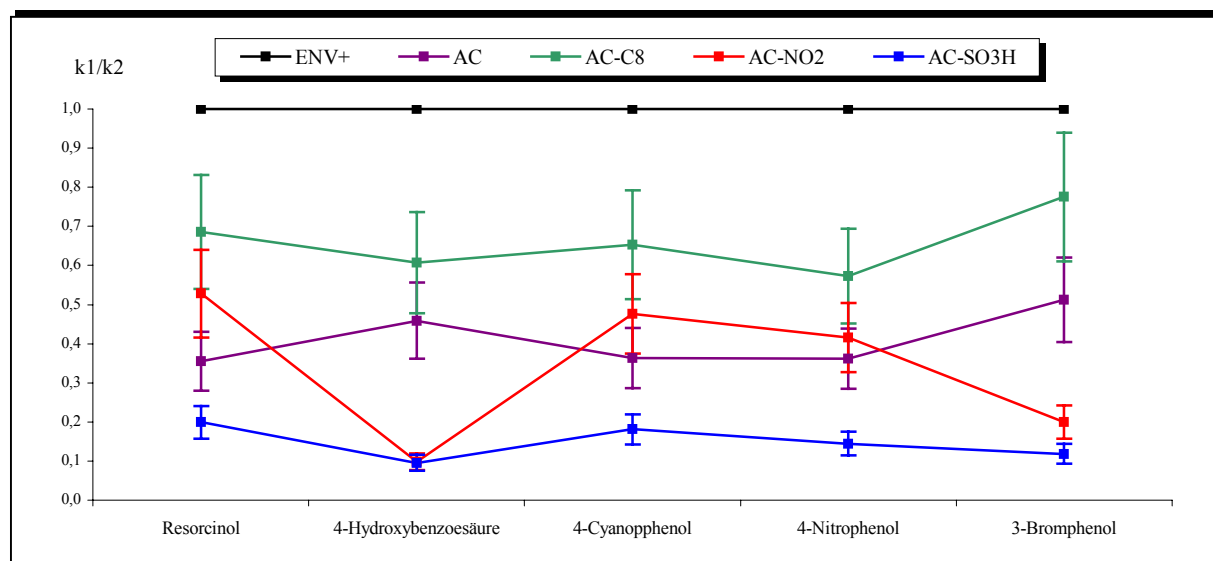


Abb. 6.21: Mittels LSER-Gleichung berechnete, auf 1 normierte Retentionsfaktoren von fünf Analyten auf fünf SPE-Materialien

Alle Analyten werden auf ENV+ am stärksten retardiert, gefolgt von AC-C8. Das AC-NO₂-Material liegt beim Resorcinol, 4-Cyanopphenol und 4-Nitrophenol an dritter Stelle, während bei der 4-Hydroxybenzoesäure und 3-Bromphenol dieser Platz vom AC ausgefüllt wird. Das Sulfonsäurederivat bildet stets das Schlußlicht bei den Retentionsstärken, ist bei der Carbonsäure aber identisch mit AC-NO₂.

Diese Reihenfolge sollte sich bei den entsprechenden Wiederfindungsraten bei Extraktionen aus 100 % Wasser zeigen lassen. Betrachtet man allerdings die Fehler der normierten Retentionsfaktoren, die sich aus einem 15 % igen Fehler bei der Berechnung des Retentionsfaktors durch die LSER-Gleichung und der Berücksichtigung der Fehlerfortpflanzung ergeben, lassen sich eigentlich nur ENV+ und AC-SO₃H deutlich von allen anderen Harzen unterscheiden. Bei den mittleren drei der Harze kommt es sehr häufig zu Überschneidungen der Fehlerbalken, wodurch diese Werte statistisch als gleich zu behandeln sind. Die Rangfolge der Harze bezüglich ihrer Retentionskraft wird später in Kapitel 6.6.1.3 diskutiert.

6.6.1.2 Die acide Extraktionsmethode

Bestandteile der Extraktionsmethode sind das Füllen der SPE-Kartuschen, die Auswahl eines geeigneten Gradienten für die flüssigchromatographische Analyse und die Arbeitsschritte bei der Extraktion selbst.

Füllen der SPE-Kartuschen

Für die Extraktionen werden 3 mL Kartuschen mit einem Innendurchmesser von 9 mm und Polyethylen-Fritten desselben Durchmessers mit einer Porosität von 20 µm verwendet. Jede Kartusche wird mit 50 ± 1 mg des trockenen SPE-Materials gefüllt.

Auswahl des Gradienten für die flüssigchromatographische Analyse

Die Quantifizierungen der extrahierten Analyten geschieht mittels flüssigchromatographischer Trennung mit anschließender UV-Detektion unter Verwendung eines Dioden-Array-Detektors (DAD). Als Interner Standard (IS) wird 2-Chlorphenol verwendet. Der DAD ermöglicht es, in einem chromatographischen Lauf verschiedene Wellenlängen zu detektieren, wodurch jeder Analyt bei der Wellenlänge mit größter Absorption analysiert werden kann. Die fünf Extraktionsanalyten und der Interne Standard werden bei drei Wellenlängen detektiert: 214, 230 und 250 nm. In Abbildung 6.22 ist ein Chromatogramm der sechs Analyten bei den oben genannten Wellenlängen dargestellt. Die Trennung erfolgt auf einer RP-18 Phase (Knauer Vertex Säule, Füllmaterial Zorbax ODS-5µm) und als mobile Phase wird Acetonitril/Phosphatpuffer (pH 2) mit einem Fluß von 0,55 mL/min verwendet. Der verwendete Gradient hat folgenden Verlauf:

0-2 min: 15 % Acetonitril/85 % Phosphatpuffer
8-10 min: 60 % Acetonitril/40 % Phosphatpuffer
11-13 min: 15 % Acetonitril/85 % Phosphatpuffer

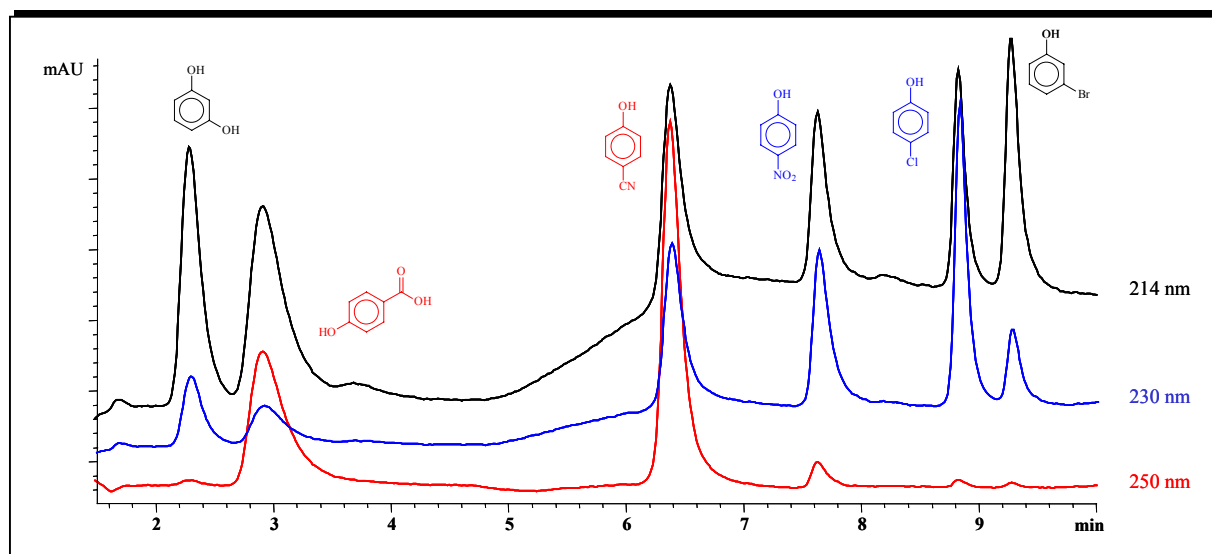


Abb. 6.22: HPLC-Chromatogramm von sechs Analyten, Resorcinol, 4-Hydroxybenzoesäure, 4-Cyanophenol, 4-Nitrophenol, 4-Chlorphenol und 3-Bromphenol bei drei Wellenlängen

Resorcinol und 3-Bromphenol haben bei 214 nm ihr Absorptionsmaximum, 4-Nitro- und 4-Chlorphenol (IS) bei 230 nm und 4-Hydroxybenzoesäure sowie 4-Cyanophenol bei 250 nm.

Für die späteren Quantifizierungen wird eine 18-Punktkalibration jedes Analyten zwischen ca. 2,5 und 45 ng ($c = 0,05 - 0,9$ ng/ μ L bei 50 μ L Injektionsvolumen) durchgeführt, wobei jede Lösung dreifach injiziert wird. Die Regressionskonstanten R der sechs Kalibrationsgeraden liegen zwischen 0,9994 und 0,9999 und sind somit über den gesamten Bereich linear.

Extraktionsmethode

Die acide Extraktionsmethode umfaßt 14 Arbeitsschritte, die in Abbildung 6.23 in chronologischer Reihenfolge aufgelistet sind.

Bevor mit der Extraktion begonnen wird, müssen die Extraktionskartuschen gereinigt werden. Dies gilt besonders für die Amberchromderivate, die aufgrund der Synthese noch geringe Verunreinigungen beinhalten können. Die Reinigung wird mit organischen Lösungsmitteln durchgeführt, wobei eines das spätere Elutionslösungsmittel darstellt (Schritt 1 und 2). Für eine möglichst quantitative Extraktion muß die Kartusche im nächsten Schritt mit Wasser konditioniert werden, da restliches Methanol eine Extraktion aus den ersten 10 bis 20 mL Wasser verhindert (Schritt 3). Im vierten Schritt erfolgt dann die Extraktion der Analyten aus Wasser mit dem pH Wert von 1. Dafür wird eine Stammlösung der fünf Extraktionsanalyten in Methanol mit einer Konzentration jedes Analyten von ca. 500 ng/ μ L angesetzt. Diese wird im Kühlschrank gelagert. Für die Extraktionen wird täglich von dieser Stammlösung eine 1:100 Verdünnung in bidestilliertem Wasser angesetzt ($c_{\text{Analyt}} = 5$ ng/ μ L, $c_{\text{Methanol}} = 1$ %). Von dieser Verdünnung werden 100 μ L in das gewünschte Extraktionsvolu-

men einer 1 % igen Salzsäurelösung gegeben. Die Analyten werden aus 100, 200, 400 und 600 mL Lösung extrahiert, Analytkonzentrationen von 5, 2,5, 1,25 und 0,8 µg/L entsprechend. Der Methanolgehalt in der Extraktionslösung beträgt damit maximal 0,001 %. Eine möglichst kleine Methanolkonzentration ist für ein quantitatives Ergebnis sehr wichtig. Die Extraktionen werden mit einem Vac Master von der Firma Merck (Merck Adsorbex Sample Preparation Unit (SPU), 24 Extraktionspositionen) durchgeführt. Als Probenreservoirs dienen 1 L-Sovirell-Gläser und die Extraktionslösungen werden durch einen Teflonschlauch auf die Kartusche geleitet.

Acide Extraktionsmethode

1. Reinigen der SPE-Kartusche mit 5 mL Aceton
2. Reinigen der SPE-Kartusche mit 5 mL Methanol
3. Konditionierung der SPE-Kartusche mit 20 mL bidestilliertem Wasser
4. Extraktion aus Wasser (pH = 1), $v = 5-10$ mL/min
5. Nachwaschen mit 2-3 mL Wasser (pH = 1)
6. Trocknen der SPE-Kartusche im Luftstrom, ca. 5 min
7. Eluieren der Analyten mit 5 mal 1 mL Methanol
8. Zusatz von 500 µL bidestilliertem Wasser zum Eluat
9. Zusatz von 100 µL 5 % iger NaOH-Lösung zum Eluat
10. Abdampfen des Lösungsmittels bis zu einem Restvolumen von ca. 200-300 µL
11. Zusatz des Internen Standards
12. Zusatz von 400 µL einer 1 % igen Salzsäurelösung
13. Überführen der Lösung in ein 1,5 mL Vial und Auffüllen des Vials
14. Flüssigchromatographische Analyse

Abb. 6.23: Arbeitsschritte der aciden Extraktionsmethode

Nach dem Nachwaschen (Schritt 5, quantitative Überführung der Analyten auf die Kartusche) und dem Trocknen des Harzes (Schritt 6) erfolgt die Elution der Analyten. Die dafür benötigte Menge an Methanol wird zuvor bestimmt. Dafür werden acht mal 1 mL Methanol beim Eluieren einzeln aufgefangen und jede Fraktion flüssigchromatographisch untersucht. In der vierten Fraktion konnte praktisch kein Analyt mehr nachgewiesen werden. Für das Eluieren werden insgesamt 5 mL verwendet (Schritt 7). Nach dem Eluieren werden Wasser und 5 % ige NaOH-Lösung zugefügt. Da die Phenole sehr flüchtig sind, ist es für Schritt 10 unerlässlich, daß sie in deprotonierter Form vorliegen, da sonst Minderbefunde durch Verdampfen entstehen. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels wird der IS, 4-Chlorphenol, zugefügt. Dafür wird eine Stammlösung von 4-Chlorphenol in Methanol mit

einer Konzentration von 515 ng/ μ L angesetzt. Von dieser Lösung wird täglich eine 1:100 Verdünnung in bidestilliertem Wasser angesetzt ($c = 5,15$ ng/ μ L), von der dann 100 μ L ($m = 515$ ng) zur Extraktionslösung gegeben werden. Zum Neutralisieren der Lösung werden dann noch 400 μ L einer 1 % igen Salzsäurelösung zugegeben (Schritt 12), die Lösung in ein 1,5 mL Vial überführt und mittels eines automatischen Probenaufgebers einer flüssig-chromatographischen Analyse unterworfen.

6.6.1.3 Die Extraktionsergebnisse und der Vergleich mit den berechneten Retentionsfaktoren

Wie zuvor erwähnt, wird die gleiche Stoffmenge der fünf Analyten aus vier verschiedenen Volumina extrahiert. Je stärker die Retentionskraft eines Harzes ist, desto später werden die Analyten vom Harz eluieren und um so größer ist die Wiederfindungsrate, im Idealfall 100 % der eingesetzten Stoffmenge. In Abbildung 6.24 sind die Wiederfindungsraten der fünf Analyten auf den Harzen im Vergleich dargestellt, wobei jedes Diagramm die Ergebnisse für einen Analyten darstellt. Die Standardabweichungen der Wiederfindungsraten entstehen aus vier bis zehnfach Bestimmungen. Für Resorcinol beträgt die mittlere Standardabweichung der 20 Werte $2,0 \pm 1,4$ absolute Prozent, bei der 4-Hydroxybenzoesäure $3,0 \pm 2,3$ abs. %, bei 4-Cyanophenol $4,0 \pm 3,0$ abs. %, bei 4-Nitrophenol $6,0 \pm 2,7$ und bei 3-Bromphenol $4,8 \pm 2,0$ absolute Prozent. Bis auf wenige Ausnahmen sind damit alle Wiederfindungsraten sehr gut bestimmt. Trotzdem ergibt sich in einigen Fällen ein nicht schlüssiges Bild. Beim 3-Bromphenol steigen die Wiederfindungsraten auf AC und ENV+ bei der kleinsten Konzentration wieder an. Da diese Werte aber aus zehn Wiederholungen stammen, werden sie für eine weitere Auswertung verwendet. Des weiteren fällt auf, daß die WFR keine eindeutigen Ergebnisse liefern, da sie sich z.T. sehr ähneln.

Trotzdem läßt sich unter Berücksichtigung der Standardabweichungen eine Reihenfolge in der Extraktionskraft der Harze festlegen und mit den zuvor berechneten Elutionsreihenfolgen vergleichen.

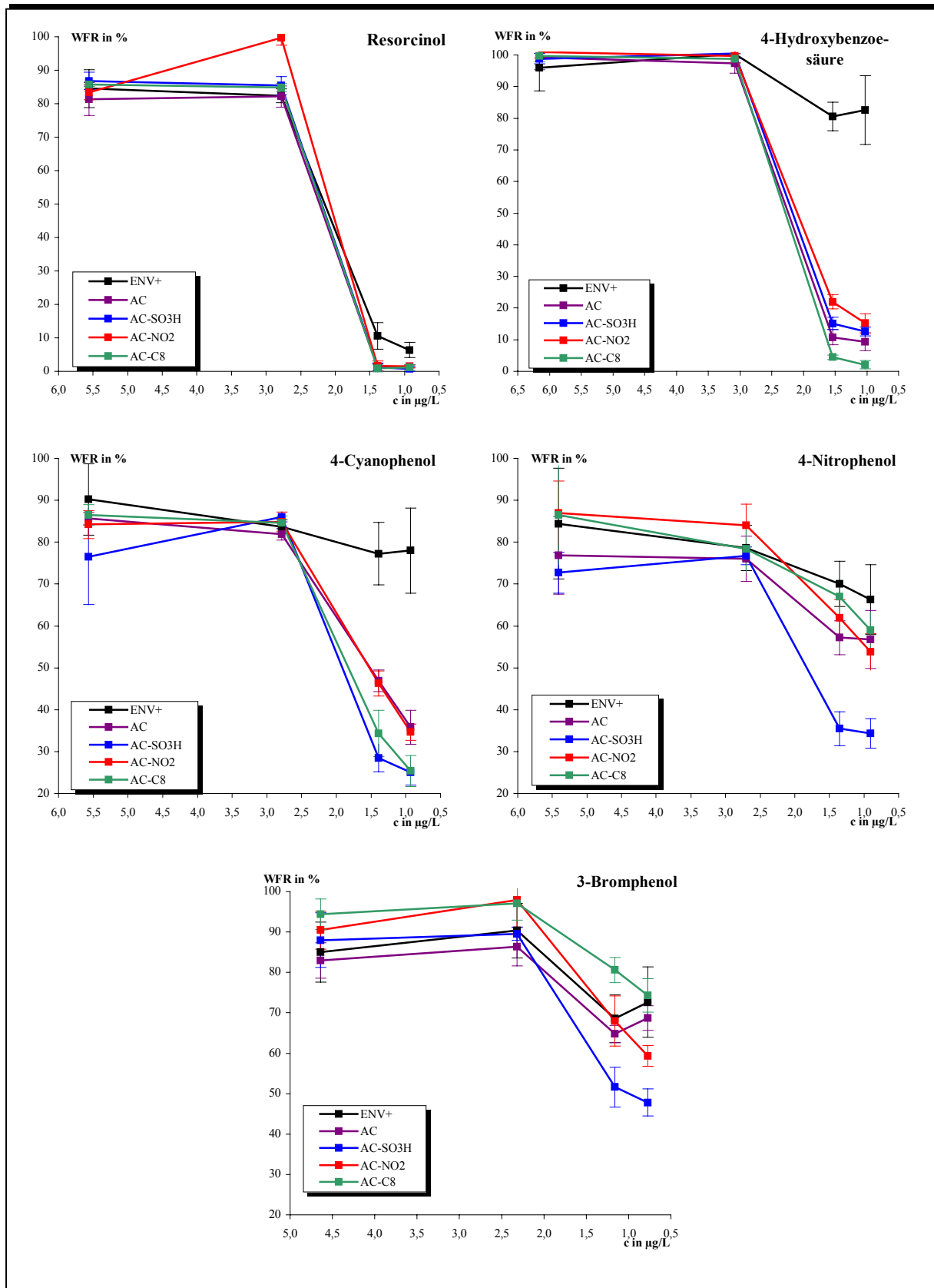


Abb. 6.24: Wiederfindungsraten von fünf aciden Analyten auf fünf SPE-Materialien aus 100 % Wasser (pH 1) bei verschiedenen Analytkonzentrationen

Resorcinol

Für Resorcinol läßt sich nur feststellen, daß ENV+ geringfügig retentiver ist als alle anderen Harze. Zwischen 6 und 3 µg/L erfolgt die Extraktion auf allen Harzen zu ca. 90 %, fällt aber bei 1,5 µg/L auf unter 20 % bei allen Materialien. ENV+ extrahiert bei dieser Konzentration noch ca. 10 %, alle anderen praktisch gar nicht mehr. Über die Wiederfindungsraten läßt sich hier keine genauere Einteilung durchführen. In Tabelle 6.32 werden die experimentellen mit den kalkulierten Ergebnisse verglichen.

Tab. 6.32: Vergleich der Extraktionsergebnisse mit den berechneten normierten Retentionsfaktoren für Resorcinol auf fünf SPE-Materialien (die Werte in Klammern sind die normierten Retentionsfaktoren bzw. die WFR in %)

Extraktionsergebnis (WFR in % aus 600 mL)	mittels LSER-Gleichung berechnete normierte Retentionsfaktoren
ENV+ (6) AC (1) / AC-NO ₂ (1,5) / AC-C8 (1) / AC-SO ₃ H (0,7)	ENV+ (1,0) AC-C8 (0,69) / AC-NO ₂ (0,53) AC (0,35) AC-SO ₃ H (0,20)

Wie aus diesem Vergleich deutlich wird, ist die Extraktionsmethode zum einen zu ungenau, um kleine Unterschiede in der Extraktionskraft der Harze zu zeigen. Zum anderen ist aber auch die Berechnung der Retentionsfaktoren ebenfalls nicht genau genug, da die Standardabweichungen der berechneten log k bzw. k Werte so groß sind, daß ein Unterschied im normierten Retentionsfaktor von 0,2, was einer Differenz von 20 % im Retentionsfaktor entspricht, nicht ausreicht, um eine eindeutige Einteilung vorzunehmen.

4-Hydroxybenzoesäure

Bei der einzigen Säure zeigt sich ein sehr ähnliches Bild wie zuvor beim Resorcinol. Zwischen 6,5 und 3 µg/L wird dieser Analyt von allen Harzen quantitativ extrahiert. Während die Wiederfindungsrate dann aber beim ENV+ nur geringfügig schlechter wird, fällt sie bei allen anderen Harzen auf unter 20 %. Im Rahmen der Fehler liefert AC-C8 noch etwas kleinere WFR als die anderen Harze.

Tab. 6.33: Vergleich der Extraktionsergebnisse mit den berechneten normierten Retentionsfaktoren für 4-Hydroxybenzoesäure auf fünf SPE-Materialien (die Werte in Klammern sind die normierten Retentionsfaktoren bzw. die WFR in %)

Extraktionsergebnis (WFR in % aus 600 mL)	mittels LSER-Gleichung berechnete normierte Retentionsfaktoren
ENV+ (83) AC-NO ₂ (15) / AC-SO ₃ H (13) / (AC 9) AC-C8 (2)	ENV+ (1,0) AC-C8 (0,61) / AC (0,46) AC-NO ₂ (0,10) / AC-SO ₃ H (0,10)

Auch hier ist die Methode der Extraktionen nicht geeignet, um Unterschiede im Retentionsverhalten heraus zu arbeiten. Wie zuvor kann ENV+ als bestes Harz, diesmal mit deutlichem Abstand, bestätigt werden. AC-C8 weicht deutlich von der berechneten Vorhersage ab, da es mit 2 % die kleinste WFR für die Carbonsäure besitzt, aber in der Vorhersage direkt hinter ENV+ eingestuft wurde.

4-Cyanophenol

Auch hier hebt sich ENV+ deutlich von den anderen Harzen ab. Es lassen sich aber auch zwei Gruppen von jeweils zwei Amberchromderivaten festlegen. Beim AC und AC-NO₂ fallen die Wiederfindungsraten nur auf 35 %, während sie beim AC-SO₃H und AC-C8 bis auf 25 % sinken.

Tab. 6.34: Vergleich der Extraktionsergebnisse mit den berechneten normierten Retentionsfaktoren für 4-Cyanophenol auf fünf SPE-Materialien (die Werte in Klammern sind die normierten Retentionsfaktoren bzw. die WFR in %)

Extraktionsergebnis (WFR in % aus 600 mL)	mittels LSER-Gleichung berechnete normierte Retentionsfaktoren
ENV+ (78) AC-NO ₂ (35) / AC (36) AC-C8 (25) / AC-SO ₃ H (25)	ENV+ (1,0) AC-C8 (0,65) AC-NO ₂ (0,48) / AC (0,36) AC-SO ₃ H (0,18)

Abgesehen von AC-C8, das sich auch hier als Ausreißer darstellt, kann die zuvor berechnete Reihenfolge in diesem Fall weitestgehend bestätigt werden.

4-Nitrophenol

Beim 4-Nitrophenol beträgt die kleinste WFR 35 % auf dem Sulfonsäurederivat und liegt damit deutlich unter denen der anderen Harze. ENV+ ist erneut, diesmal mit geringem Abstand, das retentivste Harz. Die anderen drei Harze unterscheiden sich kaum in ihren WFR, die bei der kleinsten Konzentration bei ca. 60 % liegen.

Tab. 6.35: Vergleich der Extraktionsergebnisse mit den berechneten normierten Retentionsfaktoren für 4-Nitrophenol auf fünf SPE-Materialien (die Werte in Klammern sind die normierten Retentionsfaktoren bzw. die WFR in %)

Extraktionsergebnis (WFR in % aus 600 mL)	mittels LSER-Gleichung berechnete normierte Retentionsfaktoren
ENV+ (66) AC-C8 (59) / AC (57) / AC-NO ₂ (54) AC-SO ₃ H (34)	ENV+ (1,0) AC-C8 (0,57) / AC-NO ₂ (0,42) / AC (0,36) AC-SO ₃ H (0,14)

Das zuvor berechnete Ergebnis kann im Experiment voll bestätigt werden. Es ist sehr erstaunlich, daß AC-C8 nun nicht herausfällt.

3-Bromphenol

Dieser Analyt wird von allen Harzen über den gesamten Konzentrationsbereich am Besten extrahiert. Die Unterschiede, die sich in den WFR zeigen, sind nur sehr klein, da bei der kleinsten Konzentration die Werte aller fünf Materialien zwischen 50 und 75 % liegen. Dennoch läßt sich eine Einteilung in drei Gruppen vornehmen.

Tab. 6.36: Vergleich der Extraktionsergebnisse mit den berechneten normierten Retentionsfaktoren für 3-Bromphenol auf fünf SPE-Materialien (die Werte in Klammern sind die normierten Retentionsfaktoren bzw. die WFR in %)

Extraktionsergebnis (WFR in % aus 600 mL)	mittels LSER-Gleichung berechnete normierte Retentionsfaktoren
ENV+ (73) / AC-C8 (74) / AC (69) AC-NO ₂ (59) AC-SO ₃ H (48)	ENV+ (1,0) AC-C8 (0,78) AC (0,51) AC-NO ₂ (0,20) AC-SO ₃ H (0,12)

Auch beim 3-Bromphenol kann das anhand des LSER-Modells berechnete Ergebnis durch die Extraktionsergebnisse bestätigt werden. Eine Unterscheidung von ENV+, AC-C8 und AC ist bei den Extraktionsergebnissen allerdings nicht möglich.

6.6.1.4 Zusammenfassung

Für die Überprüfung der Leistungsfähigkeit des LSER-Modells werden fünf acide Analyten, Resorcinol, 4-Hydroxybenzoesäure, 4-Cyano-, 4-Nitro- und 3-Bromphenol ausgewählt und deren Retentionsfaktoren bei 70 % Methanol auf fünf Polystyrenmaterialien, ENV+, AC, AC-C8, AC-NO₂ und AC-SO₃H, anhand deren LSER-Gleichungen berechnet. Des weiteren werden diese fünf Analyten auf genau diesen Materialien aus 100 % Wasser (pH = 1) in verschiedenen Konzentrationen (zwischen 6 und 0,75 µg/L) extrahiert und deren Wiederfindungsraten bestimmt. Anhand der WFR wird eine Reihenfolge der Harze bezüglich ihrer Extraktionskraft für den speziellen Analyten aufgestellt und mit der zuvor berechneten verglichen. Bei zwei Analyten, 3-Brom- und 4-Nitrophenol, stimmen Vorhersage und Experiment exakt überein. Beim 4-Cyanophenol verhält sich lediglich das AC-C8-Material abweichend von der Vorhersage. Bei den anderen beiden Analyten kann man anhand der Extraktionsergebnisse keine eindeutige Reihenfolge bestimmen, da sie vor allem für die Amberchromderivate praktisch identische WFR liefern.

Trotz einiger Abweichungen läßt sich feststellen, daß das LSER-Modell hervorragend geeignet ist, um das Extraktionsverhalten eines Polystyrenharzes bei Kenntnis der Materialeigenschaften mit einer zufriedenstellenden Genauigkeit vorherzusagen. Es ist um so erstaunlicher, da die berechneten Retentionsfaktoren z.T. Fehler von bis zu 20 % aufweisen.

Dies beinhaltet dementsprechend, daß sehr kleine Unterschiede im Retentionsverhalten praktisch nicht berücksichtigt werden können, was aber für die Extraktionen keine so große Rolle spielt, da auch bei der Bestimmung von WFR ein Fehler von mindestens 10 % zu erwarten ist.

6.6.2 Basische Bedingungen

In diesem Abschnitt werden die Extraktionen basischer Analyten behandelt. Für die Überprüfung des LSER-Modells werden fünf Harze ausgewählt und die Wiederfindungsraten von fünf Analyten aus verschiedenen Volumina Wasser (pH 12) auf diesen Materialien bestimmt. Die LSER-Eigenschaften der Analyten sind bekannt, wodurch zuvor die Berechnung der Retentionsfaktoren auf diesen Harzen bei 70 % Methanol möglich ist.

6.6.2.1 Auswahl der Harze und Analyten

Die Analyten und die Extraktionsmaterialien werden nach ihren Eigenschaften und den Retentionsfaktoren, die die Analyten auf den Polystyrenmaterialien haben, ausgewählt. Dabei wird erneut darauf geachtet, daß ENV+ und AC unter den Harzen vertreten sind.

In diesem Fall werden nur Analyten verwendet, die auch zur Bestimmung der LSER-Gleichungen verwendet wurden. Es handelt sich dabei um:

N-Phenylharnstoff, Anilin, 4-Nitroanilin, 4-Chloranilin und 2-Chloranilin

Die Solvationsparameter der fünf Analyten sind Tabelle 6.18 zu entnehmen. Phenylharnstoff besitzt eine recht große Acidität und Basizität und ist auch ein großes Molekül, das Nitroanilin besitzt eine ausgeprägte Polarisierbarkeit und Anilin ist das kleinste der hier ausgewählten Moleküle.

Von den zwölf Harzen werden folgende ausgewählt:

ENV+, AC, AC-A, AC-COC1 und AC-COC3.

Das Acetylderivat wird ausgewählt, da es 4-Nitroanilin länger retardiert als AC (Tab. 6.19). AC-COC1 hat sowohl beim 4-Chloranilin als auch beim Phenylharnstoff stärkere Retentionskraft als AC selbst und der Retentionsfaktor des 2-Chloranilins ist größer als auf ENV+. Das AC-COC3-Harz sollte dagegen für 2-Chloranilin stärkere Retention als ENV+ zeigen, 4-Chloranilin und Phenylharnstoff müßten auf diesem Derivat kürzer retardiert werden als auf AC.

In der folgenden Abbildung sind die normierten Retentionsfaktoren der fünf basischen Analyten auf den oben genannten Harzen dargestellt. Sie werden anhand der LSER-Gleichungen (Kapitel 6.4.2.1) und Analytdeskriptoren (Tab. 6.18) berechnet.

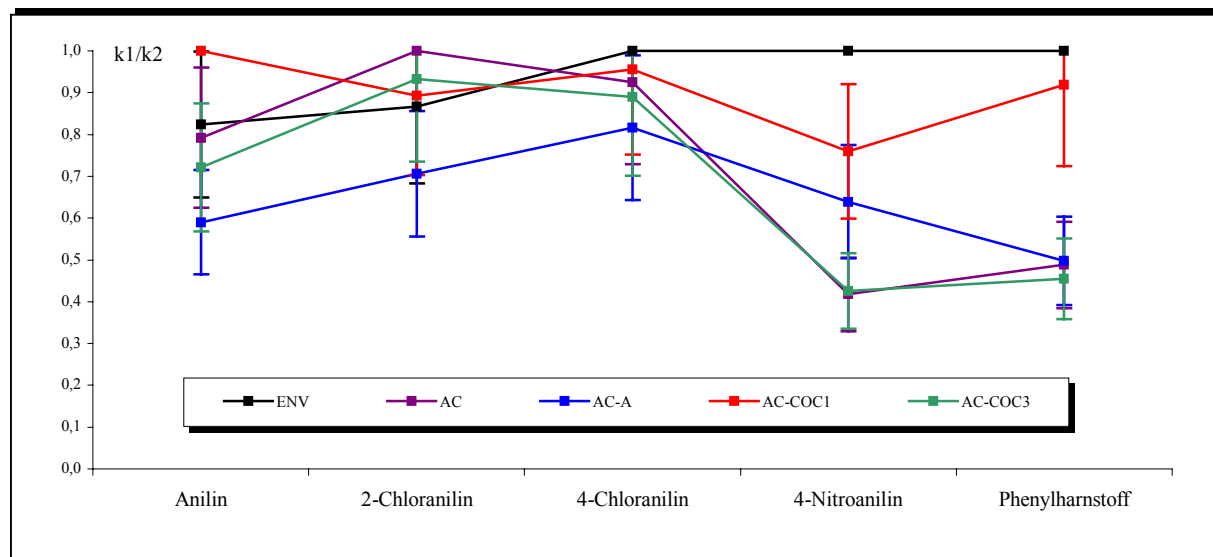


Abb. 6.25: Anhand der LSER-Gleichungen berechnete normierte Retentionsfaktoren von fünf basischen Analyten auf fünf Polystyrenmaterialien bei 70 % Methanol

Die berechnete Reihenfolge gibt bis auf eine Abweichung die experimentellen Retentionsverhältnisse exakt wieder. Die Abweichung ist bei Anilin auf den Harzen ENV+ und AC-COC1 zu finden. Nach Tabelle 6.19 besitzt Anilin auf beiden Harzen den nahezu identischen Retentionsfaktor, während sie hier einen kleinen Unterschied aufweisen.

Insgesamt betrachtet liegen alle Retentionsfaktoren sehr viel enger zusammen, zwischen 0,4 und 1, während sie sich unter aciden Bedingungen teilweise um den Faktor zehn unterscheiden. Aus den aciden Extraktionsergebnissen ist zu erwarten, daß die geringen Unterschiede im Retentionsverhalten bei 70 % Methanol durch die WFR nicht herausgearbeitet werden können. Beim 4-Chloranilin werden vermutlich alle fünf Harze das gleiche Extraktionsverhalten zeigen.

6.6.2.2 Basische Extraktionsmethode

Die basische Extraktionsmethode ist in Anlehnung an die acide entwickelt worden. Die Kartuschen werden wie in Kapitel 6.6.1.2 gefüllt und die chromatographische Analyse erfolgt unter isokratischen Bedingungen bei dem Laufmittel Acetonitril/Phosphatpuffer (pH 8) (27:73) auf einer RP-18-Phase (siehe acide Methode). Für die Quantifizierungen wird ein Interner Standard, 3-Nitroanilin, verwendet. Die sechs Analyten werden bei drei Wellenlängen, 214, 230 und 250 nm detektiert. In Abbildung 6.26 sind die Chromatogramme der Analyten bei den drei Wellenlängen dargestellt.

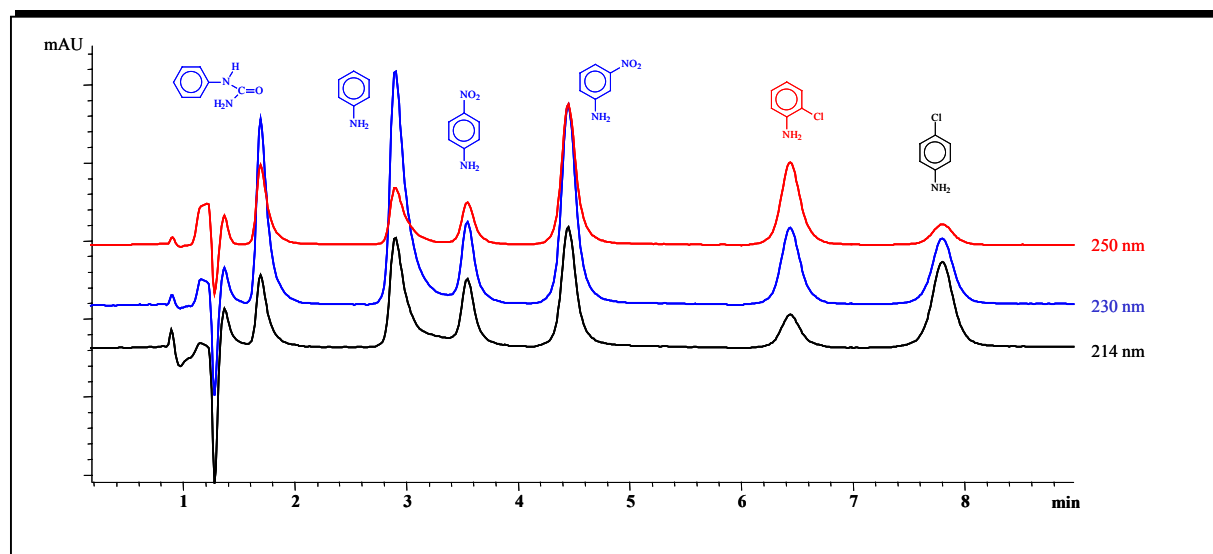


Abb. 6.26: HPLC-Chromatogramm von Phenylharnstoff, Anilin, 4- und 3-Nitroanilin und 2- und 4-Chloranilin bei drei Wellenlängen, Laufmittel: Acetonitril/Phosphatpuffer (pH 8) (27:33)

Phenylharnstoff, Anilin, 3- und 4-Nitroanilin werden bei 230 nm detektiert, 2-Chloranilin bei 250 und 4-Chloranilin bei 214 nm.

Für die späteren Quantifizierungen wird eine 18-Punktkalibration zwischen ca. 1,5 und 50 ng (Ausnahme Anilin: 3-90 ng) für jeden Analyten durchgeführt. Die Regressionskonstanten R der linearen Regressionen liegen für alle sechs Analyten zwischen 0,99904 und 0,99985, womit die Kalibrationen über den gesamten untersuchten Bereich linear sind.

Extraktionsmethode

Ebenso wie die acide umfaßt auch die basische Extraktionsmethode 14 Arbeitsschritte. Sie sind in Abbildung 6.27 in chronologischer Reihenfolge aufgelistet. Die meisten Arbeitsschritte entsprechen denen der aciden Extraktionsmethode. Da es sich um basische Analyten handelt, erfolgt hier die Extraktion aus pH 12, da die Analyten dann nicht ionisch vorliegen. Es wird eine Stammlösung der fünf Analyten in Methanol mit einer Konzentration von ca. 500 ng/ μ L hergestellt, die für die Extraktionen 1:100 verdünnt wird. Die Verdünnung wird in Wasser angesetzt. Von dieser Lösung ($c_{\text{Analyt}} = 5 \text{ ng}/\mu\text{L}$) werden jeweils 100 μL in das gewünschte Extraktionsvolumen, hier 50, 100, 200 und 800 mL, gegeben, Analytkonzentrationen von ca. 10, 5, 2,5 und 0,5 $\mu\text{g}/\text{L}$ entsprechend. Das Eluieren erfolgt auch hier mit 5 mL Methanol, da bereits nach 4 mL die Analyten quantitativ von der Kartusche eluiert werden konnten.

Basische Extraktionsmethode

1. Reinigen der SPE-Kartusche mit 5 mL Aceton
2. Reinigen der SPE-Kartusche mit 5 mL Methanol
3. Konditionierung der SPE-Kartusche mit 20 mL bidestilliertem Wasser
4. Extraktion aus Wasser (pH = 12), $v = 5-10$ mL/min
5. Nachwaschen mit 2-3 mL Wasser (pH = 12)
6. Trocknen der SPE-Kartusche im Luftstrom, ca. 5 min
7. Eluieren der Analyten mit 5 mal 1 mL Methanol
8. Zusatz von 500 μ L bidestilliertem Wasser zum Eluat
9. Zusatz von 100 μ L 12 % iger HCl-Lösung zum Eluat
10. Entfernen des Lösungsmittels bis zu einem Restvolumen von ca. 200-300 μ L
11. Zusatz des Internen Standards
12. Zusatz von 300 μ L einer 5 % igen Natriumhydroxidlösung
13. Überführen der Lösung in ein 1,5 mL Vial und Auffüllen des Vials
14. Flüssigchromatographische Analyse

Abb. 6.27: Arbeitsschritte der basischen Extraktionsmethode

Zum Entfernen des Lösungsmittels wird das Eluat auf pH 1 gebracht, um Verluste der Analyten durch Verdampfen vorzubeugen. Vom Internen Standard wird eine Stammlösung in Methanol mit einer Konzentration von 836 ng/ μ L hergestellt und im Kühlschrank aufbewahrt. Für die Extraktionen wird eine 1:100 Verdünnung in Wasser angesetzt, von der 100 μ L zum eingeeengten Eluat gegeben werden. Zum Neutralisieren werden 300 μ L einer 5 % igen NaOH-Lösung zugefügt.

6.6.2.3 Die Extraktionsergebnisse und der Vergleich mit den berechneten Retentionsfaktoren

In Abbildung 6.28 sind die Wiederfindungsraten der fünf basischen Analyten auf den fünf Polystyrenmaterialien in Abhängigkeit von der Analytkonzentration, zwischen 16 und 0,6 μ g/L, in der extrahierten Lösung dargestellt. Die Ergebnisse sind Mittelwerte aus 4 bis 10-fach Bestimmungen. Die Wiederfindungsraten von Phenylharnstoff auf allen Harzen und bei allen Konzentrationen ($N = 20$) haben eine mittlere Standardabweichung von $4,6 \pm 1,5$ abs. %, die von Anilin $5,4 \pm 2,4$ %, die von 4-Nitroanilin $6,7 \pm 3,2$ %, die von 4-Chloranilin $7,1 \pm 3,3$ % und die von 2-Chloranilin $8,9 \pm 2,9$ %.

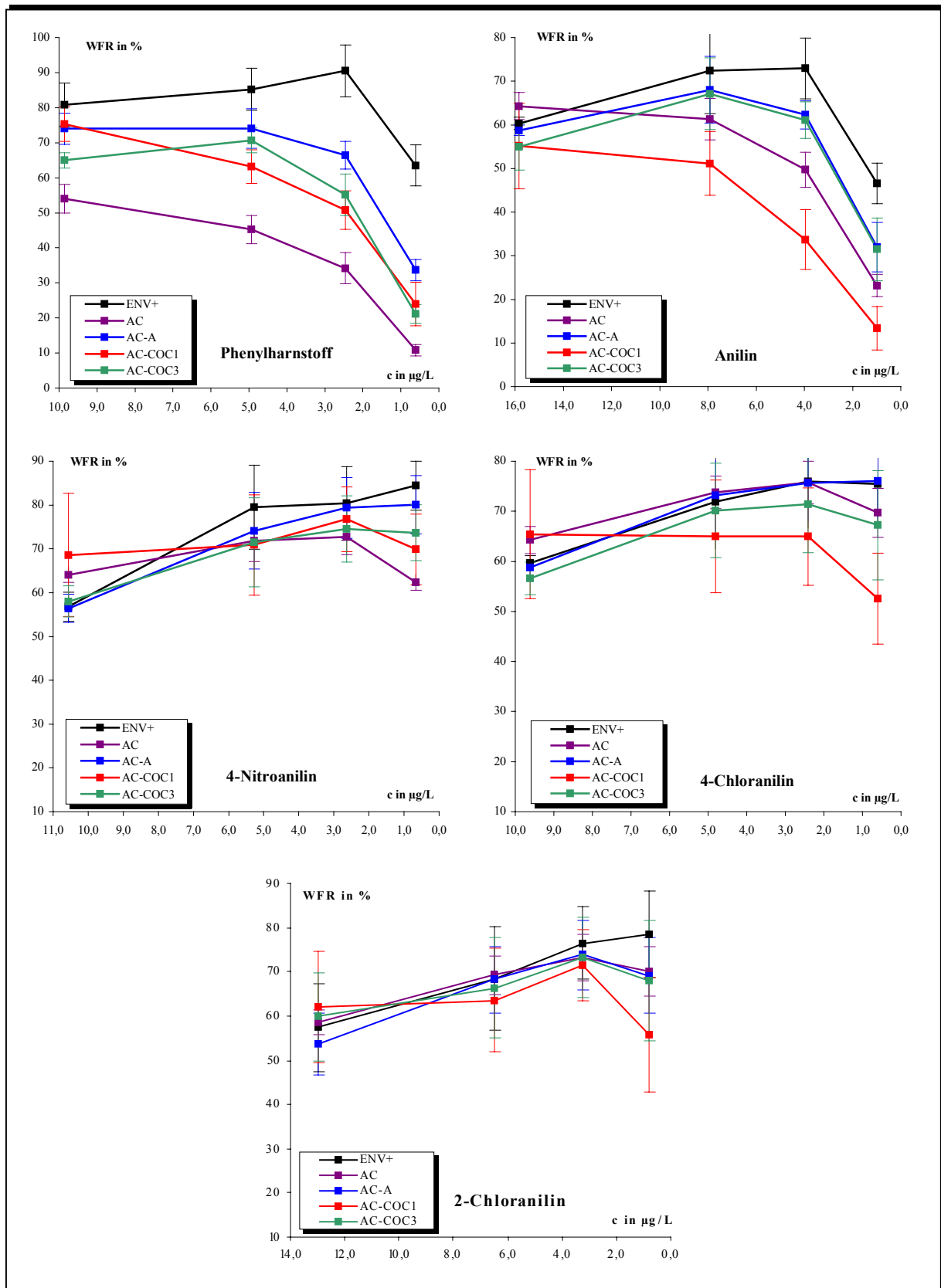


Abb. 6.28: Wiederfindungsraten von fünf basischen Analyten auf fünf SPE-Materialien aus 100 % Wasser (pH 12) bei verschiedenen Analytkonzentrationen

Die Ergebnisse der basischen Extraktionen sind damit nicht so reproduzierbar wie die unter aciden Bedingungen. Des weiteren lassen sich die basischen Analyten auch bei größeren Konzentrationen nicht quantitativ extrahieren, was an den WFR zwischen 50 und 80 % zu erkennen ist. Dieses Retentionsverhalten war aufgrund der deutlich kleineren Retentionsfaktoren dieser Analyten bei 70 % Methanol im Vergleich zu den aciden Analyten auch zu erwarten. Dagegen werden 4-Nitro-, 2-Chlor- und 4-Chloranilin aus geringen Konzentrationen besser extrahiert als die aciden Extraktionsanalyten.

Phenylharnstoff

Dieses Harnstoffderivat wird von den fünf SPE-Materialien zwischen 10 und 90 % extrahiert. Dabei hebt sich ENV+ deutlich positiv von den anderen Harzen ab, da es Phenylharnstoff auch bei einer Konzentration von ca. 0,6 µg/L noch zu 60 % zu extrahieren vermag. Auf AC werden bei dieser Konzentration nur 10 % wiedergefunden. In Tabelle 6.37 erfolgt ein Vergleich der Extraktionsergebnisse mit den berechneten Retentionsfaktoren.

Tab. 6.37: Vergleich der Extraktionsergebnisse mit den berechneten normierten Retentionsfaktoren für Phenylharnstoff auf fünf SPE-Materialien (die Werte in Klammern sind die normierten Retentionsfaktoren bzw. die WFR aus 800 mL)

Extraktionsergebnis (WFR in % aus 800 mL)	mittels LSER-Gleichung berechnete normierte Retentionsfaktoren
ENV+ (64) AC-A (34) / AC-COC1 (24) / AC-COC3 (21) AC (11)	ENV+ (1,0) / AC-COC1(0,92) AC-A (0,50) / AC (0,49) / AC-COC3 (0,46)

Die berechnete und experimentelle Reihenfolge der Harze bezüglich ihrer Retentionskraft stimmt nur teilweise überein. ENV+ kann als retentivstes Harz für diesen Analyten mit deutlichem Abstand zu den anderen bestätigt werden. Allerdings sollte AC-COC1 nach den berechneten Retentionsfaktoren ähnlich gut extrahieren; dies kann aber anhand der experimentellen Ergebnissen nicht bestätigt werden. Die Ergebnisse der anderen Harze stimmen aber mit der Vorhersage relativ gut überein, wobei AC noch geringfügig schlechter extrahiert als seine Derivate. Dies geht aus den berechneten Retentionsfaktoren nicht hervor.

Anilin

Dieser Analyt wird von den fünf Harzen zwischen 10 und 70 % extrahiert. Bei einer Konzentration von 16 µg/L wird Anilin von allen Harzen gleich zu ca. 60 % extrahiert, während es bei 1 µg/L von ENV+ noch zu 50 % und von AC-COC1 nur noch zu ca. 15 % wiedergefunden wird. Die anderen Harze liegen mit ihren WFR zwischen diesen beiden Werten.

Tab. 6.38: Vergleich der Extraktionsergebnisse mit den berechneten normierten Retentionsfaktoren für Anilin auf fünf SPE-Materialien (die Werte in Klammern sind die normierten Retentionsfaktoren bzw. die WFR aus 800 mL)

Extraktionsergebnis (WFR in % aus 800 mL)	mittels LSER-Gleichung berechnete normierte Retentionsfaktoren
ENV+ (47) AC-A (32) / AC-COC3 (32) / AC (23) AC-COC1 (13)	AC-COC1(1,00) ENV+ (0,82) / AC (0,79) / AC-COC3 (0,72) AC-A (0,59)

Dieses Ergebnis zeigt deutlich, daß das Extraktionsverhalten der Harze für Anilin nicht vorhergesagt werden konnte. Die Unterschiede zwischen den normierten Retentionsfaktoren sind so gering, daß eine Reihenfolge nicht aufgestellt werden kann. AC-COC1, das als retentionsstärkstes Harz berechnet wurde, liefert bei den Extraktionen die kleinsten WFR.

4-Nitroanilin

Die Extraktion dieses Analyten erfolgt über den gesamten Konzentrationsbereich zu 60 bis 80 % auf allen fünf Harzen, wobei es auch bei 0,8 µg/L nur zu geringen Unterschieden kommt. Aufgrund der Standardabweichungen und kleinen Aufspaltung der WFR ist es relativ schwer, eine Einteilung der Harze durchzuführen. Die in Tabelle 6.39 vorgenommene Einteilung ist deshalb nur eine erkennbare Tendenz in der Extraktionskraft der Harze.

Tab. 6.39: Vergleich der Extraktionsergebnisse mit den berechneten normierten Retentionsfaktoren für 4-Nitroanilin auf fünf SPE-Materialien (die Werte in Klammern sind die normierten Retentionsfaktoren bzw. die WFR aus 800 mL)

Extraktionsergebnis (WFR in % aus 800 mL)	mittels LSER-Gleichung berechnete normierte Retentionsfaktoren
ENV+ (84) / AC-A (80) AC-COC1 (70) / AC-COC3 (74) AC (62)	ENV+ (1,00) AC-COC1(0,76) / AC-A (0,64) AC (0,42) / AC-COC3 (0,43)

Die exakte Reihenfolge kann auch hier nicht bestätigt werden, jedoch stimmt die prinzipielle Tendenz überein. Die Ergebnisse müssen aber sehr vorsichtig diskutiert werden, da sowohl die berechneten Retentionsfaktoren als auch die WFR sehr eng beisammen liegen. Allerdings zeigt sich auch hier, daß AC-COC1 nicht so retentionsstark ist, wie es nach der Berechnung der Retentionsfaktoren bei 70 % Methanol zu erwarten war.

4- und 2-Chloranilin

Bei diesen beiden Analyten erfolgt die Extraktion zu 75 bis 50 %, mit einer durchschnittlichen Standardabweichung von 7,1 bzw. 8,9 %. Die Harze besitzen also praktisch identische WFR. Dieses Ergebnis deckt sich mit dem der berechneten Retentionsfaktoren für diese beiden Analyten, bei dem besonders beim 4-Chloranilin nur ein

Unterschied in den normierten Retentionsfaktoren von 0,2 erreicht wird. Diese Differenz reicht nicht aus, um signifikante Unterschiede im Extraktionsverhalten zeigen zu können und bestätigt sich voll im Experiment.

6.6.2.4 Zusammenfassung

Für die Überprüfung der basischen LSER-Gleichungen und der Übertragbarkeit des Retentionsverhaltens bei 70 % Methanol auf 100 % Wasser werden fünf basische Analyten, Phenylharnstoff, Anilin, 4-Nitroanilin, 2-Chlor- und 4-Chloranilin, ausgewählt, und deren Retentionsfaktoren anhand der LSER-Gleichungen von fünf Harzen, ENV+, AC, AC-A, AC-COC1 und AC-COC3, berechnet. Des weiteren werden diese fünf Analyten aus 100 % Wasser (pH 12) in Konzentrationen zwischen 16 und 0,8 µg/L extrahiert. Anhand der WFR wird eine Reihenfolge der Harze bezüglich ihrer Extraktionsfähigkeit für jeden Analyten aufgestellt und mit der, die über die Retentionsfaktoren ermittelt wird, verglichen. Da die fünf Analyten auch für die Bestimmung der LSER-Gleichungen verwendet wurden, können die berechneten Retentionsfaktoren und die sich daraus ergebenden Reihenfolgen mit den experimentellen Werten verglichen werden. Sie stimmen sehr gut überein, obwohl die basischen LSER-Gleichungen mit relativ großen Standardabweichungen behaftet sind. Es wird allerdings auch deutlich, daß die Retentionsunterschiede relativ gering sind, wodurch eine Einteilung der Harze z.T. nicht möglich ist.

Dieses bestätigt sich auch durch die Extraktionen. 2- und 4-Chloranilin haben auf allen Harzen praktisch identische WFR. Bei Phenylharnstoff und Anilin läßt sich anhand der WFR eine Harzreihenfolge festlegen. Diese stimmt aber nur zum Teil mit der zuvor berechneten überein. AC-COC1, welches als retentives Harz für beide Analyten berechnet wird, besitzt jeweils mit die kleinste WFR. Für die anderen Harze stimmt zumeist die Tendenz der zuvor berechneten Retentionsstärke des Harzes für den jeweiligen Analyten.

Der Vergleich des experimentellen und berechneten Retentionsverhaltens der Harze erlaubt hier keine eindeutige Aussage, wie gut das LSER-Modell die Retention voraussagen kann. Die Ursache liegt vor allem in den sehr ähnlichen Retentionsfaktoren der Analyten auf den fünf Harzen. Bei einer Extrapolation auf 100 % Wasser, die ja ohnehin sehr problematisch ist, sind Umkehrungen in der Reihenfolge der k_w -Werte durchaus zu erwarten. Eine Ursache kann dabei auch die Modifikation der stationären Phase sein, die dann zu einem veränderten Retentionsverhalten der Analyten führt.

6.7 Zusammenfassung

Für eine Charakterisierung von SPE-Materialien auf Polystyrenbasis werden die Retentionsfaktoren von 19 aciden und 16 basischen Analyten bei der mobilen Phase Methanol/Wasser (70:30) auf den zu untersuchenden Materialien bestimmt. Die k -Werte der aciden Analyten werden bei einem pH-Wert von 2, die der basischen bei pH 9 bestimmt. Die Charakterisierung der Materialien erfolgt durch eine Analyse der Elutionsreihenfolgen, die Bestimmung der LSER-Gleichung nach *Abraham* für jedes Material bei beiden pH-Werten sowie durch eine Clusteranalyse der Retentionsfaktoren.

Die Elutionsreihenfolgen liefert eine grobe Einteilung in „polare“ und „unpolare“ Phasen, erlauben aber keine genaue Betrachtung der vorherrschenden Wechselwirkungen. Zu unpolaren Materialien lassen sich das für die Herstellung von anderen Harzen verwendete Amberchrom sowie das AC-COC3-Derivat zuordnen. Als sehr polare Materialien fallen besonders ein sulfoniertes und ein nitriertes Harz auf. Diese Einteilung ergibt sich sowohl für acide als auch basische Laufmittelbedingungen.

Anhand der LSER-Gleichungen der Materialien lassen sich die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Phasen beim Laufmittel Methanol/Wasser (70:30) aufzeigen. Das Einfügen von polaren funktionellen Gruppen in das Polystyrenmaterial führt zu einer Verkleinerung des Cavity-Terms v , da die stationäre Phase in erhöhtem Maß vom Laufmittel solvatisiert wird. Die Hydrophobizität nimmt mit zunehmender Funktionalisierung ab. Im Gegensatz dazu lassen sich die Dipolarität und Polarisierbarkeit des Materials durch polare Gruppen deutlich erhöhen, wodurch selektiv eine Verbesserung der Retentionskraft des Amberchrommaterials für polare Analyten erreicht wird. Dies gilt für basische und acide mobile Phasen. Bei basischen Laufmitteln konnte für einige Analyten sogar eine verbesserte Retentionskraft gegenüber ENV+, einem kommerziellen SPE-Material, erreicht werden. Der Vergleich der aciden und basischen LSER-Gleichung eines Materials ergibt eine deutliche Abhängigkeit der Eigenschaften vom pH-Wert. Die Hydrophobizität ist bei pH 9 deutlich kleiner, während die Polarisierbarkeit um ein vielfaches größer ist. Es kann damit gezeigt werden, daß die Phaseneigenschaften nicht nur von der Zusammensetzung der mobilen Phase abhängen, sondern auch eine Abhängigkeit vom pH-Wert besitzen.

Anhand der normalisierten polaren Phaseneigenschaften und der Hydrophobizität wird eine Klassifizierung der untersuchten Materialien durchgeführt. Phasen, die sich bei allen normalisierten Phaseneigenschaften in einer Gruppe befinden, gelten als ähnlich und sollten demnach über die gleiche Selektivität verfügen. Über die experimentellen Elutionsreihenfolgen der Analyten kann die vorgenommene Klassifizierung bestätigt werden.

Des weiteren ergibt eine Clusteranalyse, die zum eine mit normierten (Selektivität der Harze) und zum anderen mit nicht normierten (Gesamteigenschaft der Harze) Retentionsfaktoren durchgeführt wird eine sehr ähnliche Einteilung der Materialien, wie sie anhand des LSER-Modells durchgeführt wurde.

Für eine Überprüfung der Anwendbarkeit des LSER-Modells bezüglich der Vorhersage von Extraktionseigenschaften, werden fünf acide und fünf basische Analyten aus verschiedenen Volumina Wasser auf fünf Materialien extrahiert und deren Wiederfindungsraten ermittelt. Der Vergleich der Extraktionsergebnisse mit den zuvor anhand der LSER-Gleichung errechneten Retentionsfaktoren der Analyten zeigt für die aciden Bedingungen recht gute Übereinstimmung. Bei den basischen sind die Unterschiede in den berechneten Retentionsfaktoren und ermittelten Wiederfindungsraten häufig nicht signifikant unterschiedlich, wodurch eine konkrete Aussage über die Übereinstimmung von Vorhersage und Experiment nicht gemacht werden kann.

7 Zusammenfassung

Festphasenmaterialien werden in der Analytik sowohl für die Trennung von Substanzgemischen in der HPLC als auch in der Probenvorbereitung, der SPE, verwendet. Sie kommen also bei wichtigen Schritten des analytischen Prozesses zum Einsatz und haben entscheidenden Einfluß auf die Qualität der Analyse. Die Auswahl des geeigneten Materials hängt maßgeblich vom verfolgten Ziel der Analyse und den Eigenschaften der zu analysierenden Analyten ab. Aus diesem Grund ist die Kenntnis der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Festphasenmaterialien für eine rasche und optimale Auswahl des geeigneten Materials von großer Wichtigkeit.

In der vorliegenden Arbeit erfolgt die Charakterisierung und Klassifizierung von fünf Festphasenmaterialien auf Kieselgelbasis, die sowohl in der HPLC als auch in der SPE Verwendung finden, und 13 Materialien auf Polystyrenbasis für die SPE anhand ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften mit Hilfe des LSER-Modells nach *Abraham*. Die durchgeführte Klassifizierung der Polystyrenmaterialien wird mit einer chemometrischen Methode - einer Clusteranalyse - verglichen.

Für die Charakterisierung werden 11 der 13 Polystyrenmaterialien sowie ein Kieselgelmaterial synthetisiert, wobei sich die Auswahl der vorgenommenen Funktionalisierungen z.T. aus Ergebnissen von zuvor durchgeführten Charakterisierungen ergibt - also systematisch ausgewählt werden. Als Ziel wird dabei die selektive Verbesserung der Retention polarer organischer Analyten verfolgt.

Die Kieselgelphasen werden in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der mobilen Phase Methanol/Wasser untersucht. Dafür werden die Retentionsfaktoren von 20 aciden organischen Analyten bei Laufmittelzusammensetzungen zwischen 80 und 40 % Methanol isokratisch auf vier HPLC-Materialien bestimmt. Es kann gezeigt werden, daß der Logarithmus des Retentionsfaktors eine quadratische Abhängigkeit von der Laufmittelzusammensetzung besitzt. Über eine polynomische Regression zweiter Ordnung der $\log k$ -Werte wird Zugang zu Retentionsfaktoren von Analyten bei sehr polaren mobilen Phasen erlangt, die experimentell nicht bestimmbar sind.

Durch eine multiple lineare Regression der LSER-Gleichung nach *Abraham* erhält man die fünf Eigenschaften der stationären Phase, Polarisierbarkeit r , Dipolarität s , Wasserstoffbrückenbasizität a , Wasserstoffbrückenacidität b und den Cavity-Term v . Sie zeigen alle eine mehr oder weniger starke Abhängigkeit von der Zusammensetzung der mobilen Phase, weshalb die „Phaseneigenschaften“ im allgemeinen besser als Systemeigenschaften bezeichnet werden sollten.

Die Klassifizierung der Materialien erfolgt über die normalisierten polaren Eigenschaften, die für chemisch äquivalente stationäre Phasen ähnlich sind. Dies kann anhand von zwei in dieser Arbeit untersuchter sowie weiterer literaturbekannter ODS-Phasen bestätigt werden, da sie sich bei allen vier normalisierten Phaseneigenschaften stets in einer Gruppe von Materialien befinden. Die Ergebnisse zeigen, daß eine Phenylbutanosulfoxid-Phase über eine besonders ausgeprägte Polarisierbarkeit und Dipolarität verfügt, allerdings eine geringe Acidität im Vergleich zu ODS-Phasen besitzt. Der Einfluß der Sulfoxidgruppe auf die Materialeigenschaften kann also durch das LSER-Modell nachvollzogen werden. Des weiteren kann gezeigt werden, daß eine in der Literatur vorgeschlagene Klassifizierung von Materialien anhand ihrer inneren Hydrophobizitäten nicht möglich ist, da sich bereits die vorgeschlagenen und hier ermittelten Hydrophobizitäten von ODS-Phasen um den Faktor zwei bis drei unterscheiden.

Die in dieser Arbeit untersuchten stationären Phasen besitzen unterschiedliche Gewichtungen von polaren und unpolaren Eigenschaften, wodurch sich signifikant unterschiedliche Elutionsreihenfolgen ergeben. Die LSER-Gleichungen der stationären Phasen bei einem vorgegebenen Laufmittel ermöglichen es, die beobachteten Elutionsreihenfolgen anhand der Beiträge der verschiedenen Wechselwirkungen zwischen Analyt, stationärer und mobiler Phase genau zu erklären und Retentionsunterschiede numerisch darzustellen. Dadurch kann gezeigt werden, daß eine Phenylbutanosulfoxid- und eine Phenylbutanosulfid-Phase gegenüber einer ODS-Phase polare Analyten im Verhältnis zu unpolaren selektiv länger retardieren.

Die Kenntnis der LSER-Gleichung einer stationären Phase ermöglicht die Vorhersage von chromatographischen Trennungen. Die Abweichungen zwischen Vorhersage und Experiment sind relativ gering und vor allem auf Schwächen des Modells bezüglich der Berücksichtigung der Säulenpackung und Kinetik der Gleichgewichtseinstellung zurückzuführen. Dadurch ist es nicht möglich vorherzusagen, bei welchem Trennfaktor zwei Peaks auf einer stationären Phase aufgelöst sind.

Die Polystyrenmaterialien werden in Abhängigkeit vom pH-Wert der mobilen Phase charakterisiert. Dafür werden die Retentionsfaktoren von 19 aciden Analyten bei der mobilen Phase Methanol/Wasser (pH 2) (70:30) und die von 16 basischen Analyten bei der gleichen Laufmittelzusammensetzung, aber bei einem pH-Wert von 9, auf den Polystyrenmaterialien bestimmt.

Die Elutionsreihenfolgen der Analyten ergeben eine grobe Einteilung der Materialien in sehr polare bzw. unpolare Materialien. Des weiteren wird anhand der Retentionsfaktoren deutlich, daß unter aciden Laufmittelbedingungen alle Analyten auf ENV+, einem

kommerziellen SPE-Material, am stärksten retardiert werden. Unter basischen Bedingungen dagegen werden Pyrrol, 3-Chloranilin und Anilin aufgrund polarer Funktionalisierung auf AC-COC1 und AC-COC2 stärker als auf ENV+ retardiert.

Anhand der LSER-Gleichungen der Harze läßt sich der Effekt der durchgeführten Funktionalisierung auf die physikalisch-chemischen Eigenschaften genau aufzeigen, da alle Phasen bei der gleichen Laufmittelzusammensetzung charakterisiert werden. Ebenso wie bei den Kieselgelphasen wird auch hier mit zunehmender polarer Funktionalisierung, und somit Solvatisierung der stationären Phase, der Cavity-Term v kleiner. Er repräsentiert die Kohäsivität und ist dadurch ein Maß für die Hydrophobizität der Phase. Dagegen vergrößern funktionelle Gruppen die Polarisierbarkeit, Dipolarität und Basizität. Die Acidität bleibt zumeist unbeeinflusst.

Der Vergleich der fünf Systemeigenschaften eines Materials unter basischen und aciden Bedingungen zeigt eine klare Abhängigkeit vom pH-Wert des Laufmittels. Unter basischen Bedingungen ist eine deutliche Verschiebung in der Gewichtung der Phaseneigenschaften zu den polaren Eigenschaften hin zu beobachten. Die Ursache liegt in einer gesteigerten Solvatisierung der stationären Phase durch Moleküle des Laufmittels begründet. Dabei verhalten sich die Dipolarität s und Polarisierbarkeit r genau gegensätzlich. Während r bei allen Phasen unter basischen Bedingungen um ein Vielfaches größer als bei pH 2 ist, wird die Dipolarität negativ und verkürzt dadurch die Retention von Analyten. Die Basizität a zeigt sich als pH-Wert-unabhängige Eigenschaft, während die Acidität b bei fast allen Materialien unter basischen Bedingungen verbessert ist. Lediglich zwei Harze - ein nitriertes und ein sulfoniertes - weichen von diesen Tendenzen ab. Sie besitzen beide bei pH 9 eine positive Basizität.

Eine Klassifizierung der Materialien anhand ihrer normalisierten Eigenschaften ergibt Harzgruppen mit ähnlichen Selektivitäten, die anhand einer Clusteranalyse und durch die beobachteten Elutionsreihenfolgen überwiegend bestätigt werden kann.

Die LSER-Gleichungen der Materialien können allerdings nur teilweise für eine Vorhersage von Extraktionsfähigkeiten der Harze verwendet werden. Anhand von Extraktionsexperimenten zur Bestimmung von Wiederfindungsraten aus 100 % Wasser wird gezeigt, daß Vorhersage und Experiment relativ gut übereinstimmen, wenn die berechneten Retentionsfaktoren der Analyten einen ausreichend großen Unterschied aufweisen. Dies ist zumeist bei den aciden Bedingungen gegeben, während bei basischen kein signifikanter Unterschied im Extraktionsverhalten ermittelt werden kann.

Demnach ist das LSER-Modell in der heutigen Form nicht geeignet, chromatographische Trennprobleme oder die Extraktionen von Analyten in einer ausreichenden Genauigkeit zu berechnen, dennoch zeigt es vielversprechende Möglichkeiten auf.

In dieser Arbeit wird erstmals eine ausführliche Charakterisierung von Festphasenmaterialien unterschiedlichster Funktionalisierung für die Flüssigchromatographie mit Hilfe des LSER-Modells durchgeführt und mit Ergebnissen aus der Literatur verglichen. Die Charakterisierung führt zu einer sinnvollen Klassifizierung der Materialien, die ein Anfang für weiterführende Untersuchungen sein kann. Die LSER-Gleichung von stationären Phasen bietet die Möglichkeit der einfachen Auswahl von Festphasenmaterialien für die Trennung von Analytgemischen sowie die effektive Anreicherung von Substanzen. Der Bedarf an einer Vereinfachung und Beschleunigung dieses Auswahlprozesses zeigt sich bereits darin, daß an der Entwicklung von Software für die Optimierung von Trennungen gearbeitet wird. Das LSER-Modell in seiner aktuellen Form ist zwar noch auf isokratische Bedingungen beschränkt, es existieren aber schon Ansätze, die sich mit Gradientensystemen beschäftigen und somit für eine praktische Anwendung vielversprechend sind.

Neben der Anwendung für die Laborpraxis bietet das LSER-Modell auch die Möglichkeit der gezielten Synthese von stationären Phasen mit genau definierten Eigenschaften, wodurch die Herstellung neuer Materialien viel effektiver gestaltet werden kann.

8 Summary

Solid-phase materials are used for the separation of complex mixtures with the help of HPLC as well as in the process of sample preparation with SPE. They are involved in important steps of the analytical method and therefore have a crucial influence on the quality of the analysis. The selection of a suitable material largely depends on the aim of the analysis and the characteristics of the solutes to be analyzed. For this reason the knowledge of the physico-chemical properties of the solid-phase materials is of great importance for a fast and optimal selection of the suitable material.

This work describes a characterization and classification of five solid-phase materials based on silica gel which are used in HPLC as well as in SPE, and of 13 polystyrene materials for SPE. This classification is performed according to the physico-chemical properties determined in agreement with the LSER model of *Abraham*. The classification of the polystyrene materials is compared with the result of a cluster analysis which belongs to the chemometric methods.

The first step in this work was the synthesis of eleven of the 13 polystyrene materials and one silica gel based material. The selection of the functional groups introduced into these materials was based on the results of characterizations which have been carried out before. The main purpose of the derivatizations was to improve the selective retention of polar organic compounds.

The characterization of the silica gel based materials in dependency on the mobile phase composition of methanol/water-mixtures was done by measuring the isocratic retention factors of 20 acidic compounds in eluent mixtures between 80 and 40 % organic modifier on four HPLC-phases. The logarithm of the retention factors shows a quadratic dependency on the composition of the mobile phase. With the help of a second order polynomial regression the log *k*-values of analytes in experimentally inaccessible very polar mobile phases could be calculated.

The five physico-chemical properties of the stationary phase, namely polarizability *r*, dipolarity *s*, hydrogen-bond basicity *a*, hydrogen-bond acidity *b* and the cavity-term *v*, are obtained through a multiple linear regression of the LSER equation given by *Abraham*. All of these properties show a more or less strong dependency on the mobile phase composition. Because of this fact the phase properties generally should be called system properties.

The classification of the materials is done by the use of the normalized polar system properties which are similar for chemically equivalent stationary phases. This could be demonstrated using the results of the two ODS-phases under investigation here and further

ODS-phases described in the literature, because they showed similar normalized properties. Furthermore the results demonstrated that a phenylbutanosulfoxide phase has a particularly pronounced polarizability and also dipolarity, but in contrast a small acidity compared to the ODS-phases. Thus, the LSER-model is useful to describe the influence of the sulfoxide group on the phase properties. It could be proved that a classification on the basis of the “intrinsic hydrophobicity” suggested in the literature is not possible, because the suggested and determined intrinsic hydrophobicities of ODS phases differ by the factor of two to three.

The polar and nonpolar characteristics of the stationary phases studied in this work contribute quite differently to the over-all properties of the phases, leading to significantly different elution orders. The LSER equations of the stationary phases at a given mobile phase composition make it possible to explain the observed elution order with the help of the contributions of the five different interactions between the analyte, the stationary and the mobile phase and to find quantitative retention differences. Thus it is possible to demonstrate that a phenylbutanosulfide and a phenylbutanosulfoxide phase in relation to an ODS phase are relatively more retentive toward polar than toward nonpolar compounds.

The knowledge of the LSER equation of a stationary phase enables the prediction of chromatographic selectivities to be done. Differences between the predicted and the measured values are small and mainly due to a weakness of the model with respect to the column packing and the kinetic aspect of the equilibria of the analyte. This is the reason why the model is not able accurately to predict the resolution of two compounds.

The polystyrene materials are characterized in dependency on the pH-value of the mobile phase. The retention factors of 19 acidic compounds are measured isocratically at a mobile phase composition of methanol/water (pH 2) (70:30) and also those of 16 basic compounds are determined at pH 9.

The results of the elution order determinations enable a rough classification of the materials into very polar or nonpolar phases to be made. Furthermore the retention factors indicate that ENV+, a commercial SPE-material, is the most retentive resin under acidic conditions. In contrast to this fact three analytes, namely pyrrole, 3-chloroaniline and aniline, have larger retention factors on polar functionalized materials, namely AC-COC1 and AC-COC2, at pH 9 than on ENV+.

The effect of the functional groups on the physico-chemical properties of the resins is pointed out by the LSER equation, because all phases are characterized at the same mobile phase composition. In analogy to the silica gel materials the cavity-term v , indicating the

hydrophobicity of the stationary phase, decreases with increasing polar functionlization due to an increased solvation of the stationary phase. In contrast to this trend the polarizability, dipolarity and basicity are improved, while the acidity of the phases stayed the same.

The comparison of the five system properties of one material under basic and acidic conditions shows a clear dependency on the pH value of the mobile phase. Under basic conditions a shift in the relative importance of the phase characteristics toward the polar properties is observed. The reason is an increased solvation of the stationary phase by molecules of the mobile phase. While the polarizability r of all phases at pH 9 is much higher than at acidic conditions, the dipolarity decreases to negative values and disfavors retention of analytes. The basicity a seems to be a pH-independent property while the acidity b of nearly all materials is improved at basic conditions. Only two resins – a nitrated and a sulfonated one – deviate from these tendency because they both possess a positive basicity at pH 9.

It was possible to classify the materials on the basis of their normalized properties in groups of resins with similar selectivities. A cluster analysis and the observed elution orders supportet this classifications.

However, the LSER equations of the materials could be used for a prediction of extraction abilities of the resins in a few cases only. Extraction experiments concerning the determination of recoveries from 100 % water demonstrated, that the prediction and the experiment give similar results when the calculated retention factors of the analytes show a sufficiently large difference. This was true under acidic conditions, but at pH 9 no significant difference in the extraction behavior could be observed.

Although the LSER model in its present form is not suitable for the calculation of chromatographic separation problems or the extraction of analytes to a sufficient accuracy, it has the potential to become a powerful tool for these kinds of applications in the future.

In this work a detailed characterization of completely different functionalized solid-phase materials for the liquid-chromatography through use of the LSER model developed by *Abraham* has been described. Furthermore, a comparison of the results to those published in the literature has been shown, too. The characterization led to a useful classification of the materials which could be the start for promising investigations. The LSER equations of stationary phases offer the possibility of simple selection of solid-phase materials for the separation of compound mixtures as well as for effective enrichment of substances. The requirement of a simplification and an acceleration of the selection process is already

indicated by the development of software for the optimization of separations. In its present form the LSER-model is still limited to isocratically conditions. First steps in using it for gradient systems, which are more interesting for practical purpose, have yet to be taken.

Its application is not only useful for special separation problems but it can also guide the systematic synthesis of stationary phases with defined characteristics.

9 Anhang

9.1 Daten und Statistiken

9.1.1 Anhand Gleichung 5.3 b extrapolierte Retentionsfaktoren

ODS-5 μ m-Phase

Tab. 9.1: Anhand Gl. 5.3 b extrapolierte log k-Werte von 20 Analyten für die ODS-5 μ m-Phase bei 35, 30, 25, 20 und 15 % Methanol

Analyt	log k bei 35 % Methanol	log k bei 30 % Methanol	log k bei 25 % Methanol	log k bei 20 % Methanol	log k bei 15 % Methanol
Benzoessäure	0,856	1,029	1,206	1,384	1,565
Benzylalkohol	0,466	0,582	0,695	0,805	0,912
Benzaldehyd	0,683	0,823	0,963	1,104	1,246
m-Tolylsäure	1,282	1,492	1,706	1,925	2,149
Acetophenon	0,847	1,012	1,180	1,351	1,526
Phenol	0,505	0,631	0,757	0,882	1,005
2-Chlorphenol	0,959	1,117	1,274	1,430	1,585
2-Nitrophenol	0,911	1,047	1,182	1,315	1,447
4-Nitrophenol	0,767	0,914	1,061	1,208	1,354
2-Methylphenol	0,919	1,071	1,223	1,375	1,527
3-Methylphenol	0,896	1,057	1,220	1,384	1,550
4-Methylphenol	0,899	1,063	1,229	1,398	1,568
2-Fluorphenol	0,605	0,746	0,889	1,032	1,176
3-Bromphenol	1,301	1,487	1,675	1,864	2,055
2-Iodphenol	1,274	1,463	1,654	1,848	2,043
2-Methoxyphenol	0,542	0,680	0,819	0,959	1,100
4-Methoxyphenol	0,387	0,532	0,679	0,830	0,984
2-Nitrotoluen	1,309	1,485	1,662	1,840	2,021
3-Nitrotoluen	1,379	1,553	1,728	1,905	2,082
4-Nitrotoluen	1,347	1,522	1,698	1,876	2,055

Tab. 9.2: Anhand Gl. 5.3 b extrapolierte k-Werte von 20 Analyten für die ODS-5 μ m-Phase bei 35, 30, 25, 20 und 15 % Methanol

Analyt	k bei 35 % Methanol	k bei 30 % Methanol	k bei 25 % Methanol	k bei 20 % Methanol	k bei 15 % Methanol
Benzoessäure	7,2	10,7	16,1	24,2	36,7
Benzylalkohol	2,9	3,8	5,0	6,4	8,2
Benzaldehyd	4,8	6,6	9,2	12,7	17,6
m-Tolylsäure	19,1	31,0	50,8	84,1	140,9
Acetophenon	7,0	10,3	15,1	22,5	33,6
Phenol	3,2	4,3	5,7	7,6	10,1
2-Chlorphenol	9,1	13,1	18,8	26,9	38,4
2-Nitrophenol	8,2	11,1	15,2	20,7	28,0
4-Nitrophenol	5,8	8,2	11,5	16,1	22,6
2-Methylphenol	8,3	11,8	16,7	23,7	33,6
3-Methylphenol	7,9	11,4	16,6	24,2	35,5
4-Methylphenol	7,9	11,6	17,0	25,0	37,0
2-Fluorphenol	4,0	5,6	7,7	10,8	15,0
3-Bromphenol	20,0	30,7	47,3	73,1	113,5
2-Iodphenol	18,8	29,0	45,1	70,4	110,5
2-Methoxyphenol	3,5	4,8	6,6	9,1	12,6
4-Methoxyphenol	2,4	3,4	4,8	6,8	9,6
2-Nitrotoluen	20,4	30,5	45,9	69,3	104,9
3-Nitrotoluen	23,9	35,7	53,5	80,3	120,9
4-Nitrotoluen	22,2	33,2	49,9	75,2	113,6

PoEt-5 μ m-PhaseTab. 9.3: Anhand Gl. 5.3 b extrapolierte log k-Werte und k-Werte von 20 Analyten für die PoEt-5 μ m-Phase bei 20 und 15 % Methanol

Analyt	log k bei 20 % Methanol	log k bei 15 % Methanol	k bei 20 % Methanol	k bei 15 % Methanol
Benzoessäure	-0,091	-0,074	0,81	0,84
Benzylalkohol	-0,348	-0,350	0,45	0,45
Benzaldehyd	-0,049	-0,011	0,89	0,97
m-Tolylsäure	0,118	0,163	1,31	1,45
Acetophenon	0,087	0,149	1,22	1,41
Phenol	-0,363	-0,372	0,43	0,42
2-Chlorphenol	-0,117	-0,103	0,76	0,79
2-Nitrophenol	-0,109	-0,087	0,78	0,82
4-Nitrophenol	-0,265	-0,280	0,54	0,53
2-Methylphenol	-0,217	-0,217	0,61	0,61
3-Methylphenol	-0,194	-0,185	0,64	0,65
4-Methylphenol	-0,189	-0,182	0,65	0,66
2-Fluorphenol	-0,281	-0,283	0,52	0,52
3-Bromphenol	-0,040	-0,043	0,91	0,91
2-Iodphenol	0,008	0,024	1,02	1,06
2-Methoxyphenol	-0,235	-0,220	0,58	0,60
4-Methoxyphenol	-0,248	-0,242	0,56	0,57
2-Nitrotoluen	0,184	0,227	1,53	1,69
3-Nitrotoluen	0,201	0,248	1,59	1,77
4-Nitrotoluen	0,209	0,256	1,62	1,80

PBS-5 μ m- PhaseTab. 9.4: Anhand Gl. 5.3 b extrapolierte log k-Werte von 20 Analyten für die PBS-5 μ m-Phase bei 35, 30, 25, 20 und 15 % Methanol

Analyt	log k bei 35 % Methanol	log k bei 30 % Methanol	log k bei 25 % Methanol	log k bei 20 % Methanol	log k bei 15 % Methanol
Benzoessäure	0,442	0,564	0,685	0,804	0,922
Benzylalkohol	0,141	0,217	0,287	0,352	0,411
Benzaldehyd	0,442	0,546	0,649	0,750	0,850
m-Tolylsäure	0,742	0,895	1,049	1,203	1,358
Acetophenon	0,598	0,720	0,842	0,964	1,085
Phenol	0,156	0,237	0,311	0,381	0,444
2-Chlorphenol	0,521	0,642	0,759	0,875	0,988
2-Nitrophenol	0,579	0,683	0,785	0,883	0,979
4-Nitrophenol	0,529	0,643	0,753	0,861	0,966
2-Methylphenol	0,428	0,537	0,643	0,746	0,847
3-Methylphenol	0,424	0,540	0,654	0,767	0,878
4-Methylphenol	0,427	0,543	0,656	0,768	0,878
2-Fluorphenol	0,237	0,332	0,424	0,513	0,598
3-Bromphenol	0,776	0,919	1,060	1,199	1,336
2-Iodphenol	0,833	0,985	1,137	1,290	1,442
2-Methoxyphenol	0,299	0,412	0,526	0,641	0,758
4-Methoxyphenol	0,248	0,363	0,478	0,594	0,711
2-Nitrotoluen	0,937	1,083	1,230	1,377	1,524
3-Nitrotoluen	0,983	1,124	1,264	1,403	1,541
4-Nitrotoluen	0,959	1,104	1,248	1,393	1,537

Tab. 9.5: Anhand Gl. 5.3 b extrapolierte k-Werte von 20 Analyten für die PBS-5µm-Phase bei 35, 30, 25, 20 und 15 % Methanol

Analyt	k bei 35 % Methanol	k bei 30 % Methanol	k bei 25 % Methanol	k bei 20 % Methanol	k bei 15 % Methanol
Benzoessäure	2,8	3,7	4,8	6,4	8,4
Benzylalkohol	1,4	1,6	1,9	2,2	2,6
Benzaldehyd	2,8	3,5	4,5	5,6	7,1
m-Tolylsäure	5,5	7,9	11,2	16,0	22,8
Acetophenon	4,0	5,3	7,0	9,2	12,2
Phenol	1,4	1,7	2,0	2,4	2,8
2-Chlorphenol	3,3	4,4	5,7	7,5	9,7
2-Nitrophenol	3,8	4,8	6,1	7,6	9,5
4-Nitrophenol	3,4	4,4	5,7	7,3	9,2
2-Methylphenol	2,7	3,4	4,4	5,6	7,0
3-Methylphenol	2,7	3,5	4,5	5,8	7,5
4-Methylphenol	2,7	3,5	4,5	5,9	7,5
2-Fluorphenol	1,7	2,1	2,7	3,3	4,0
3-Bromphenol	6,0	8,3	11,5	15,8	21,7
2-Iodphenol	6,8	9,7	13,7	19,5	27,7
2-Methoxyphenol	2,0	2,6	3,4	4,4	5,7
4-Methoxyphenol	1,8	2,3	3,0	3,9	5,1
2-Nitrotoluen	8,7	12,1	17,0	23,8	33,4
3-Nitrotoluen	9,6	13,3	18,4	25,3	34,7
4-Nitrotoluen	9,1	12,7	17,7	24,7	34,5

PBSO-5µm-Phase

Tab. 9.6: Anhand Gl. 5.3 b extrapolierte log k-Werte von 20 Analyten für die PBSO-5µm-Phase bei 35, 30, 25, 20 und 15 % Methanol

Analyt	log k bei 35 % Methanol	log k bei 30 % Methanol	log k bei 25 % Methanol	log k bei 20 % Methanol	log k bei 15 % Methanol
Benzoessäure	0,311	0,440	0,564	0,683	0,796
Benzylalkohol	-0,089	0,003	0,083	0,152	0,209
Benzaldehyd	0,126	0,231	0,330	0,422	0,507
m-Tolylsäure	0,562	0,718	0,870	1,020	1,166
Acetophenon	0,198	0,303	0,397	0,482	0,556
Phenol	0,154	0,251	0,339	0,420	0,494
2-Chlorphenol	0,561	0,685	0,803	0,915	1,022
2-Nitrophenol	0,401	0,496	0,584	0,663	0,734
4-Nitrophenol	0,619	0,741	0,857	0,969	1,077
2-Methylphenol	0,395	0,502	0,601	0,693	0,778
3-Methylphenol	0,364	0,470	0,567	0,655	0,734
4-Methylphenol	0,349	0,452	0,545	0,628	0,702
2-Fluorphenol	0,193	0,274	0,343	0,401	0,447
3-Bromphenol	0,812	0,952	1,087	1,218	1,344
2-Iodphenol	0,864	1,007	1,147	1,283	1,417
2-Methoxyphenol	0,097	0,181	0,256	0,320	0,375
4-Methoxyphenol	0,147	0,253	0,353	0,448	0,536
2-Nitrotoluen	0,657	0,786	0,910	1,028	1,142
3-Nitrotoluen	0,685	0,813	0,936	1,054	1,168
4-Nitrotoluen	0,653	0,779	0,900	1,016	1,127

Tab. 9.7: Anhand Gl. 5.3 b extrapolierte k-Werte von 20 Analyten für die PBSO-5µm-Phase bei 35, 30, 25, 20 und 15 % Methanol

Analyt	k bei 35 % Methanol	k bei 30 % Methanol	k bei 25 % Methanol	k bei 20 % Methanol	k bei 15 % Methanol
Benzoessäure	2,0	2,8	3,7	4,8	6,3
Benzylalkohol	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6
Benzaldehyd	1,3	1,7	2,1	2,6	3,2
m-Tolylsäure	3,6	5,2	7,4	10,5	14,7
Acetophenon	1,6	2,0	2,5	3,0	3,6
Phenol	1,4	1,8	2,2	2,6	3,1
2-Chlorphenol	3,6	4,8	6,4	8,2	10,5
2-Nitrophenol	2,5	3,1	3,8	4,6	5,4
4-Nitrophenol	4,2	5,5	7,2	9,3	11,9
2-Methylphenol	2,5	3,2	4,0	4,9	6,0
3-Methylphenol	2,3	2,9	3,7	4,5	5,4
4-Methylphenol	2,2	2,8	3,5	4,3	5,0
2-Fluorphenol	1,6	1,9	2,2	2,5	2,8
3-Bromphenol	6,5	9,0	12,2	16,5	22,1
2-Iodphenol	7,3	10,2	14,0	19,2	26,1
2-Methoxyphenol	1,2	1,5	1,8	2,1	2,4
4-Methoxyphenol	1,4	1,8	2,3	2,8	3,4
2-Nitrotoluen	4,5	6,1	8,1	10,7	13,9
3-Nitrotoluen	4,8	6,5	8,6	11,3	14,7
4-Nitrotoluen	4,5	6,0	7,9	10,4	13,4

9.1.2 Logarithmierte Retentionsfaktoren der experimentellen Daten

ODS-5 μ m-Phase

Tab. 9.8: log k-Werte von 20 Analyten auf der ODS-5 μ m-Phase für 80 bis 40 % Methanol

Analyt	log k 80	log k 75	log k 70	log k 65	log k 60	log k 55	log k 50	log k 45	log k 40
Benzoessäure	-0,588	-0,447	-0,303	-0,117	0,021	0,172	0,371	0,514	0,680
Benzylalkohol	-0,720	-0,551	-0,432	-0,280	-0,165	-0,035	0,106	0,223	0,351
Benzaldehyd	-0,541	-0,415	-0,286	-0,128	-0,008	0,122	0,276	0,402	0,544
m-Tolylsäure	-0,379	-0,227	-0,064	0,135	0,301	0,488	0,701	0,875	1,072
Acetophenon	-0,483	-0,353	-0,218	-0,064	0,068	0,218	0,382	0,524	0,685
Phenol	-0,677	-0,555	-0,423	-0,271	-0,146	-0,019	0,129	0,246	0,373
2-Chlorphenol	-0,507	-0,335	-0,178	-0,001	0,148	0,313	0,490	0,636	0,800
2-Nitrophenol	-0,361	-0,219	-0,079	0,079	0,210	0,355	0,507	0,629	0,775
4-Nitrophenol	-0,570	-0,432	-0,261	-0,118	0,017	0,168	0,335	0,467	0,620
2-Methylphenol	-0,458	-0,303	-0,158	0,009	0,151	0,305	0,471	0,608	0,767
3-Methylphenol	-0,483	-0,336	-0,206	-0,036	0,106	0,265	0,429	0,571	0,736
4-Methylphenol	-0,497	-0,348	-0,208	-0,040	0,106	0,262	0,428	0,568	0,737
2-Fluorphenol	-0,638	-0,494	-0,371	-0,228	-0,090	0,048	0,183	0,320	0,467
3-Bromphenol	-0,294	-0,116	0,045	0,226	0,396	0,580	0,754	0,931	1,120
2-Iodphenol	-0,320	-0,147	0,017	0,194	0,364	0,546	0,720	0,899	1,091
2-Methoxyphenol	-0,673	-0,530	-0,399	-0,263	-0,140	-0,005	0,126	0,263	0,412
4-Methoxyphenol	-0,762	-0,679	-0,539	-0,400	-0,286	-0,159	-0,031	0,101	0,251
2-Nitrotoluen	-0,199	-0,037	0,123	0,292	0,456	0,626	0,790	0,960	1,138
3-Nitrotoluen	-0,135	0,028	0,194	0,361	0,526	0,696	0,862	1,031	1,209
4-Nitrotoluen	-0,164	0,000	0,163	0,328	0,493	0,663	0,829	0,997	1,176

PoEt-5 μ m-Phase und ODS-50 μ m-Phase

Tab. 9.9: log k-Werte von 20 Analyten auf der PoEt-5 μ m-Phase für 50 bis 25 % Methanol und auf der ODS-50 μ m-Phase bei 40 % Methanol

Analyt	log k 50	log k 45	log k 40	log k 35	log k 30	log k 25	ODS 50- μ m, 40 % Methanol		
Benzoessäure	-0,363	-0,296	-0,241	-0,190	-0,147	-0,117		0,643	
Benzylalkohol	-0,476	-0,439	-0,404	-0,384	-0,363	-0,352		0,419	
Benzaldehyd	-0,352	-0,288	-0,233	-0,186	-0,134	-0,089		0,659	
m-Tolylsäure	-0,278	-0,197	-0,122	-0,053	0,015	0,066		1,026	
Acetophenon	-0,288	-0,232	-0,164	-0,100	-0,039	0,023		0,881	
Phenol	-0,475	-0,437	-0,404	-0,381	-0,371	-0,361		0,322	
2-Chlorphenol	-0,361	-0,306	-0,249	-0,205	-0,166	-0,140		0,752	
2-Nitrophenol	-0,353	-0,299	-0,248	-0,204	-0,172	-0,134		0,878	
4-Nitrophenol	-0,439	-0,381	-0,332	-0,296	-0,272	-0,264		0,416	
2-Methylphenol	-0,400	-0,353	-0,305	-0,271	-0,240	-0,228		0,709	
3-Methylphenol	-0,393	-0,345	-0,298	-0,266	-0,233	-0,211		0,675	
4-Methylphenol	-0,393	-0,342	-0,296	-0,256	-0,225	-0,205		0,687	
2-Fluorphenol	-0,439	-0,392	-0,356	-0,325	-0,297	-0,289		0,424	
3-Bromphenol	-0,289	-0,225	-0,158	-0,105	-0,068	-0,053		1,058	
2-Iodphenol	-0,296	-0,225	-0,158	-0,100	-0,053	-0,021		1,039	
2-Methoxyphenol	-0,442	-0,391	-0,351	-0,314	-0,279	-0,256		0,455	
4-Methoxyphenol	-0,465	-0,414	-0,361	-0,315	-0,287	-0,264		0,248	
2-Nitrotoluen	-0,192	-0,122	-0,043	0,022	0,084	0,134		1,258	
3-Nitrotoluen	-0,191	-0,116	-0,039	0,027	0,095	0,147		1,330	
4-Nitrotoluen	-0,199	-0,117	-0,039	0,031	0,098	0,155		1,303	

PBS-5 μ m-PhaseTab. 9.10: log k-Werte von 20 Analyten auf der PBS-5 μ m-Phase für 75 bis 40 % Methanol

Analyt	log k 75	log k 70	log k 65	log k 60	log k 55	log k 50	log k 45	log k 40
Benzoessäure	-0,601	-0,451	-0,318	-0,199	-0,067	0,064	0,192	0,320
Benzylalkohol	-0,669	-0,540	-0,415	-0,318	-0,226	-0,122	-0,028	0,065
Benzaldehyd	-0,465	-0,309	-0,210	-0,114	0,005	0,118	0,228	0,340
m-Tolylsäure	-0,477	-0,318	-0,162	-0,027	0,131	0,284	0,434	0,591
Acetophenon	-0,398	-0,264	-0,140	-0,035	0,095	0,252	0,345	0,473
Phenol	-0,698	-0,553	-0,429	-0,335	-0,225	-0,124	-0,022	0,075
2-Chlorphenol	-0,527	-0,382	-0,237	-0,124	0,015	0,148	0,274	0,400
2-Nitrophenol	-0,361	-0,237	-0,103	0,009	0,132	0,250	0,361	0,471
4-Nitrophenol	-0,497	-0,343	-0,212	-0,093	0,042	0,170	0,292	0,413
2-Methylphenol	-0,537	-0,400	-0,271	-0,157	-0,036	0,088	0,201	0,319
3-Methylphenol	-0,564	-0,428	-0,302	-0,186	-0,050	0,072	0,191	0,309
4-Methylphenol	-0,563	-0,429	-0,303	-0,187	-0,054	0,069	0,188	0,306
2-Fluorphenol	-0,641	-0,537	-0,415	-0,295	-0,177	-0,063	0,045	0,128
3-Bromphenol	-0,429	-0,279	-0,113	0,029	0,188	0,340	0,485	0,630
2-Iodphenol	-0,360	-0,227	-0,066	0,077	0,234	0,384	0,531	0,680
2-Methoxyphenol	-0,562	-0,461	-0,354	-0,250	-0,144	-0,028	0,079	0,185
4-Methoxyphenol	-0,646	-0,537	-0,425	-0,320	-0,202	-0,091	0,019	0,134
2-Nitrotoluen	-0,210	-0,080	0,069	0,209	0,361	0,506	0,647	0,788
3-Nitrotoluen	-0,180	-0,035	0,118	0,258	0,412	0,557	0,698	0,840
4-Nitrotoluen	-0,186	-0,061	0,093	0,235	0,387	0,531	0,671	0,812

PBSO-5 μ m-PhaseTab. 9.11: log k-Werte von 20 Analyten auf der PBSO-5 μ m-Phase für 70 bis 40 % Methanol

Analyt	log k 70	log k 65	log k 60	log k 55	log k 50	log k 45	log k 40
Benzoessäure	-0,746	-0,566	-0,415	-0,261	-0,115	0,045	0,174
Benzylalkohol	-1,036	-0,897	-0,721	-0,554	-0,433	-0,302	-0,196
Benzaldehyd	-0,819	-0,623	-0,507	-0,370	-0,242	-0,101	0,016
m-Tolylsäure	-0,624	-0,429	-0,255	-0,099	0,066	0,247	0,405
Acetophenon	-0,832	-0,629	-0,476	-0,323	-0,190	-0,042	0,088
Phenol	-0,741	-0,580	-0,443	-0,309	-0,191	-0,054	0,048
2-Chlorphenol	-0,471	-0,287	-0,143	0,013	0,144	0,301	0,434
2-Nitrophenol	-0,499	-0,331	-0,196	-0,055	0,052	0,188	0,301
4-Nitrophenol	-0,373	-0,201	-0,062	0,091	0,210	0,365	0,495
2-Methylphenol	-0,555	-0,382	-0,242	-0,097	0,019	0,164	0,285
3-Methylphenol	-0,663	-0,463	-0,316	-0,158	-0,038	0,115	0,240
4-Methylphenol	-0,634	-0,442	-0,294	-0,148	-0,020	0,129	0,253
2-Fluorphenol	-0,704	-0,530	-0,380	-0,248	-0,125	-0,009	0,105
3-Bromphenol	-0,294	-0,119	0,043	0,209	0,365	0,519	0,668
2-Iodphenol	-0,225	-0,050	0,100	0,262	0,417	0,568	0,719
2-Methoxyphenol	-0,787	-0,607	-0,485	-0,342	-0,220	-0,106	0,005
4-Methoxyphenol	-0,760	-0,622	-0,474	-0,333	-0,206	-0,087	0,036
2-Nitrotoluen	-0,379	-0,213	-0,058	0,093	0,244	0,385	0,525
3-Nitrotoluen	-0,346	-0,184	-0,032	0,127	0,273	0,414	0,552
4-Nitrotoluen	-0,363	-0,201	-0,050	0,103	0,248	0,386	0,523

Polystyrenmaterialien unter aciden Bedingungen

Tab. 9.12: log k-Werte von 19 Analyten auf 13 Polystyrenmaterialien bei 70 % Methanol und pH 2

Analyt	ENV+	AC	AC-A	AC-COC1	AC-COC2	AC-COC3	AC-C8
Benzoessäure	0,679	0,386	0,355	0,253	0,344	0,425	0,439
Benzylalkohol	0,267	0,029	-0,091	-0,148	-0,117	0,005	0,089
m-Tolylsäure	0,915	0,688	0,625	0,494	0,628	0,749	0,641
Acetophenon	0,986	0,884	0,633	0,642	0,759	0,810	0,774
Phenol	0,329	0,072	0,194	0,073	0,091	0,101	0,279
2-Chlorphenol	0,727	0,524	0,617	0,463	0,517	0,538	0,665
2-Nitrophenol	1,217	1,138	1,009	0,978	1,048	1,082	1,096
4-Nitrophenol	1,035	0,573	0,877	0,694	0,695	0,638	0,789
2-Methylphenol	0,624	0,458	0,488	0,344	0,393	0,437	0,572
3-Methylphenol	0,586	0,351	0,403	0,281	0,336	0,369	0,487
4-Methylphenol	0,627	0,371	0,429	0,314	0,362	0,404	0,481
2-Fluorphenol	0,406	0,151	0,261	0,107	0,155	0,184	0,335
3-Bromphenol	0,987	0,751	0,905	0,736	0,773	0,786	0,913
2-Iodphenol	1,123	0,844	0,962	0,860	0,884	0,865	0,993
2-Methoxyphenol	0,527	0,358	0,280	0,209	0,297	0,329	0,409
4-Methoxyphenol	0,524	0,151	0,263	0,125	0,161	0,198	0,287
2-Nitrotoluen	1,434	1,453	1,153	1,101	1,285	1,350	1,325
3-Nitrotoluen	1,587	1,436	1,230	1,240	1,413		1,406
4-Nitrotoluen	1,583	1,386	1,201	1,292	1,396		1,372

Fortsetzung von Tabelle 9.12

Analyt	AC-C12	AC-CA	AC-TCA	AC-NO₂	AC-SO₃H	AC-SCN
Benzoessäure	0,390	0,155	0,612	-0,333	-0,338	0,336
Benzylalkohol	-0,035	-0,332	0,074	-0,597	-0,479	0,045
m-Tolylsäure	0,568	0,484	0,839	-0,158	-0,217	0,603
Acetophenon	0,727	0,618	0,815	0,274	0,136	0,790
Phenol	0,180	-0,061	0,151	-0,314	-0,429	0,069
2-Chlorphenol	0,572	0,439	0,566	0,080	-0,149	0,472
2-Nitrophenol	1,050	0,938	1,112	0,666	0,438	1,048
4-Nitrophenol	0,641	0,702	0,807	0,683	0,171	0,595
2-Methylphenol	0,486	0,274	0,461	-0,198	-0,327	0,372
3-Methylphenol	0,382	0,236	0,443	-0,197	-0,347	0,320
4-Methylphenol	0,384	0,256	0,476	-0,196	-0,325	0,327
2-Fluorphenol	0,230	0,071	0,243	-0,267	-0,418	0,107
3-Bromphenol	0,824	0,730	0,902	0,253	0,183	0,694
2-Iodphenol	0,885	0,906	0,977	0,376	0,201	0,830
2-Methoxyphenol	0,314	0,232	0,389	-0,125	-0,287	0,336
4-Methoxyphenol	0,159	0,039	0,308	-0,236	-0,386	0,188
2-Nitrotoluen	1,291	1,167		0,768	0,588	1,256
3-Nitrotoluen	1,375	1,175		0,944	0,714	1,263
4-Nitrotoluen	1,362	1,191		0,960	0,729	1,299

Polystyrenmaterialien unter basischen Bedingungen

Tab. 9.13: log k-Werte von 16 Analyten auf zwölf Polystyrenmaterialien bei 70 % Methanol und pH 9

Analyt	ENV+	AC	AC-A	AC-COC1	AC-COC2	AC-COC3
Anilin	0,438	0,410	0,289	0,435	0,456	0,370
2-Methylanilin	0,638	0,778	0,541	0,630	0,730	0,697
3-Methylanilin	0,688	0,695	0,507	0,594	0,670	0,653
4-Methylanilin	0,708	0,675	0,476	0,588	0,659	0,636
2-Chloranilin	0,971	1,059	0,891	0,983	1,061	1,031
3-Chloranilin	0,915	0,881	0,819	0,910	0,939	0,882
4-Chloranilin	0,898	0,832	0,776	0,869	0,903	0,813
3-Nitroanilin	0,989	0,752	0,838	0,911	0,885	0,759
4-Nitroanilin	1,008	0,594	0,845	0,907	0,814	0,626
Pyridin	0,211	0,064	-0,275	0,042	0,045	-0,008
2-Methylpyridin	0,395	0,310	-0,120	0,142	0,197	0,229
2-Ethylpyridin	0,600	0,526	0,087	0,291	0,381	0,434
3,4-Dimethylpyridin	0,790	0,670	0,184	0,381	0,452	0,563
Pyrimidin	-0,147	-0,352	-0,636	-0,187	-0,223	-0,452
Pyrrol	0,158	0,069	0,090	0,255	0,226	0,048
Phenylharnstoff	0,169	-0,155	-0,168	0,118	0,026	-0,175

Fortsetzung Tabelle 9.13

Analyt	AC-C8	AC-C12	AC-CA	AC-TCA	AC-NO₂	AC-SO₃H
Anilin	0,243	0,259	0,337	0,234	-0,274	-0,474
2-Methylanilin	0,531	0,544	0,595	0,603	-0,168	-0,300
3-Methylanilin	0,494	0,501	0,558	0,511	-0,248	-0,278
4-Methylanilin	0,457	0,463	0,536	0,442	-0,283	-0,253
2-Chloranilin	0,884	0,908	0,921	0,904	0,190	0,155
3-Chloranilin	0,791	0,799	0,835	0,809	0,194	0,121
4-Chloranilin	0,726	0,723	0,804	0,743	0,198	0,158
3-Nitroanilin	0,715	0,695	0,855	0,791	0,503	0,132
4-Nitroanilin	0,650	0,598	0,855	0,793	0,697	0,268
Pyridin	-0,283	-0,248	-0,140	-0,057	-1,156	-1,067
2-Methylpyridin	-0,082	-0,049	0,012	0,148	-1,197	-0,841
2-Ethylpyridin	0,131	0,168	0,213	0,378	-1,156	-0,836
3,4-Dimethylpyridin	0,183	0,203	0,313	0,538	-0,588	-0,507
Pyrimidin	-0,346	-0,651	-0,489	-0,490	-1,750	
Pyrrol	0,050	0,075	0,121	0,006	-0,422	-0,766
Phenylharnstoff	-0,294	-0,236	-0,126	-0,114	-0,304	-0,380

9.1.3 Regressionsergebnisse der MLR von Gleichung 2.30

ODS-5 μ m-Phase

Tab. 9.14: Regressionsergebnisse der MLR der LSER-Gleichung für 14 Laufmittelzusammensetzungen für die ODS-5 μ m-Phase

% Methanol	c	r	s	a	b	v	N	R	SD von log k
80	-1,23	0,11	-0,16	-0,24	-1,21	1,42	18	0,98795	0,032
SD	0,11	0,06	0,04	0,03	0,09	0,11			
p-level	0,000E+00	8,771E-02	3,980E-03	5,000E-06	0,000E+00	0,000E+00			
75	-1,10	0,14	-0,21	-0,24	-1,52	1,56	18	0,98888	0,032
SD	0,11	0,06	0,04	0,03	0,10	0,12			
p-level	2,727E-07	3,270E-02	5,549E-04	4,160E-06	3,835E-09	1,279E-08			
70	-1,07	0,15	-0,19	-0,23	-1,60	1,69	18	0,99065	0,031
SD	0,10	0,06	0,04	0,03	0,10	0,11			
p-level	2,629E-07	2,196E-02	8,241E-04	4,347E-06	1,552E-09	3,802E-09			
65	-1,00	0,15	-0,24	-0,21	-1,67	1,85	18	0,98570	0,040
SD	0,10	0,06	0,04	0,03	0,10	0,11			
p-level	7,835E-06	6,350E-02	1,243E-03	1,188E-04	1,753E-08	2,460E-08			
60	-0,96	0,17	-0,28	-0,21	-1,82	2,04	18	0,98769	0,040
SD	0,13	0,07	0,06	0,04	0,13	0,14			
p-level	1,134E-05	4,273E-02	3,723E-04	1,611E-04	6,538E-09	8,062E-09			
55	-0,96	0,18	-0,31	-0,19	-1,93	2,26	18	0,98787	0,042
SD	0,14	0,08	0,06	0,04	0,14	0,15			
p-level	2,035E-05	3,616E-02	2,314E-04	5,829E-04	6,655E-09	5,072E-09			
50	-0,95	0,16	-0,32	-0,15	-1,96	2,45	18	0,98049	0,056
SD	0,19	0,10	0,08	0,05	0,18	0,20			
p-level	2,715E-04	1,489E-01	1,530E-03	1,530E-02	1,265E-07	4,461E-08			
45	-0,96	0,17	-0,36	-0,14	-2,08	2,69	18	0,98335	0,055
SD	0,19	0,10	0,08	0,05	0,18	0,20			
p-level	2,311E-04	1,124E-01	5,595E-04	1,965E-02	5,746E-08	1,438E-08			
40	-1,00	0,19	-0,39	-0,12	-2,03	2,89	19	0,98349	0,061
SD	0,20	0,11	0,09	0,06	0,16	0,22			
p-level	2,806E-04	1,101E-01	4,667E-04	6,677E-02	1,120E-08	5,977E-09			
35	-1,03	0,18	-0,43	-0,09	-2,15	3,18	19	0,98210	0,067
SD	0,23	0,12	0,09	0,06	0,18	0,24			
p-level	5,297E-04	1,724E-01	4,983E-04	2,036E-01	2,043E-08	6,877E-09			
30	-1,08	0,17	-0,48	-0,06	-2,26	3,48	19	0,98144	0,073
SD	0,25	0,13	0,10	0,07	0,19	0,26			
p-level	7,353E-04	2,222E-01	4,502E-04	4,150E-01	2,938E-08	6,330E-09			
25	-1,13	0,16	-0,52	-0,03	-2,39	3,79	19	0,98043	0,080
SD	0,27	0,15	0,11	0,08	0,21	0,29			
p-level	1,030E-03	2,884E-01	4,467E-04	7,132E-01	4,687E-08	6,682E-09			
20	-1,16	0,21	-0,58	-0,04	-2,58	4,06	18	0,98409	0,080
SD	0,27	0,15	0,11	0,08	0,22	0,29			
p-level	1,030E-03	2,884E-01	4,467E-04	7,132E-01	4,687E-08	6,682E-09			
15	-1,23	0,20	-0,63	-0,01	-2,72	4,41	18	0,98285	0,089
SD	0,30	0,17	0,13	0,09	0,24	0,32			
p-level	1,454E-03	2,418E-01	3,007E-04	9,059E-01	9,013E-08	1,096E-08			

Bei 80 und 20 % Methanol wurden 2- und 4-Methoxyphenol, bei 75 bis 45 % Benzylalkohol und 4-Methoxyphenol, bei 40 bis 25 % 4-Methoxyphenol und bei 20 bis 15 % Benzoesäure und 4-Methoxyphenol nicht berücksichtigt.

PoEt-5 μ m-Phase und ODS-50 μ m-PhaseTab. 9.15: Regressionsergebnisse der MLR der LSER-Gleichung für acht Laufmittelzusammensetzungen für die PoEt-5 μ m-Phase und für die ODS-50 μ m-Phase bei 40 % Methanol

% Methanol	c	r	s	a	b	v	N	R	SD von log k
50	-0,77	-0,03	-0,07	-0,16	-0,55	0,81	18	0,98225	0,021
SD	0,07	0,04	0,03	0,02	0,06	0,08			
p-level	1,316E-07	4,688E-01	2,476E-02	4,904E-06	4,903E-07	2,276E-07			
45	-0,77	-0,04	-0,09	-0,16	-0,67	0,93	18	0,98088	0,025
SD	0,08	0,05	0,04	0,02	0,06	0,09			
p-level	7,544E-07	4,642E-01	3,128E-02	2,314E-05	1,739E-07	2,950E-07			
40	-0,82	-0,04	-0,09	-0,18	-0,74	1,08	18	0,97859	0,03
SD	0,10	0,06	0,04	0,03	0,08	0,11			
p-level	2,727E-06	4,644E-01	5,652E-02	6,008E-05	4,120E-07	4,162E-07			
35	-0,90	-0,05	-0,10	-0,19	-0,74	1,25	17	0,98179	0,032
SD	0,10	0,06	0,04	0,03	0,09	0,12			
p-level	3,265E-06	3,922E-01	4,664E-02	6,811E-05	2,786E-06	3,318E-07			
30	-0,97	-0,12	-0,09	-0,20	-0,81	1,45	18	0,95611	0,051
SD	0,17	0,09	0,07	0,05	0,14	0,18			
p-level	8,456E-05	2,247E-01	2,312E-01	1,401E-03	4,744E-05	2,845E-06			
25	-1,13	-0,11	-0,14	-0,20	-0,93	1,73	17	0,98248	0,040
SD	0,14	0,07	0,06	0,04	0,10	0,16			
p-level	6,860E-06	1,698E-01	2,690E-02	6,701E-04	1,324E-06	3,178E-07			
20	-1,21	-0,14	-0,16	-0,23	-0,98	1,92	17	0,98021	0,047
SD	0,17	0,09	0,07	0,05	0,12	0,19			
p-level	1,607E-05	1,271E-01	3,401E-02	8,228E-04	3,898E-06	5,567E-07			
15	-1,30	-0,19	-0,18	-0,27	-1,02	2,11	17	0,97783	0,055
SD	0,19	0,10	0,08	0,06	0,14	0,22			
p-level	3,638E-05	9,291E-02	4,307E-02	8,373E-04	1,173E-05	1,015E-06			
ODS-50μm-Phase									
40	-0,69	0,15	-0,48	-0,51	-2,44	2,98	18	0,98719	0,064
SD	0,21	0,12	0,09	0,06	0,18	0,23			
p-level	5,948E-03	2,311E-01	1,442E-04	2,451E-06	1,377E-08	2,425E-08			

Bei 50 % Methanol wurden Benzoesäure und 2-Methoxyphenol, bei 45 und 40 % Benzoesäure und 2-Methylphenol, bei 35 % Benzoesäure, 2-Methylphenol und 2-Methoxyphenol, bei 30 % 4-Methoxyphenol und bei 25 bis 15 % Benzoesäure, Benzaldehyd und 2-Methylphenol nicht berücksichtigt.

Bei der ODS-50 μ m-Phase wurden Benzoesäure und Benzylalkohol nicht berücksichtigt.

PBS-5 μ m-PhaseTab. 9.16: Regressionsergebnisse der MLR der LSER-Gleichung für 13 Laufmittelzusammensetzungen für die PBS-5 μ m-Phase

% Methanol	c	r	s	a	b	v	N	R	SD von log k
75	-1,05	0,07	0,04	-0,35	-0,84	0,94	19	0,99592	0,017
SD	0,06	0,03	0,02	0,02	0,04	0,06			
p-level	9,915E-11	3,730E-02	9,936E-02	1,094E-11	3,315E-11	1,115E-09			
70	-0,96	0,05	0,06	-0,34	-0,88	0,99	20	0,99015	0,026
SD	0,08	0,05	0,04	0,02	0,06	0,09			
p-level	1,923E-08	2,823E-01	8,879E-02	1,256E-09	1,360E-09	4,638E-08			
65	-0,98	0,09	0,06	-0,32	-0,94	1,14	18	0,99341	0,023
SD	0,08	0,04	0,03	0,02	0,06	0,08			
p-level	2,987E-08	5,211E-02	1,168E-01	9,126E-09	3,635E-09	1,211E-08			
60	-1,02	0,09	0,03	-0,30	-0,96	1,34	18	0,99527	0,021
SD	0,07	0,04	0,03	0,02	0,06	0,08			
p-level	6,560E-09	3,630E-02	2,627E-01	3,728E-09	2,239E-09	5,400E-10			
55	-1,02	0,10	0,02	-0,29	-1,09	1,53	18	0,99496	0,023
SD	0,08	0,04	0,03	0,02	0,07	0,08			
p-level	2,396E-08	3,877E-02	6,238E-01	1,685E-08	1,975E-09	4,195E-10			
50	-1,04	0,10	0,00	-0,29	-1,14	1,73	18	0,99465	0,026
SD	0,09	0,05	0,04	0,02	0,08	0,09			
p-level	5,341E-08	5,359E-02	9,122E-01	5,956E-08	3,364E-09	3,200E-10			
45	-0,99	0,11	-0,02	-0,28	-1,36	1,89	19	0,98908	0,039
SD	0,13	0,07	0,05	0,04	0,10	0,14			
p-level	3,738E-06	1,428E-01	7,061E-01	4,284E-06	6,593E-09	4,751E-09			
40	-1,04	0,16	-0,04	-0,29	-1,48	2,09	18	0,99131	0,039
SD	0,13	0,07	0,05	0,04	0,10	0,14			
p-level	3,895E-06	5,203E-02	5,107E-01	5,615E-06	7,020E-09	4,182E-09			
35	-1,02	0,18	-0,11	-0,30	-1,71	2,34	18	0,99281	0,039
SD	0,13	0,07	0,05	0,04	0,10	0,14			
p-level	3,832E-06	3,319E-02	7,449E-02	3,853E-06	6,285E-10	1,350E-09			
30	-1,10	0,19	-0,13	-0,29	-1,82	2,60	18	0,99308	0,041
SD	0,14	0,08	0,06	0,04	0,10	0,15			
p-level	3,077E-06	3,073E-02	3,814E-02	8,232E-06	5,549E-10	7,212E-10			
25	-1,20	0,20	-0,16	-0,29	-1,93	2,89	18	0,99302	0,045
SD	0,15	0,08	0,06	0,04	0,11	0,16			
p-level	2,801E-06	3,285E-02	2,211E-02	2,132E-05	6,740E-10	5,237E-10			
20	-1,32	0,21	-0,19	-0,28	-2,05	3,20	18	0,99249	0,050
SD	0,16	0,09	0,07	0,05	0,12	0,18			
p-level	3,290E-06	4,061E-02	1,607E-02	7,229E-05	1,205E-09	5,698E-10			
15	-1,46	0,22	-0,23	-0,28	-2,16	3,53	18	0,99158	0,057
SD	0,19	0,11	0,08	0,05	0,14	0,21			
p-level	4,457E-06	5,606E-02	1,454E-02	2,734E-04	2,846E-09	8,159E-10			

Bei 75 % Methanol wurden 2-Chlorphenol, bei 65, 45 und 40 % Benzoesäure und 4-Methoxyphenol, bei 60 bis 50 % 2- und 4-Methoxyphenol und bei 35 bis 15 % Methanol Benzoesäure und 2-Methylphenol nicht berücksichtigt.

PBSO-5µm-Phase

Tab. 9.17: Regressionsergebnisse der MLR der LSER-Gleichung für zwölf Laufmittelzusammensetzungen für die PBSO-5µm-Phase

% Methanol	c	r	s	a	b	v	N	R	SD von log k
70	-1,51	0,56	-0,03	-0,05	-1,50	1,05	18	0,98615	0,043
SD	0,14	0,08	0,06	0,04	0,11	0,16			
p-level	2,240E-07	1,500E-05	6,516E-01	2,568E-01	1,113E-08	2,240E-05			
65	-1,32	0,60	-0,07	-0,01	-1,68	1,10	18	0,98885	0,038
SD	0,13	0,07	0,05	0,04	0,10	0,14			
p-level	2,149E-07	2,291E-06	1,927E-01	8,358E-01	1,157E-09	3,754E-06			
60	-1,27	0,57	-0,09	0,01	-1,69	1,23	18	0,99253	0,031
SD	0,10	0,06	0,04	0,03	0,08	0,11			
p-level	3,792E-08	4,220E-07	5,321E-02	6,346E-01	1,108E-10	1,355E-07			
55	-1,21	0,58	-0,10	0,02	-1,67	1,32	18	0,99322	0,030
SD	0,10	0,06	0,04	0,03	0,08	0,11			
p-level	4,416E-08	2,450E-07	3,778E-02	4,594E-01	7,948E-11	4,460E-08			
50	-1,19	0,55	-0,12	0,02	-1,66	1,48	19	0,99308	0,032
SD	0,11	0,06	0,04	0,03	0,08	0,12			
p-level	5,650E-08	4,372E-07	2,281E-02	5,435E-01	2,167E-11	1,162E-08			
45	-1,15	0,54	-0,12	0,04	-1,71	1,61	19	0,99306	0,034
SD	0,11	0,06	0,05	0,03	0,08	0,12			
p-level	1,266E-07	7,967E-07	2,020E-02	1,819E-01	2,313E-11	6,193E-09			
40	-1,17	0,54	-0,14	0,06	-1,78	1,80	19	0,99349	0,034
SD	0,11	0,06	0,05	0,03	0,08	0,12			
p-level	1,249E-07	8,572E-07	1,191E-02	7,889E-02	1,761E-11	2,016E-09			
35	-1,22	0,55	-0,15	0,08	-1,84	1,99	19	0,99115	0,042
SD	0,14	0,08	0,06	0,04	0,10	0,15			
p-level	8,353E-07	7,317E-06	2,446E-02	5,290E-02	1,517E-10	7,075E-09			
30	-1,27	0,60	-0,15	0,08	-1,95	2,16	18	0,99350	0,040
SD	0,13	0,07	0,05	0,04	0,10	0,14			
p-level	5,213E-07	3,232E-06	1,714E-02	5,948E-02	1,419E-10	4,024E-09			
25	-1,37	0,62	-0,16	0,10	-2,05	2,39	18	0,99119	0,049
SD	0,16	0,09	0,07	0,05	0,12	0,18			
p-level	2,451E-06	2,075E-05	3,800E-02	6,070E-02	1,023E-09	1,543E-08			
20	-1,49	0,64	-0,16	0,12	-2,16	2,64	18	0,98803	0,062
SD	0,21	0,12	0,08	0,06	0,15	0,22			
p-level	9,960E-06	1,216E-04	7,906E-02	6,671E-02	7,401E-09	6,234E-08			
15	-1,64	0,67	-0,17	0,14	-2,28	2,90	18	0,98423	0,076
SD	0,25	0,14	0,10	0,07	0,19	0,28			
p-level	3,102E-05	5,171E-04	1,393E-01	7,748E-02	4,348E-08	2,218E-07			

Bei 70 % Methanol wurden Acetophenon und 2-Chlorphenol, bei 65 bis 55 % 2-Chlor und 3-Bromphenol, bei 50 bis 35 % 2-Chlorphenol und bei 30 bis 15 % 2-Chlorphenol und Benzoesäure nicht verwendet.

Polystyrenmaterialien unter aciden Bedingungen

Tab. 9.18: Regressionsergebnisse der MLR der LSER-Gleichung für 13 Polystyrenmaterialien bei Methanol/Phosphatpuffer (pH 2) (70:30)

70 % Methanol	c	r	s	a	b	v	N	R	SD von log k
ENV+	-0,97	0,08	0,39	-0,71	-2,17	2,49	17	0,99058	0,069
SD	0,25	0,13	0,10	0,08	0,17	0,29			
p-level	2,731E-03	5,698E-01	1,976E-03	2,603E-06	6,143E-08	3,289E-06			
AC	-0,98	-0,09	0,20	-0,92	-2,41	2,81	18	0,99285	0,064
SD	0,23	0,12	0,09	0,07	0,16	0,27			
p-level	1,277E-03	4,836E-01	4,624E-02	2,676E-08	3,125E-09	2,125E-07			
AC-A	-0,90	0,29	0,27	-0,52	-2,42	2,12	18	0,99225	0,056
SD	0,21	0,11	0,08	0,06	0,14	0,24			
p-level	9,629E-04	1,896E-02	4,870E-03	3,432E-06	6,819E-10	1,104E-06			
AC-COC1	-0,91	0,29	0,31	-0,78	-2,44	2,11	17	0,99143	0,067
SD	0,24	0,13	0,09	0,08	0,16	0,28			
p-level	3,267E-03	4,435E-02	6,704E-03	7,408E-07	1,313E-08	1,208E-05			
AC-COC2	-0,98	0,12	0,30	-0,87	-2,61	2,52	17	0,99364	0,062
SD	0,23	0,12	0,09	0,07	0,15	0,26			
p-level	1,267E-03	3,480E-01	6,035E-03	1,224E-07	3,042E-09	1,057E-06			
AC-COC3	-1,14	-0,07	0,18	-0,73	-2,38	2,90	16	0,98562	0,071
SD	0,26	0,14	0,10	0,10	0,20	0,30			
p-level	1,414E-03	6,055E-01	1,101E-01	2,116E-05	3,031E-07	2,168E-06			
AC-C8	-0,34	0,30	0,23	-0,82	-2,35	1,77	19	0,99058	0,063
SD	0,23	0,12	0,09	0,07	0,15	0,25			
p-level	1,565E-01	2,356E-02	2,278E-02	1,264E-08	1,160E-09	8,303E-06			
AC-C12	-0,36	0,29	0,21	-0,95	-2,56	1,85	18	0,99322	0,059
SD	0,21	0,11	0,08	0,06	0,15	0,24			
p-level	1,123E-01	2,092E-02	2,467E-02	3,387E-09	6,001E-10	4,572E-06			
AC-CA	-1,26	0,38	0,29	-0,75	-2,31	2,34	17	0,99020	0,070
SD	0,26	0,13	0,10	0,08	0,20	0,30			
p-level	4,582E-04	1,587E-02	1,374E-02	1,324E-06	1,839E-07	8,535E-06			
AC-TCA	-1,10	0,10	0,32	-0,86	-2,53	2,75	15	0,97404	0,090
SD	0,32	0,19	0,13	0,14	0,32	0,39			
p-level	7,762E-03	6,274E-01	4,196E-02	2,007E-04	2,290E-05	5,606E-05			
AC-NO ₂	-1,03	0,37	1,05	-1,12	-2,14	0,99	18	0,98738	0,091
SD	0,37	0,17	0,13	0,09	0,23	0,38			
p-level	1,735E-02	4,995E-02	3,561E-06	5,551E-08	8,659E-07	2,208E-02			
AC-SO ₃ H	-0,86	0,27	0,58	-1,01	-1,95	1,14	19	0,98499	0,083
SD	0,30	0,15	0,12	0,09	0,20	0,33			
p-level	1,240E-02	9,517E-02	2,456E-04	2,891E-08	2,955E-07	4,433E-03			
AC-SCN	-1,04	0,06	0,25	-0,81	-2,02	2,44	18	0,99223	0,060
SD	0,22	0,11	0,08	0,07	0,15	0,25			
p-level	4,625E-04	6,231E-01	1,107E-02	5,268E-08	1,040E-08	4,585E-07			

Bei AC, AC-A, AC-COC3 und AC-SCN wurden 2-Nitrophenol, bei ENV+, AC-COC1 und AC-COC2 2-Nitrophenol und Benzoesäure, bei AC-C12 und AC-TCA Benzoesäure, bei AC-CA Benzylalkohol und 2-Nitrophenol und bei AC-NO₂ 2-Fluorphenol nicht verwendet.

Polystyrenmaterialien unter basischen Bedingungen

Tab. 9.19: Regressionsergebnisse der MLR der LSER-Gleichung für 12 Polystyrenmaterialien bei Methanol/Phosphatpuffer (pH 9) (70:30)

70 % Methanol	c	r	s	a	b	v	N	R	SD von log k
ENV+	-0,42	0,79	-0,11	-0,68	-1,61	1,54	16	0,99063	0,059
SD	0,11	0,17	0,07	0,11	0,13	0,17			
p-level	3,818E-03	9,008E-04	1,752E-01	1,157E-04	2,927E-07	3,162E-06			
AC	-0,35	1,46	-0,65	-0,86	-1,77	1,44	15	0,99055	0,069
SD	0,14	0,21	0,09	0,13	0,17	0,20			
p-level	2,996E-02	6,629E-05	5,496E-05	1,079E-04	2,020E-06	4,365E-05			
AC-A	-0,46	1,79	-0,43	-0,39	-2,14	0,85	15	0,98914	0,088
SD	0,17	0,27	0,12	0,17	0,21	0,25			
p-level	2,594E-02	8,290E-05	4,557E-03	4,283E-02	2,999E-06	7,454E-03			
AC-COC1	-0,20	1,77	-0,40	-0,48	-1,44	0,40	15	0,99223	0,058
SD	0,11	0,18	0,08	0,11	0,14	0,18			
p-level	1,153E-01	4,654E-06	5,522E-04	1,829E-03	2,173E-06	5,033E-02			
AC-COC2	-0,23	1,97	-0,60	-0,66	-1,50	0,57	15	0,99028	0,068
SD	0,13	0,21	0,09	0,13	0,16	0,21			
p-level	1,190E-01	6,971E-06	9,137E-05	6,541E-04	5,760E-06	2,163E-02			
AC-COC3	-0,41	1,56	-0,64	-0,79	-1,88	1,38	15	0,99101	0,070
SD	0,14	0,21	0,09	0,13	0,17	0,20			
p-level	1,652E-02	4,466E-05	7,170E-05	2,424E-04	1,390E-06	6,877E-05			
AC-C8	-0,41	1,79	-0,62	-0,45	-2,24	1,04	14	0,98476	0,088
SD	0,18	0,27	0,13	0,19	0,27	0,31			
p-level	4,559E-02	1,601E-04	1,091E-03	4,419E-02	3,157E-05	1,011E-02			
AC-C12	-0,37	1,77	-0,65	-0,43	-2,07	0,97	15	0,99038	0,077
SD	0,15	0,23	0,10	0,15	0,18	0,22			
p-level	3,899E-02	3,324E-05	1,244E-04	1,713E-02	1,316E-06	1,569E-03			
AC-CA	-0,37	1,62	-0,39	-0,51	-2,00	0,90	15	0,98920	0,080
SD	0,16	0,24	0,11	0,15	0,19	0,23			
p-level	4,147E-02	9,103E-05	5,149E-03	8,942E-03	2,568E-06	3,211E-03			
AC-TCA	-0,51	1,02	-0,27	-0,62	-2,00	1,55	15	0,98959	0,074
SD	0,15	0,22	0,10	0,14	0,18	0,21			
p-level	6,472E-03	1,364E-03	2,164E-02	1,835E-03	1,254E-06	4,022E-05			
AC-NO₂	-1,43	2,31	-0,22	0,65	-2,32	0,19	14	0,99110	0,122
SD	0,24	0,40	0,16	0,23	0,30	0,39			
p-level	3,461E-04	4,023E-04	2,080E-01	2,316E-02	5,141E-05	6,398E-01			
AC-SO₃H	-1,78	1,68	-0,32	0,03	-1,65	1,15	15	0,98485	0,093
SD	0,24	0,40	0,16	0,23	0,30	0,39			
p-level	3,461E-04	4,023E-04	2,080E-01	2,316E-02	5,141E-05	6,398E-01			

Bei AC, AC-A, AC-COC2, AC-COC3, AC-C12, AC-CA und AC-TCA wurden 2-Methylanilin, bei AC-COC1 Anilin, bei AC-C8 Pyrimidin und 2-Methylanilin und bei AC-NO₂ 2-Methylanilin und 3,4 Dimethylpyridin nicht berücksichtigt.

Vergleich der Eigenschaften der Polystyrenmaterialien unter aciden und basischen Bedingungen

Tab. 9.20: Vergleich der Regressionsergebnisse der MLR der LSER-Gleichung für zwölf Polystyrenmaterialien unter aciden und basischen Laufmittelbedingungen (Methanol/Puffer (70:30))

70 % Methanol	c	r	s	a	b	v	N	R	SD von log k
ENV ⁺ _{pH 2}	-0,97	0,08	0,39	-0,71	-2,17	2,49	17	0,99058	0,069
ENV ⁺ _{pH 9}	-0,42	0,79	-0,11	-0,68	-1,61	1,54	16	0,99063	0,059
AC _{pH 2}	-0,98	-0,09	0,20	-0,92	-2,41	2,81	18	0,99285	0,064
AC _{pH 9}	-0,35	1,46	-0,65	-0,86	-1,77	1,44	15	0,99055	0,069
AC-A _{pH 2}	-0,90	0,29	0,27	-0,52	-2,42	2,12	18	0,99225	0,056
AC-A _{pH 9}	-0,46	1,79	-0,43	-0,39	-2,14	0,85	15	0,98914	0,088
AC-COC1 _{pH 2}	-0,91	0,29	0,31	-0,78	-2,44	2,11	17	0,99143	0,067
AC-COC1 _{pH 9}	-0,20	1,77	-0,40	-0,48	-1,44	0,40	15	0,99223	0,058
AC-COC2 _{pH 2}	-0,98	0,12	0,30	-0,87	-2,61	2,52	17	0,99364	0,062
AC-COC2 _{pH 9}	-0,23	1,97	-0,60	-0,66	-1,50	0,57	15	0,99028	0,068
AC-COC3 _{pH 2}	-1,14	-0,07	0,18	-0,73	-2,38	2,90	16	0,98562	0,071
AC-COC3 _{pH 9}	-0,41	1,56	-0,64	-0,79	-1,88	1,38	15	0,99101	0,070
AC-C8 _{pH 2}	-0,34	0,30	0,23	-0,82	-2,35	1,77	19	0,99058	0,063
AC-C8 _{pH 9}	-0,41	1,79	-0,62	-0,45	-2,24	1,04	14	0,98476	0,088
AC-C12 _{pH 2}	-0,36	0,29	0,21	-0,95	-2,56	1,85	18	0,99322	0,059
AC-C12 _{pH 9}	-0,37	1,77	-0,65	-0,43	-2,07	0,97	15	0,99038	0,077
AC-CA _{pH 2}	-1,26	0,38	0,29	-0,75	-2,31	2,34	17	0,99020	0,070
AC-CA _{pH 9}	-0,37	1,62	-0,39	-0,51	-2,00	0,90	15	0,98920	0,080
AC-TCA _{pH 2}	-1,10	0,10	0,32	-0,86	-2,53	2,75	15	0,97404	0,090
AC-TCA _{pH 9}	-0,51	1,02	-0,27	-0,62	-2,00	1,55	15	0,98959	0,074
AC-NO ₂ _{pH 2}	-1,03	0,37	1,05	-1,12	-2,14	0,99	18	0,98738	0,091
AC-NO ₂ _{pH 9}	-1,43	2,31	-0,22	0,65	-2,32	0,19	14	0,99110	0,122
AC-SO ₃ H _{pH 2}	-0,86	0,27	0,58	-1,01	-1,95	1,14	19	0,98499	0,083
AC-SO ₃ H _{pH 9}	-1,78	1,68	-0,32	0,03	-1,65	1,15	15	0,98485	0,093

9.2 Abbildung der Polystyrenmaterialien

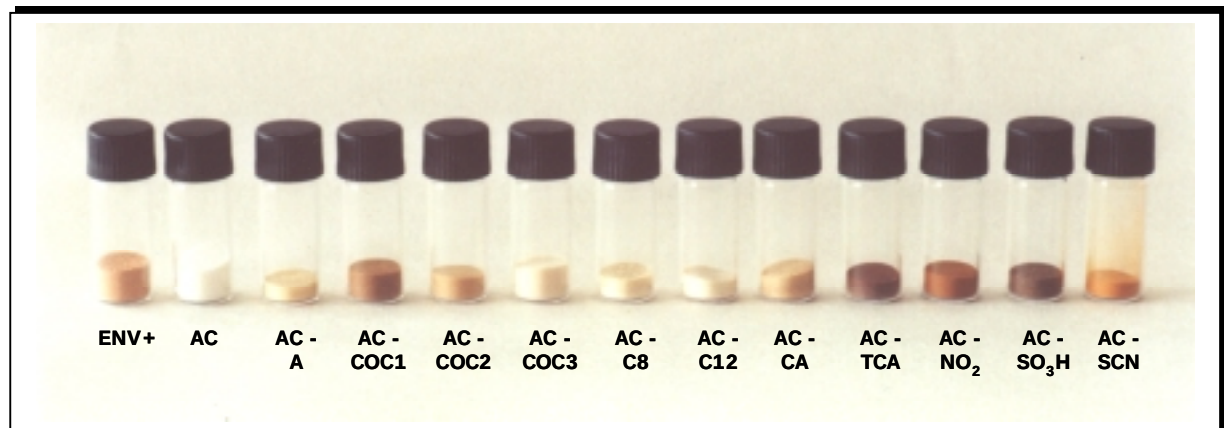


Abb. 9.1: Abbildung der 13 Polystyrenmaterialien

9.3 Liste der verwendeten Chemikalien

2-Chloranilin.....	≥ 98 %.....	Aldrich
2-Chlorphenol.....	≥ 95 %.....	Merck
2-Ethylpyridin.....	≥ 97 %.....	Aldrich
2-Fluorphenol.....	≥ 98 %.....	Aldrich
2-Iodphenol.....	≥ 98 %.....	Merck
2-Methoxyphenol.....	≥ 95 %.....	Laborbestand
2-Methylanilin.....	≥ 99,5 %.....	Fluka
2-Methylphenol.....	≥ 99,5 %.....	Fluka
2-Methylpyridin.....	≥ 98 %.....	Aldrich
2-Nitrophenol.....	≥ 99 %.....	Laborbestand
2-Nitrotoluen.....	≥ 99 %.....	Aldrich
3,4-Dimethylpyridin.....	≥ 98 %.....	Merck
3,6,9-Trioxadekansäure.....	techn.....	Aldrich
3,6-Dioxaheptansäure.....	techn.....	Aldrich
3-Bromphenol.....	≥ 97 %.....	Fluka
3-Chloranilin.....	≥ 99 %.....	Aldrich
3-Methylanilin.....	≥ 99 %.....	EGA
3-Methylphenol.....	≥ 97 %.....	Aldrich
3-Nitroanilin.....	≥ 95 %.....	Hüls
3-Nitrotoluen.....	≥ 99 %.....	Aldrich
3-Oxabutansäure.....	≥ 98 %.....	Aldrich
4-Chloranilin.....	≥ 95 %.....	Merck
4-Methoxyphenol.....	≥ 99 %.....	Aldrich
4-Methylanilin.....	≥ 99,7 %.....	Aldrich
4-Methylphenol.....	≥ 99 %.....	Aldrich
4-Nitroanilin.....	≥ 99 %.....	Aldrich
4-Nitrophenol.....	≥ 95 %.....	Fluka
4-Nitrotoluen.....	≥ 99 %.....	Aldrich
Aceton.....	> 99,8 %.....	Fluka
Acetonitril.....	HPLC gradient grade.....	Merck
Acetophenon.....	p.a.....	Fluka
Acetylchlorid.....	≥ 98 %.....	Aldrich
Allylbromid.....	99 %.....	Aldrich
Aluminiumchlorid.....	pro Syn.....	Merck
Anilin.....	≥ 98 %.....	Laborbestand
Benzaldehyd.....	≥ 99 %.....	Merck
Benzoessäure.....	p. a.....	Merck
Benzylalkohol.....	≥ 98 %.....	Aldrich
Brom.....	p. a.....	Janssen

Chloracetylchlorid	≥ 99 %.....	Aldrich
Deuteriochloroform	≥ 99,8 %.....	Euriso-top
Dichlormethan	≥ 99 %.....	Laborbestand
Dimethylchlorsilan	≥ 98 %.....	Aldrich
Dodecylsäurechlorid	≥ 98 %.....	Merck
Eisessig.....	≥ 98 %.....	Laborbestand
Ethanol	≥ 98 %.....	Laborbestand
Hexachloroplatinsäure	≥ 99 %.....	Merck
Hexamethyldisilazan.....	> 98 %.....	Fluka
Isopropylalkohol.....	≥ 98 %.....	Laborbestand
Kaliumjodid.....	≥ 99 %.....	Laborbestand
Kaliumrhodanid.....	≥ 97 %.....	Laborbestand
Kupferpulver	reinst	Merck
LiChrospher Kieselgel.....		Merck
Methanol.....	HPLC gradient grade	Merck
m-Tolylsäure.....	≥ 99 %.....	Aldrich
Natrium.....	≥ 99 %.....	Ferak
Natriumhydroxid	p.a.	Laborbestand
Natriumsulfat	≥ 97 %.....	Laborbestand
Oktansäure.....	≥ 98 %.....	Merck
Phenol.....	≥ 99 %.....	Aldrich
Phenylharnstoff.....	≥ 97 %.....	Aldrich
Phosphorsäure	p.a.	Merck
Pyridin	≥ 99 %.....	Aldrich
Pyrimidin.....	≥ 99 %.....	Aldrich
Pyrrol.....	≥ 98 %.....	Aldrich
Reinstwasser		eigene Herstellung
Salpetersäure	p.a.	Fluka
Salzsäure.....	reinst	Fluka
Schwefelkohlenstoff	≥ 99 %.....	Aldrich
Schwefelsäure.....	p. a.	merck
Tetrahydrofuran	≥ 98 %.....	Laborbestand
Thioharnstoff.....	reinst	Laborbestand
Thionylchlorid	≥ 97 %.....	Aldrich
Toluen.....	> 99,8 %.....	Fluka
Trichloracetylchlorid	≥ 99 %.....	Aldrich
Triethylamin	≥ 98 %.....	Merck
Triethylenglycolmonomethylether	≥ 95 %.....	Aldrich
tri-Natriumphosphat.....	≥ 98 %.....	Merck
Wasser, destilliert		Hausversorgung

Weitere Chemikalien

3-Oxabutansäurechlorid

3,6-Dioxaheptansäurechlorid

3,6,9-Trioxadekansäurechlorid

Oktansäurechlorid

Diese Carbonsäurechloride werden durch die Umsetzung der entsprechenden Carbonsäuren mit Thionylchlorid dargestellt. [149] Dabei werden 1 mol der Carbonsäure mit 1,5 mol Thionylchlorid je Carboxylgruppe unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß gekocht, bis die Gasentwicklung beendet ist. Das überschüssige Thionylchlorid wird durch Destillation zurückgewonnen. Die Aufreinigung des Produkts erfolgt durch Destillation.

9.4 Geräte und Geräteparameter

Gaschromatographie

- GC-FID: HP GC 5890 II mit Split/Splitlosinjektor und FID, Trägergas: H₂

Hochleistungsflüssigchromatographie

- a) Quaternäres Niederdruck-HPLC-System HP 1050 mit UV-DAD mit Säulenthermostatierung und Lösungsmittelentgasung
Automatischer Probengeber: Spark Basic Plus Marathon
Trennsäulen: - Knauer Vertex Säule, 3,0 x 125 mm, Füllmaterial Zorbax ODS-5µm und Vorsäule, Fluß: 0,55 mL/min
- Latek HPLC-Leersäule mit Fritte und Kämpchen, 4,0 x 50 mm, Fluß: 1 mL/min
- b) Knauer HPLC-System bestehend aus:
- Lösungsmittelmischkammer
 - Elektrisches Injektionsventil
 - 2 HPLC-Pumpen Typ 64
 - Knauer spektralphotometrischer Detektor
 - Trennsäulen siehe a)

Kernresonanzspektroskopie

- ARX 300 FT-NMR der Firma Bruker bei 300 MHz.

Refraktometer

- Carl Zeiss 1780

IR-Spektrometer für Driftmessungen

- IFS 113V von Bruker

Säulenfüllanlage

- Knauer PNEUMATIC HPLC PUMP

Elementaranalysen

- CHN-O-Rapid von Heraeus

Festphasenextraktion (SPE)

- Merck Adsorbex Sample Preparation Unit (SPU), 24 Extraktionspositionen
- Festphasenkartuschen:
 - ISOLUTE Leerkartuschen Typ B (3ml, 6 mm Durchmesser)
 - ISOLUTE Polyethylenfritten für Kartuscentyp B
 - ISOLUTE Kartuschenadapter aus Polyethylen
 - ISOLUTE PTFE Hahn
 - ISOLUTE PTFE Schläuche, 1m
- Material:
 - ISOLUTE[®] ENV+, lose, von IST
 - Amberchrom[®] CG 161c, lose, von Supelco

Ultraschallbad

- Bandelin Sonorex TK 52

9.5 Liste der verwendeten Abkürzungen

$\Sigma\alpha_2^H$	effektive Wasserstoffbrückenacidität
$\Sigma\beta_2^H$	effektive Wasserstoffbrückenbasizität
π^*	Dipolarität nach der Kamlet/Taft-Skala
δ_2	Kamlet's Polarisierbarkeitskorrekturfaktor
α_2^H	Wasserstoffbrückenacidität
β_2^H	Wasserstoffbrückenbasizität
π_2^H	Dipolarität nach der Abraham-Skala
a	Wasserstoffbrückenbasizität
A	Oberflächenbelegung
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
AC	Amberchrom® CG 161c
AC-A	Amberchrom-Acetyl
AC-C12	Amberchrom-Dodecyl
AC-C8	Amberchrom-Oktyl
AC-CA	Amberchrom-Chloracetyl
AC-COC1	Amberchrom-Monoetheracetyl
AC-COC2	Amberchrom-Dietheracetyl
AC-COC3	Amberchrom-Trietheracetyl
AC-NO ₂	Amberchrom-Nitro
AC-SCN	Amberchrom-Thiocyanat
AC-SO ₃ H	Amberchrom-Sulfonsäure
AC-TCA	Amberchrom-Trichloracetyl
b	Wasserstoffbrückenacidität
ber.	berechnet
c	Achsenabschnitt
C ₈ , C ₁₂ , C ₁₈	Oktylkette, Dodecylkette, Octadecylkette
CHI	engl.: Chromatographic Hydrophobicity Index
c _i	Konzentration
DAD	Diodenarraydetektor
ENV+	ISOLUTE® ENV+
et al.	und weitere
exp.	experimentell
FID	Flammenionisationsdetektor
FQS	Fehlerquadratsumme
GC	Gaschromatograph
Gl.	Gleichung
h	Stunde

H.....	Hydrophobizität
HBA	engl.: Hydrogen-Bond Acceptor
HBD	engl.: Hydrogen-Bond Donator
HD	engl.: high density
HPLC.....	engl.: high performance liquid-chromatography, Hochleistungsflüssigchromatographie
IH.....	Intrinsische (innere) Hydrophobizität
IR.....	Infrarot
IS	Interner Standard
K.....	Kelvin
k.....	Retentionsfaktor
Kap.	Kapitel
k _w	Retentionsfaktor bei 100 % Wasser
LFER	Linear Free-Energy Relationship
LLE.....	engl.: liquid-liquid extraction, Flüssig-Flüssig Extraktion
log k.....	Logarithmus des Retentionsfaktors
log SP	Logarithmus des Solvatationsparameters
LSER	Linear Solvation-Energy Relationship
min.....	Minute
MIP.....	engl.: molecular imprinted polymer
MLR	Multiple lineare Regression
MR.....	Molare Refraktion
n _D ²⁰	Brechungsindex bei 20 °C
NMR.....	engl.: nuclear magnetic resonance, Kernresonanz
NP.....	engl.: normal-phase, Normalphase
ODS	Oktadecylsilyl-
PBS.....	Phenylbutanosulfid
PBSO.....	Phenylbutanosulfoxid
PoEt.....	Polyether
ppb.....	engl.: parts per billion
ppt.....	engl.: parts per trillion
QSRR	Quantitative Structure-Retention Relationship
r	Polarisierbarkeit
R, R ²	Regressionskonstante
R ₂	Polarisierbarkeit, Molare Überschußrefraktion
Reihenf.	Reihenfolge
RP-LC.....	engl.: reversed-phase liquid-chromatography
s	Dipolarität
SD.....	engl.: standard deviation, Standardabweichung
SI	Säule I
SII.....	Säule II
SPE.....	engl.: solid-phase extraction, Festphasenextraktion

Stabw.....	Standardabweichung
t_0	Durchflußzeit
Tab.....	Tabelle
t_R	Retentionszeit
usw.....	und so weiter
UV	Ultraviolett
v	Cavity-Term
vergl.....	vergleiche
$V_x/100$	McGowan Volumen
WFR	Wiederfindungsrate
z.B.	zum Beispiel
z.T.....	zum Teil
z.Z.....	zur Zeit

10 Literatur

- [1] L.A. Berrueta, B. Gallo, F. Vicente, *Chromatographia* 40 (1995) 474-483
- [2] D. Barceló, M.C. Hennion, *Anal. Chim. Acta* 338 (1997) 3-18
- [3] CD RÖMPP CHEMIE LEXIKON, 9. Aufl., Vers. 1.0
- [4] R. Kaliszan, „Structure and Retention in Chromatography“ harwood academic publishers, 1997
- [5] Cs. Horváth, W.R. Melander, I. Molnár, *J. Chromatogr.* 125 (1976) 129-156
- [6] O. Sinanoğlu, in: B. Pullman (Ed.), „Molecular Association in Biology“, Academic Press., New York, 1968, S.427-445
- [7] K.A. Dill, *J. Phys. Chem.* 91 (1987) 1980-1988
- [8] J.G. Dorsey, K.A. Dill, *Chem. Rev.* 89 (1989) 331-346
- [9] M. Jaroniec, D.E. Martire, *J. Chromatogr.* 387 (1987) 55-64
- [10] M. Jaroniec, *J. Chromatogr. A* 656 (1993) 37-50
- [11] L.C. Tan, P.W. Carr, *J. Chromatogr. A* 775 (1997) 1-12
- [12] J.H. Park, Y.K. Lee, Y.C. Weon, L.C. Tan, J. Li, L. Li, J.F. Evans, P.W. Carr, *J. Chromatogr. A* 767 (1997) 1-10
- [13] C. H. Lochmüller, D.R. Wilder, *J. Chromatogr. Sci.* 17 (1979) 574-579
- [14] A.J.P. Martin, *Annu. Rev. Biochem.* 19 (1950) 517-542
- [15] R. Kaliszan, H. Foks, *Chromatographia* 10 (1977) 346-349
- [16] R. Kaliszan, *Chromatographia* 10 (1977) 529-531
- [17] I. Michotte, D.L. Massart, *J. Pharm. Sci.* 66 (1977) 1630-1632
- [18] A. Vailaya, Cs. Horváth, *J. Chromatogr. A* 829 (1998) 1-27
- [19] A. Leo, C. Hansch, D. Elkins, *Chem. Rev.* 71 (1971) 525-616
- [20] A. Vailaya, Cs. Horváth, *J. Phys. Chem. B* 101 (1997) 5875-5888
- [21] P.W. Carr, J. Li, A.J. Dallas, D.I. Eikens, L.C. Tan, *J. Chromatogr. A* 656 (1993) 113-133
- [22] D.E. Martire, R.E. Boehm, *J. Phys. Chem.* 87 (1983) 1045-1062
- [23] D.E. Martire, R.E. Boehm, *J. Phys. Chem.* 84 (1980) 3620-3630
- [24] P.G. deGennes, *Phys. Lett. A* 47 (1974) 123-124

- [25] J.A. Marqusee, K.A. Dill, J. Chem. Phys. 85 (1986) 434-444
- [26] J.M. Prausnitz, Science 205 (1979) 759-766
- [27] C. Reichardt „Solvent Effects in Organic Chemistry“, Verlag Chemie, Weinheim, 1979
- [28] W. Melander, D.E. Campbell, Cs. Horváth, J. Chromatogr. 158 (1978) 215-225
- [29] A. Vailaya, Cs. Horváth, J. Phys. Chem. 100 (1996) 2447-2455
- [30] E. Tomlinson, H. Poppe, J.C. Kraak, Int. J. Pharm. 7 (1981) 225
- [31] C. Hansch, T. Fujita, J. Am. Chem. Soc. 86 (1964) 1616-1626
- [32] C. Hansch, Acc. Chem. Res. 2 (1969) 232-239
- [33] M.J. Kamlet, R.W. Taft, J. Am. Chem. Soc. 98 (1976) 377-383
- [34] R.W. Taft, M.J. Kamlet, J. Am. Chem. Soc. 98 (1976) 2886-2894
- [35] M.J. Kamlet, J.L. Abboud, R.W. Taft, J. Am. Chem. Soc. 99 (1977) 6027-6038
- [36] J.L. Abboud, M.J. Kamlet, R.W. Taft, J. Am. Chem. Soc. 99 (1977) 8325-8327
- [37] M.J. Kamlet, J.L. Abboud, R.W. Taft, J. Am. Chem. Soc. 103 (1981) 1080-1086
- [38] P.W. Carr, Microchem. J. 48 (1993) 4-28
- [39] M.J. Kamlet, R.W. Taft, Acta Chem. Scand. B 39 (1985) 611-628
- [40] P.W. Carr, J. Chromatogr. 194 (1980) 105-119
- [41] M.J. Kamlet, M.H. Abraham, P.W. Carr, R.M. Doherty, R.W. Taft, J. Chem. Soc. Perkin Trans. II (1988) 2087-2092
- [42] J. Li, Y. Zhang, A.J. Dallas, P.W. Carr, J. Chromatogr. 550 (1991) 101-134
- [43] M.H. Abraham, P.L. Grellier, D.V. Prior, J.J. Morris, P.J. Taylor, J. Chem. Soc. Perkin Trans. II (1990) 521-529
- [44] M.H. Abraham, „New Solute Descriptors for LFERs and QSAR's“ in „Quantitative Treatments of Solute/Solvent Interactions“ von P. Politzer, J.S. Murray, Elsevier 1994
- [45] M.H. Abraham, Chem. Soc. Rev. 22 (1993) 73-83
- [46] M.H. Abraham, P.L. Grellier, R.A. McGill, J. Chem. Soc. Perkin Trans II (1987) 797-803
- [47] M.H. Abraham, G.S. Whiting, R.M. Doherty, W.J. Shuely, J. Chem. Soc. Perkin Trans. II (1990) 1451-1460
- [48] M.H. Abraham, J.C. McGowan, Chromatographia 23 (1987) 243-246

- [49] M.H. Abraham, G.S. Whiting, R.M. Doherty, W.J. Shuely, J. Chromatogr. 587 (1991) 213-228
- [50] M.H. Abraham, J. Chromatogr. 644 (1993) 95-133
- [51] A.D. Sherry, K.F. Purcell, J. Phys. Chem. 74 (1970) 3535-3543
- [52] J. Hine, S. Hahn, J. Hwang, J. Org. Chem. 53 (1988) 884-887
- [53] M.H. Abraham, J. Phys. Org. Chem. 6 (1993) 660-684
- [54] W.O. McReynolds, „Gas Chromatographic Retention Data“, 2.Aufl., Niles, IL, Preston Technical Abstracts, 1978
- [55] F. Patte, M. Etcheto, P. Laffort, Anal. Chem. 54 (1982) 2239-2247
- [56] R. Henrion, G. Henrion, „Multivariate Datenanalyse“, Springer Verlag 1995
- [57] L. Rohrschneider, Chromatographia 48 (1998) 727-738
- [58] StatSoft, Inc. (1997). Electronic Statistics Textbook. WEB: <http://www.statsoft.com/textbook/stathome.html>
- [59] International Sorbent Technology, SEPARTIS, SPE-Katalog 1999/2000
- [60] J.J. Kirkland, J.L. Glajch, R.D. Farlee, Anal. Chem. 61 (1989) 2-11
- [61] L.C. Sander, S.A. Wise, Anal. Chem. 56 (1984) 504-510
- [62] R.K. Gilpin, M.F. Burke, Anal. Chem. 45 (1973) 1383-1389
- [63] L.C. Sander, K.E. Sharpless, N.E. Craft, S.A. Wise, Anal. Chem. 66 (1994) 1667-1674
- [64] G. Kaiser, „Entwicklung flüssig-chromatographischer stationärer Phasen mit variabler Polarität“, Dissertation, Universität Ulm, 1994
- [65] E. Forgács, T. Cserhádi, J. Chromatogr. B 656 233-238
- [66] J. Zhao, P.W. Carr, Anal. Chem. 72 (2000) 302-309
- [67] J. Zhao, P.W. Carr, Anal. Chem. 70 (1998) 3619-3628
- [68] I. Liška, J. Chromatogr. A 885 (2000) 3-16
- [69] J.P. Riley, D. Taylor, Anal. Chim. Acta 46 (1969) 307-309
- [70] G.A. Junk, J.J. Richard, M.D. Grieser, D. Witiak, M.D. Arguello, R. Wick, H.J. Svec, J.S. Fritz, G.V. Calder, J. Chromatogr. 99 (1974) 745-764
- [71] J.J. Sun, J.S. Fritz, J. Chromatogr. 590 (1992) 197-202
- [72] J.S. Fritz, P.J. Dumont, L.W. Schmidt, J. Chromatogr. A 691 (1995) 133-140

- [73] P.J. Dumont, J.S. Fritz, *J. Chromatogr. A* 691 (1995) 123-131
- [74] T.K. Chambers, J.S. Fritz, *J. Chromatography A* 797 (1998) 139-147
- [75] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A* 771 (1997) 55-61
- [76] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull *J. Chromatogr. A* 803 (1998) 147-155
- [77] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A* 793 (1998) 257-263
- [78] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull *Trends Anal. Chem.* 17 (1998) 384-394
- [79] A.Farjam, G.J. De Jong, R.W. Frei, U.A.Th. Brinckmann, W. Haasnoot, A.R.M. Harmers, R.Schilt, F.A. Huf, *J. Chromatogr.* 452 (1988) 419-433
- [80] V. Pichon, L. Chen, M.C. Hennion, R. Daniel, A. Martel, F. Le Goffic, J. Abian, D. Barceló, *Anal. Chem.* 67 (1995) 2451-2460
- [81] I.Ferrer, V. Pichon, M.C. Hennion, *J. Chromatogr. A* 777 (1997) 91-98
- [82] B. Bjarnason, L. Chimuka, O. Ramström, *Anal. Chem.* 71 (1999) 2152-2156
- [83] J. Matsui, K. Fujiwara, S. Ugata, T. Takeuchi, *J. Chromatogr. A* 889 (2000) 25-31
- [84] E.R. Brouwer, S. Kofman, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 703 (1995) 167-190
- [85] C.W. Huck, G.K. Bonn, *J. Chromatogr. A* 885 (2000) 51-72
- [86] M.H. Abraham, M. Rosés, *J. Phys. Org. Chem.* 7 (1994) 672-684
- [87] M.H. Abraham, M. Rosés, C.F. Poole, S.K. Poole, *J. Phys. Org. Chem.* 10 (1997) 358-368
- [88] L. Li, P.W. Carr, J.F. Evans, *J. Chromatogr. A* 868 (2000) 153-167
- [89] L.C. Tan, P.W. Carr, M.H. Abraham, *J. Chromatogr. A* 752 (1996) 1-18
- [90] L.C. Tan, P.W. Carr, *J. Chromatogr. A* 799 (1998) 1-19
- [91] M. Reta, P.W. Carr, P.C. Sadek, S.C. Rutan, *Anal. Chem* 71 (1999) 3484-3496
- [92] J. Li, P.W. Carr, *Anal. Chim. Acta* 334 (1996) 239-250
- [93] A. Nasal, P. Haber, R. Kaliszan, E. Forgács, T. Cserhádi, M.H. Abraham, *Chromatographia* 43 (1996) 484-490
- [94] T. Cserhádi, E. Forgács, P. Haber, R. Kaliszan, A. Nasal, *LC GC April* 1998, 241-251
- [95] A. Sándi, L. Szepeszy, *J. Chromatogr. A* 818 (1998) 1-17
- [96] A. Sándi, L. Szepeszy, *J. Chromatogr. A* 818 (1998) 19-30
- [97] A. Sándi, M. Nagy, L. Szepeszy, *J. Chromatogr. A* 893 (2000) 215-234

- [98] R. Kaliszan, M.A. van Straten, M. Marcuszewski, C.A. Cramers, H.A. Claessens, *J. Chromatogr. A* 855 (1999) 455-486
- [99] C. Altomare, S. Cellamare, A. Carotti, M. Ferappi, *Il Farmaco* 49 (1994) 393-401
- [100] C.F. Poole, S.K. Poole, D.S. Seibert, C.M. Chapman, *J. Chromatogr. B* 689 (1997) 245-259
- [101] K.G. Miller, C.F. Poole, *J. High Resol. Chromatogr.* 17 (1994) 125-134
- [102] D.S. Seibert, C.F. Poole, *J. High Resol. Chromatogr.* 21 (1998) 481-490
- [103] M.L. Larrivee, C.F. Poole, *Anal. Chem.* 66 (1994) 139-146
- [104] M.L. Mayer, S.K. Poole, C.F. Poole, *J. Chromatogr. A* 697 (1995) 89-99
- [105] M.L. Mayer, C.F. Poole, M.P. Henry, *J. Chromatogr. A* 695 (1995) 267-277
- [106] D.S. Seibert, C.F. Poole, *J. High Resol. Chromatogr.* 18 (1995) 226-230
- [107] D.S. Seibert, C.F. Poole, *Chromatographia* 41 (1995) 51-60
- [108] D.S. Seibert, C.F. Poole, M.H. Abraham, *Analyst* 121 (1996) 511-520
- [109] J. Li, D.A. Whitman, *Anal. Chim. Acta* 368 (1998) 141-154
- [110] J.H. Park, M.H. Yoon, Y.K. Ryu, B.E. Kim, J.W. Ryu, M.D. Jang, *J. Chromatogr. A* 796 (1998) 249-258
- [111] W.J. Cheong, J.D. Choi, *Anal. Chim. Acta* 342 (1997) 51-57
- [112] K. Valkó, M. Plass, C. Bevan, D. Reynolds, M.H. Abraham, *J. Chromatogr. A* 797 (1998) 41-55
- [113] C.M. Du, K. Valkó, C. Bevan, D. Reynolds, M.H. Abraham, *Anal. Chem.* 70 (1998) 4228-4234
- [114] K. Valkó, C. Bevan, D. Reynolds, *Anal. Chem.* 69 (1997) 2022-2029
- [115] D. Bolliet, C.F. Poole, *Chromatographia* 46 (1997) 381-398
- [116] D. Bolliet, C.F. Poole, *Analyst* 123 (1998) 295-299
- [117] M.H. Abraham, H.S. Chadha, R.A.E. Leitaó, R.C. Mitchell, W.J. Lambert, R. Kaliszan, A. Nasal, P. Haber, *J. Chromatogr. A* 766 (1997) 35-47
- [118] R. Kaliszan, *Anal. Chem.* 64 (1992) 619A-631A
- [119] S. Werlich, J.T. Andersson, *Fresenius' J. Anal. Chem.* 364 (1999) 3-14
- [120] Quality Assurance Report, Produktbeschreibung IST, ISOLUTE™ C18
- [121] Organikum, Organisch-chemisches Grundpraktikum, 19. Aufl., Leipzig; Berlin; Heidelberg: Barth, Dt. Verl. Der Wiss., 1993, S.210/211

- [122] M. Chapka, P. Svoboda, J. Hetflejš, Collect. Czech Chem. Commun. 38 (1973) 3830-3833
- [123] F. Michel, „Optimierung der Hydrolysestabilität flüssigchromatographischer Phasen mit variabler Polarität“, Diplomarbeit, Universität Münster, 1995
- [124] R.P.W. Scott, „Silica Gel and Bonded Phases“, John Wiley & Sons, Chichester 1993
- [125] Z. Matus, R. Ohnmacht, Chromatographia 30 (1990) 318-322
- [126] C. Dewale, P. Mussche, M. Verzele, J. High Resol. Chem. & Chromatogr. Commun. 5 (1982) 616-620
- [127] F. Michel (April 1997) Poster, Anakon 1997, Konstanz, Deutschland
- [128] Frank Michel, pers. Mitteilung
- [129] A. Maisch, E. Grom, Sonderdruck LaborPraxis 11 (1987)
- [130] H. Elgass, H. Engelhardt, I. Halasz, Fresenius' Z. Anal. Chem. 294 (1979) 97-106
- [131] E. Soczewiński, C.A. Wachtmeister, J. Chromatogr. 7 (1962) 311-320
- [132] P.J. Sschoenemakers, H.A.H. Billiet, R. Tijssen, L. De Galan, J. Chromatogr. 149 (1978) 519-537
- [133] L.R. Snyder, J.W. Dolan, J.R. Gant, J. Chromatogr. 165 (1979) 3-30
- [134] M.-H. Hsieh, J.G. Dorsey, J. Chromatogr. 631 (1993) 63-78
- [135] P. Jandera, J. Kubat, J. Chromatogr. 500 (1990) 281-299
- [136] J.A. Riddick, W.B. Bunger, T.K. Sakano, „Organic Solvents“, 4. Ausg., Wiley-Interscience, New York, 1986
- [137] W.J. Cheong, P.W. Carr, Anal. Chem. 60 (1988) 820-826
- [138] J.E. Brady, P.W. Carr, J. Phys. Chem. 89 (1985) 1813-1822
- [139] Y. Marcus, M.J. Kamlet, R.W. Taft, J. Phys. Chem. 94 (1988) 3613-3622
- [140] C.R. Yonker, T.A. Zwier, M.F. Burke, J. Chromatogr. 241 (1982) 269-280
- [141] Drylab, Internet: URL: <http://www.lcresources.com>, Stand: 15.09.1999
- [142] Organikum, Organisch-chemisches Grundpraktikum, 19. Aufl., Leipzig; Berlin; Heidelberg: Barth, Dt. Verl. Der Wiss., 1993, S. 341/342
- [143] Produktbeschreibung IST, Separtis, Arbeitsrichtlinien zur Extraktion von wäßrigen Lösungen auf ISOLUTE ENV+, 1999
- [144] Zertifikat der Analyse, Produktinformation Amberchrom CG 161c TosoHaas, Bioseparation Specialists

-
- [145] Organikum, Organisch-chemisches Grundpraktikum, 19. Aufl., Leipzig; Berlin; Heidelberg: Barth, Dt. Verl. Der Wiss., 1993, S. 321/322
- [146] Organikum, Organisch-chemisches Grundpraktikum, 19. Aufl., Leipzig; Berlin; Heidelberg: Barth, Dt. Verl. Der Wiss., 1993, S. 334/335
- [147] S.K. Poole, C.F. Poole, J. Chromatogr. A 845 (1999) 381-400
- [148] M. Rosés, F. Rived, E. Bosch, J. Chromatogr. A 867 (2000) 45-56
- [149] Organikum, Organisch-chemisches Grundpraktikum, 19. Aufl., Leipzig; Berlin; Heidelberg: Barth, Dt. Verl. Der Wiss., 1993, S. 440

Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Jan T. Andersson für die ausgesprochen interessante Aufgabenstellung bedanken. Die Bearbeitung dieses komplexen Gebietes hat mir sowohl bei der Verbesserung meiner Fähigkeiten als Chemikerin, als auch bei der Entwicklung meiner Persönlichkeit sehr geholfen. Seine stete Hilfsbereitschaft und das entgegengebrachte Vertrauen waren dabei eine große Hilfe.

Ein ganz besonderer Dank gebührt meinen Kollegen, die die Laborzeit für mich zu einer bleibenden Erinnerung gemacht haben. Die netten und anregenden Diskussionen haben entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Ich möchte mich bei Stefan Bobinger, Dr. Fridtjof Traulsen und Dr. Jürgen Rolfes für die unendliche Hilfe und Freundschaft während der ganzen Zeit bedanken. Ein Dank gebührt auch Wolfgang Schröder für die Freundschaft und lustigen Quapzeiten, Melanie Kerst für ihr unübertroffenes Engagement, Dr. Stefan Götting für die Unterstützung bei sportlichen Diskussionen und Frank Wasinski, Hendrik Müller und Thomas Schade für die schöne Laborzeit. Ganz besonders danke ich Frank Michel für die Bereitstellung einer seiner Phasen und für eine sehr erfolgreiche Volleyballzeit. Für das Korrekturlesen meiner Arbeit und die moralisch unterstützenden Gespräche möchte ich mich ganz speziell bei Dr. Klaus Sielex bedanken. Vielen Dank.

Für das entgegengebrachte Interesse und die fachlich anregenden Gespräche möchte ich mich bei Dr. Lutz Rohrschneider sehr herzlich bedanken.

Während der ganzen Zeit haben mir meine Freunde, unter denen sich auch Ex-Kollegen befinden, was die Besonderheit dieses tollen Arbeitskreises hervorhebt, großen Rückhalt und Unterstützung gegeben. Ich möchte mich bei allen dafür bedanken.

Ein großer Dank gebührt meinem Freund Gerd Westphal, denn ohne ihn wäre diese Arbeit nicht so geworden, wie sie jetzt ist. Er hat mich während der letzten vier Jahre immer wieder unterstützt, aufgebaut und motiviert.

Zuletzt möchte ich meiner Familie einen besonderen Dank aussprechen. Sie ist immer da, wenn ich Hilfe brauche. Etwas schönes ist nur schön, wenn man es mit jemandem teilen kann, den man liebt.

Lebenslauf

Name: Sabine Werlich

geboren am 08. Juli 1971 in Osnabrück

Familienstand: ledig

Vater: Günter Werlich

Mutter: Irmgard Werlich, geb. Czelustek

Schulbildung:

Grundschule:	Grundschule Intrup	von 1978 bis 1982 in Lengerich/Westf.
Gymnasium:	Städtisches Gymnasium	von 1982 bis 1991 in Lenderich/Westf.
Hochschulreife:	am 27. Mai 1991	in Lengerich/Westf.

Studium:

Chemie (Diplom)
Westfälische Wilhelms-Universität, Münster von 1991 bis 1996

Promotionsstudiengang: Chemie; Westfälische Wilhelms-Universität Münster, ab 1999

Prüfungen: Diplom im Fach Chemie am 25. September 1996 an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Tätigkeiten:

- wissenschaftliche Hilfskraft des Instituts für Chemo- und Biosensorik Münster vom 1. Januar 1997 bis 31. Oktober 1997
- wissenschaftliche Mitarbeiterin des Anorg. Chem. Institutes der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster seit dem 1. November 1997

Beginn der Dissertation: im Januar 1997 am Institut für Anorganische Chemie (Abteilung Analytische Chemie) unter der Betreuung von Prof. Dr. Jan T. Andersson

.....
(Sabine Werlich)

Hiermit versichere ich, daß ich die vorgelegte Dissertation selbst und ohne unerlaubte Mittel angefertigt, alle in Anspruch genommenen Quellen und Hilfsmittel in der Dissertation angegeben habe und die Dissertation nicht bereits anderweitig als Prüfungsarbeit vorgelegen hat.

Münster, den 13.11.2000

(Sabine Werlich)