

**Charakterisierung und Einsatz
poröser und unporöser Kieselgelpartikel in der
Kapillar – Elektrochromatographie**

Dissertation
zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“

am Fachbereich Chemie und Pharmazie
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz



vorgelegt von

Norwin von Döhren
geboren in Mainz

Mainz 2001

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Februar. 2001

Für meine Eltern

Danksagung

Der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 1996 bis Februar 2000 am Institut für Anorganische Chemie und Analytische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. K. K. Unger möchte ich an dieser Stelle für die interessante Themenstellung, für die Anregungen zur Arbeit und die gewährten Freiräume meinen besonderen Dank aussprechen.

Der Stiftung für Innovation Rheinland-Pfalz danke ich für die finanzielle Unterstützung und die Bereitstellung der Mittel, mit denen die Meßapparatur angeschafft werden konnte.

Dr. T. J. Barder, Eichrom Technologies Inc, Darien, IL, USA danke ich für die unporösen 3 μm und 1,5 μm MICRA-Teilchen, die er freundlicherweise zur Verfügung gestellt hat.

Prof. P. Myers, Tec Consulting Ltd, Wirral, UK danke ich, daß er mir seine porösen 3 μm Kieselgele (Xtec S3) zur Verfügung gestellt hat.

Dr. Nitsche, Malvern Instruments, Kirschau danke ich für die Messung der elektrophoretischen Mobilität.

Dr: S. Marmé, Sachtleben Chemie, Duisburg danke ich herzlich für die ESA Messungen und eine langjährige freundschaftliche Unterstützung.

Dr. M. Dittmann und Dr. G. Rozing, Agilent Technologies, Waldbronn danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und die angeregten Diskussionen

Dr. T. Adam, Dr. G. Büchel, Dr. M. Grün, Dr. K. Schumacher danke ich für die freundliche Unterstützung und die ein oder andere Diskussion.

Meinen Kollegen aus der Arbeitsgruppe und dem Praktikum danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und das freundliche und angenehme Arbeitsklima.

Characterisation and use of porous and nonporous silica based particles in Capillary Electro Chromatography

Norwin Rolf Leonhard von Döhren

Capillary Electro Chromatography is a hybrid method of high performance liquid chromatography (HPLC) and Capillary Electrophoreses (CE). Fused silica capillaries are packed with stationary phases which are used in HPLC. The charge on the surface of the particles and the capillaries influence the electro osmotic flow (EOF). The Zeta Potential of porous and nonporous silica based materials were measured and compared with literature data. In this work porous and non porous reversed phase silica particles were used as packing for the capillaries. The influence of the surface charge is proportional to the Zeta potential. Ion exchange materials have a huge surface charge density, but capillaries packed with ion exchange materials are not reproducible in the chromatographic behaviour, as shown in some publications. Another method for putting more charge on the surface of the stationary phase is the use of additives to the normal buffer. Thus they showed no influence on the EOF, they are really useful for the selectivity of the stationary phases. The influence on the selectivity of these additives on the separation of different types of analytes is demonstrated. A Gradient system was set up from commercial available components and the influence of the Electric field and the flow are measured and compared. This system is useable for CE, μ -HPLC, CEC and the electric supported μ -HPLC.

<u>1. EINLEITUNG & ZIELSETZUNG</u>	<u>1</u>
<u>2. ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>3</u>
<u>3. STAND DER FORSCHUNG</u>	<u>5</u>
3.1 ELEKTROOSMOSE	5
3.2 DIE ELEKTRISCHE DOPPELSCHICHT	6
3.2.1 DAS STERN'SCHE MODELL DER ELEKTRISCHEN DOPPELSCHICHT	7
3.3 FLÜSSIGCHROMATOGRAPHISCHE UND ELEKTROKINETISCHE TRENNSYSTEME.....	9
3.3.1 KAPILLAR ELEKTROPHORESE	9
3.3.2 KAPILLAR - FLÜSSIGCHROMATOGRAPHIE.....	10
3.3.3 KAPILLAR - ELEKTROCHROMATOGRAPHIE (CEC).....	12
3.3.4 VERGLEICH DER TRENNLEISTUNG VON GEPACKTEN KAPILLAREN IN DER FLÜSSIGCHROMATOGRAPHIE UND DER ELEKTROCHROMATOGRAPHIE	14
3.3.4.1 Einfluß des Flußprofils auf die Bandenverbreiterung	14
<u>4. CHARAKTERISIERUNG DER PACKUNG & DER PACKUNGSMATERIALIEN</u>	<u>17</u>
4.1 RASTERELEKTRONENMIKROSKOPIE (REM).....	18
4.2 ZETA - POTENTIALMESSUNGEN.....	19
4.2.1 ESA-MESSUNGEN	19
4.2.2 MESSUNG DER ELEKTROPHORETISCHEN MOBILITÄT.....	21
4.2.3 ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	25
4.3 FÜLLEN VON KAPILLAREN MIT PARTIKULÄREM KIESELGEL	26
<u>5. CHARAKTERISIERUNG GEPACKTER KAPILLAREN MITTELS ELEKTROCHROMATOGRAPHIE</u>	<u>29</u>
5.1 MIT PORÖSEN RP - KIESELGELEN GEPACKTE KAPILLAREN	29
5.1.1 HYPERSIL ODS 3µM: TRIS-HCL – PUFFER	30
5.1.2 HYPERSIL ODS 3µM: PHOSPHAT – PUFFER	34
5.1.3 XTEC S3 C18.....	36
5.2 MIT UNPORÖSE RP – KIESELGELE GEPACKTE KAPILLAREN	38
5.2.1 MICRA NPS ODS # 2939 (3,0 µM).....	39
5.2.2 MICRA NPS ODS # 0257B (3,0 µM).....	41
5.2.3 MICRA NPS ODS # 2734 (1,5 µM).....	43
5.2.4 H vs U KURVEN VON UNPORÖSEN KIESELGELEN MIT ACETON UND PYREN NACH KRAAK UND POPPE 45	
5.2.5 ZUSAMMENFASSUNG DER H vs U KURVEN PORÖSER UND UNPORÖSER KIESELGELE	46

5.3	EINFLUß VON IONENPAARREAGENTIEN AUF ELEKTROSMOTISCHEN FLUß UND THEORETISCHE BODENHÖHE	48
5.3.1	FLUORIERTE KARBONSÄUREN ALS ADDITIVE	49
5.3.2	SDS ALS ADDITIV	51
5.3.3	TRIETHYLAMIN ALS ADDITIV	53
5.3.4	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	55
6.	<u>TRENNUNG VON TESTGEMISCHEN</u>	56
6.1	ALKYLBENZOLE	57
6.2	ANILINDERIVATE	61
6.3	AMINOSÄUREN	65
6.4	BENZOESÄUREDERIVATE	66
6.5	EPA - MISCHUNG NR. 610	69
6.6	ENGELHARDT – GEMISCH	72
6.7	MULTIKOMPONENTENSTANDARD /SPRENGSTOFFMISCHUNG	73
6.8	SOFTDRINKADDITIVE	75
6.9	PARABENE	76
6.10	POLARE MISCHUNG (THIOHARNSTOFF, PHENOL & KOFFEIN)	77
6.10.1	KAPILLAREN GEPACKT MIT MICRA NPS 3µM ODS 2939	77
6.10.2	KAPILLAREN GEPACKT MIT MICRA NPS 3µM ODS # 0257B	78
6.10.3	KAPILLAREN GEPACKT MIT MICRA NPS 3,0 µM ODS 2917	79
6.10.4	KAPILLAREN GEPACKT MIT HYPERSIL ODS 3 µM	79
6.10.5	KAPILLAREN GEPACKT MIT MICRA NPS 1,5 µM ODS 2734	80
6.10.6	KAPILLAREN GEPACKT MIT MICRA NPS 1,5 µM ODS 2930	81
6.10.7	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	81
6.11	STEROIDE NACH KRAAK	82
6.12	XANTHINE 1	83
6.13	XANTHINE 2	84
6.14	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	85
7.	<u>DRUCKUNTERSTÜTZTE CEC / SPANNUNGSUNTERSTÜTZTE µ-HPLC</u>	87
7.1	AUFBAU DES SYSTEMS	87
7.2	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	94

8. ANHANG & TABELLEN	95
8.1 WEITERFÜHRENDE MODELLE ZUR THEORIE	95
8.1.1 DAS MODELL VON GOUY – CHAPMAN.....	95
8.2 CHARAKTERISIERUNGSMETHODEN & VERWENDETE MATERIALIEN	99
8.2.1 KAPILLARELEKTROPHORESE UND SPANNUNGSUNTERSTÜTZTE μ -HPLC.....	99
8.2.2 PACKAPPARATUR.....	99
8.2.3 VERWENDETE STATIONÄRE PHASEN UND CHEMIKALIEN.....	100
8.2.4 VERWENDETE PUFFERSYSTEME.....	100
8.2.5 ZETAPOTENTIALMESSUNGEN.....	99
8.2.6 RASTERELEKTRONENMIKROSKOPIE.....	99
8.3 TABELLEN ZUR CHARAKTERISIERUNG DER PACKUNG & DER PACKMATERIALIEN	101
8.3.1 ELEKTROPHORET. MOBILITÄT NACH DER LASER DOPPLER ANEMOMETRIE.....	101
8.4 TABELLEN ZUR CHARAKTERISIERUNG GEPACKTER KAPILLAREN MITTELS CEC	103
8.4.1 PORÖSE KIESELGELE.....	103
8.4.1.2 Hypersil ODS 3 μ m.....	103
8.4.1.3 Xtec S 3 C18.....	106
8.4.2 UNPORÖSE RP - KIESELGELE.....	107
8.4.2.4 MICRA 3,0 μ m.....	108
8.4.2.5 unporöse Kieselgele MICRA ODS 1,5 μ m.....	111
8.4.3 EINFLUß VON IONENPAARREAGENTIEN AUF ELEKTROENDOSMOTISCHEN FLUß UND THEORETISCHE BODENHÖHE.....	114
8.5 TABELLEN ZUR SPANNUNGSUNTERSTÜTZTEN μ-HPLC	117
9. LEBENS LAUF & PUBLIKATIONEN	118
10. LITERATUR	120

1. Einleitung & Zielsetzung

In den 60er Jahren hat die Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) ihren Einzug in die Routine- und Forschungslabors begonnen und sich dort manifestiert. Diese Analysenmethode zeichnet sich durch Stabilität, gute Reproduzierbarkeit, Automatisierbarkeit und hohen Probendurchsatz aus. Der Lösemittelfluß wird mit einer pulsationsfreien Doppelkolbenpumpe erzeugt. Die Trennung erfolgt an vornehmlich n-octadecyl- und n-octyl modifizierten Kieselgelen. Mit den ständig wachsenden Anforderungen an feinere Nachweisgrenzen und den damit verbundenen Auflagen der Regulierungsbehörden muß sich dieses System ständig weiterentwickeln und verfeinern. So entstand aus der Kombination mit der Kapillarelektrophorese (CE) eine neue Analysenmethode, die Kapillar - Elektrochromatographie (CEC).

In der Kapillarelektrophorese verwendet man Quarzglas kapillaren, die mit einem Puffer gefüllt sind. In diesem Puffer bewegen sich die Ionen mit konstanter Geschwindigkeit in einem elektrischen Feld. Die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen ist direkt proportional zur angelegten Feldstärke. Die Trennung erfolgt aufgrund unterschiedlicher Wanderungsgeschwindigkeiten der Analyten im Puffer, deswegen lassen sich in der Electrophorese nur Analyten trennen, die eine unterschiedliche Mobilität im elektrischen Feld aufweisen.

Die Kapillar - Elektrochromatographie (CEC) vereint die Vorteile von HPLC und CE, indem sie als Trennsäule eine mit Kieselgelen gepackte „fused silica“ - Kapillare verwendet und auf den hydrodynamischen Fluß verzichtet. Durch die freien Silanolgruppen an der Kapillaroberfläche und die auf der Oberfläche der Packungsmaterialien wird durch Anlegen eines elektrischen Feldes eine elektrophoretische Bewegung des Puffers generiert. Durch das stempelförmige Flußprofil der Elektromigration läßt sich eine bessere Trenneffizienz erzielen als mit dem parabolischen Profil des hydrodynamischen Flusses.

Als Packmaterial für die Kapillaren verwendet man in der CEC Kieselgelpartikel mit einem mittleren Teilchendurchmesser von 1,5 bis 3,0 µm. Die Partikel sind in der Regel mit C8-Alkyl, C18-Alkyl- oder mit Phenylgruppen silanisiert. - Solche Kapillaren sind kommerziell erhältlich. - Neben diesen unpolaren Gruppen besitzen die Packungsmaterialien freie Silanolgruppen, die man benötigt, um den elektroosmotischen Fluß (EOF) zu generieren. Die Geschwindigkeit des EOF ist proportional zum Zeta – Potential. Dieses ist von der Ladungsdichte an der Oberfläche der Packungsmaterialien und der Kapillarwand abhängig. Deswegen hat man durch Einführen von Ionenaustauscherguppen den EOF beschleunigt. Es wurde experimentell gezeigt, daß Packungsmaterialien mit gemischtfunktionellen Gruppen (C18 und Ionenaustauscher) einen hohen EOF erzeugen, jedoch nicht reproduzierbar arbeiten.

Es ist sehr aufwendig, ein stabiles und reproduzierbares Packungsbett in der Kapillare zu generieren. Die Packungsmaterialien unterscheiden sich beim Sintern so stark voneinander, daß die Bedingungen für jedes Material neu ausgetüftelt werden müssen.

Ziel dieser Arbeit ist es, verschiedene Packungsmaterialien zu charakterisieren und ihren Einsatz in der CEC zu testen. Die Materialien unterscheiden sich in der Größe, der Porosität und der Dichte der freien Silanolgruppen. Mit rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen soll die Form, die Größe und die Größenverteilung festgestellt werden. Die Porosität soll mittels Stickstoffsorption ermittelt werden und als wichtige Charakterisierungsmethode für die CEC bietet sich die Messung von Zeta - Potentialen an. Die so charakterisierten Materialien werden mit überkritischem Kohlendioxid in eine „fused silica“ - Kapillare gepackt und durch einen Sinterprozeß mit einem Lichtbogenspleisgerät fixiert. Diese Kapillaren werden in einer handelsüblichen CEC - Apparatur getestet und in Bezug auf Bodenhöhe und EOF - Geschwindigkeit miteinander verglichen.

2. Zusammenfassung

Der Elektroosmotische Fluß (EOF) ist der Motor der Kapillarelektrochromatographie. Er ist abhängig von der Oberflächenladung, von dem Teilchendurchmesser der verwendeten Packungsmaterialien, von der Pufferkonzentration, von dem pH - Wert und von dem Anteil des organischen Lösemittels im Fließmittel. In dieser Arbeit wurde der Einfluß dieser Parameter untersucht. Das Zetapotential als Maß für die Ladungsdichte an der Oberfläche eignet sich zur Charakterisierung der Packungsmaterialien und der damit gepackten Kapillaren. Es wurden in dieser Arbeit ζ -Potentiale mehrerer chemisch modifizierter Kieselgele mit nativen Kieselgelen verglichen. Die pH-Abhängigkeit der ζ -Potentiale spiegelt sich im EOF wider.

Chemisch modifizierte Kieselgele mit gemischtfunktionellen Gruppen oder Ionenaustauschergruppen zeigen ein großes Zeta – Potential ohne pH-Abhängigkeit. Wie experimentell gezeigt wurde, sind Kapillaren, die mit diesen Materialien gepackt wurden, nicht reproduzierbar in Bezug auf den EOF und die Effizienz der Trennung. Deswegen wurden in dieser Arbeit Additive zu dem Fließmittelgemisch gegeben, die die Ladung des Puffers erhöhen und damit den EOF beschleunigen sollen. Durch dynamisches Benetzen der Oberfläche, durch Micellenbildung und durch Addukte mit den Analyten können diese Additive die Selektivität der Trennung beeinflussen, wie am Beispiel mehrerer Testgemische gezeigt wurde, die Geschwindigkeit des EOF bleibt davon unberührt.

Kapillaren, die mit porösen und unporösen Kieselgelen gepackt wurden, verhalten sich in der CEC gleich: bei niedrigen pH-Werten und niedrigen Pufferkonzentrationen werden die kleinsten Bodenhöhen und die größten EOF – Geschwindigkeiten gemessen. Das Minimum der H vs u Kurven liegt für CEC – Kapillaren mit porösen 3 μm - Materialien (Hypersil ODS) bei dem Zwei- bis Dreifachen ($H \approx 2 - 3 \text{ dp}$), mit unporösen 3 μm - Materialien (MICRA NPS ODS) bei dem Doppelten ($H \approx 2 \text{ dp}$) und mit unporösen 1,5 μm - Materialien (MICRA NPS ODS) bei dem Eineinhalbfachen ($H \approx 1,5 \mu\text{m}$) des mittleren Teilchendurchmessers, d.h es ergibt sich für kleinere Teilchendurchmesser eine höhere Effizienz. Kapillaren mit unporösen Teilchen haben ein geringeres Totvolumen als mit porösen Teilchen gefüllte, deshalb scheint der EOF besonders schnell zu sein. Trennungen auf Kapillaren, die mit unporösen Teilchen gefüllt sind, erweisen sich als besonders schnell, da der geringe Kohlenstoffgehalt eine schnelle Einstellung des Verteilungsgleichgewichts bewirkt. Fließmittel mit einem hohen Anteil an polaren organischen Lösemitteln (Acetonitril bzw. Methanol) machen diesen Vorteil zunichte, die Analyten werden nicht getrennt.

Aus mehreren kommerziell erwerbbaaren Komponenten wurde ein Instrument aufgebaut, das sich als Kapillar Elektrophorese, als Kapillar Elektrochromatographie, als μ -HPLC und als

spannungsunterstützte μ -HPLC verwenden läßt. Dieses Gerät eignet sich besonders zur Kombination der CEC mit der μ -HPLC, die man vielleicht spannungsunterstützte μ -HPLC nennen darf. Mit diesem Gerät konnte der Einfluß des elektrischen Feldes auf den EOF gemessen werden, da mit wesentlich kürzeren gepackten Kapillaren gearbeitet werden kann. Der EOF, wie er aus der CEC bekannt ist, kann in der spannungsunterstützten μ -HPLC neben dem hydrodynamischen Fluß nachgewiesen werden. Beide Effekte arbeiten neben einander, damit lassen sich hydrodynamisch betriebene Anlagen mit elektrokinetisch betriebenen koppeln. Das scheint auf den ersten Blick ein Schritt zurück zu sein, bietet jedoch ungeahnte Möglichkeiten für die Zukunft, da die geringen Flüsse, die man zum Betreiben dieser Anlagen braucht, mit modernen Spritzenpumpen leicht handhabbar sind. Die Vorteile dieses Systems zeigen sich in dem geringen Fließmittelverbrauch, dem geringen Probenmengenbedarf, der hohen Selektivität und dem universellen Einsatz.

3. Stand der Forschung

3.1 Elektroosmose

Viele elektrokinetische Experimente beruhen darauf, daß ein Potentialgradient an eine Lösung gelegt wird, die geladene Teilchen enthält^[1]. Man unterscheidet in Abhängigkeit von der Größe:

- Ionische Leitfähigkeit: Kleine Ionen.
- Elektrophorese: Größere Moleküle wie z.B Proteine oder kolloidale Teilchen.

Das einzelne Ion unterliegt einer Beschleunigung F_B im elektrischen Feld.

$$F_B = z * e * E$$

Formel 3.1-1

Die effektive Ladung des Ions z ergibt sich aus der Ionenladung und der Ladung der umgebenden entgegengesetzt geladenen Pufferionen. Damit sich die Ionen mit konstanter Geschwindigkeit bewegen können, muß der Beschleunigung eine gleich große Kraft entgegengesetzt sein, die Reibung F_R . Diese hängt von der dynamischen Viskosität η ab:

$$F_R = 6 * \pi * \eta * a * u$$

Formel 3.1-2

Der STOKE'sche Radius a ist in den meisten Fällen nicht genau bestimmbar, deshalb setzt man für sphärische Teilchen den Wert 6 ein. Für Ionen, deren Radius dem der Puffermoleküle entspricht, ist der Wert kleiner. Durch Gleichsetzen von Formel 3.1-1 und Formel 3.1-2 kommt man auf die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit von:

$$u = \frac{z * e * E}{6 * \pi * \eta * a}$$

Formel 3.1-3

Im Falle von geladenen Teilchen ist die absolute Ladung nicht bekannt. Macht man die Näherung, daß sich die diffuse Doppelschicht, die im Abstand $\delta = \frac{1}{\kappa}$ entsteht, wie ein Plattenkondensator verhält, dann kann man die Ladungsdichte formulieren:

$$\sigma = \frac{\varepsilon * E * \zeta}{4 * \pi}$$

Formel 3.1-4

Die Kraft pro Flächeneinheit, die auf die Oberfläche eines Kondensators wirkt sei $\sigma * F$. In der Gleichgewichtssituation wirkt die Reibung $\frac{\eta * u}{\delta}$ dagegen. So ergibt sich:

$$u = \frac{E * \delta * \sigma}{\eta} = \frac{E * \sigma}{\kappa * \eta} = \frac{\varepsilon * E * \zeta}{4 * \pi * \eta}$$

Formel 3.1-5

Der Volumenfluß V durch eine Kapillare mit dem Radius r sei nach SCHMOLUCHOWSKI^[2]:

$$V = \pi r^2 u$$

$$V = \frac{r^2 * \varepsilon * E * \zeta}{4 * \eta}$$

Formel 3.1-6

3.2 Die elektrische Doppelschicht

Nach dem Modell von GOUY und CHAPMAN bildet sich über einer geladenen Fläche eine Doppelschicht aus. Den Abstand der Doppelschicht^[3], $\rho = 1/\kappa$, bezeichnet man als DEBYE-Länge. Für einen 0,01 M einbindigen Elektrolyten bei 25 °C ergibt sich eine DEBYE-Länge von $\rho = 1/\kappa = 30 \text{ \AA}$

$$\Psi = \Psi_o * e^{-\kappa * x}$$

Formel 3.2-1

Es fällt das Potential mit steigender Pufferkonzentration und mit steigendem Abstand.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß an der Oberfläche das feste Potential

$$\Psi_o = \frac{4 * k * T}{z * e}$$

Formel 3.2-2

gilt und das Potential in der diffusen Schicht mit zunehmenden Abstand und zunehmender Konzentration abfällt. K ist die Boltzmannkonstante, T die Temperatur in Kelvin, $z \cdot e$ die Ladung als Vielfaches der Elementarladung. Das Oberflächenpotential beträgt für monovalente Ionen bei Raumtemperatur $\Psi_0 = 100 \text{ mV}$.

Behandelt man eine elektrische Doppelschicht nach dem Modell von GOUY-CHAPMAN, so stößt man bei kleinen $\kappa \cdot x$ - Werten und großem Ψ_0 an die Grenzen dieses Modells. Das Modell wird im Anhang hergeleitet.

3.2.1 Das STERN'sche Modell der elektrischen Doppelschicht

STERN^[4] unterteilt den Bereich in der Nähe der Oberfläche in zwei Teile:

1. Eine Schicht von Ionen, die direkt auf der Oberfläche adsorbiert sind und dort eine „feste Doppelschicht“ ausbilden (STERN-Schicht).
2. Die diffuse GOUY-Schicht.

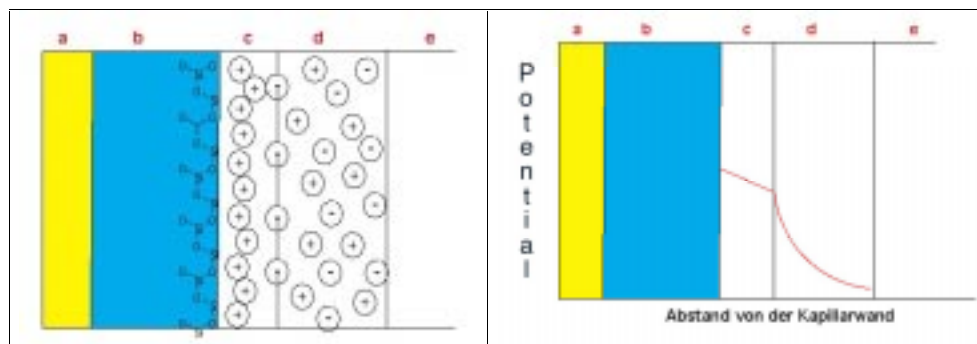


Abbildung 3.2.1-1: Ladungsverteilung an der Kapillaroberfläche;

Verlauf des Potentials innerhalb der Kapillare

a Polyimid - Ummantelung der Kapillare

b Quarzglaskapillare

c starre Grenzschicht mit adsorbierten Ionen (STERN - Schicht)

d diffuse Grenzschicht (GOUY - CHAPMAN - Schicht)

e Elektrolyt

Wichtig bei der Betrachtung nach STERN ist die Abschätzung, wie weit ein Ion die kompakte Schicht durchdringt und wie weit es damit das Potential Ψ absenkt. Mit Ψ_δ beschreibt man das Potential zwischen der adsorbierten (STERN Schicht) und der diffusen Schicht. STERN weist sowohl der Oberfläche als auch der adsorbierten Schicht besetzbare Stellen zu. Mit S_o bezeichnet man die Anzahl der besetzbaren Stellen an der Oberfläche. Damit ergibt sich aus

$\sigma_o = z \cdot e \cdot S_o$ die Relation der besetzten zu den unbesetzten Stellen $\frac{\sigma_s}{\sigma_o - \sigma_s}$. Für eine verdünnte Lösung ergibt sich dann mit N_s als Molenbruch der Lösung:

$$\frac{\sigma_S}{\sigma_o - \sigma_S} = N_S * e^{\frac{z * e * \Psi_\delta + \Phi}{k * T}}$$

Formel 3.2-3: Verhältnis der besetzten zu den unbesetzten Stellen

Für Φ läßt sich jedes mögliche Adsorptions-Potential einsetzen, z.B das des angelegten Feldes. Die Ladungsdichte für die STERN Schicht ist damit

$$\frac{\sigma_S}{\sigma_o} = \frac{N_S * e^{\frac{z * e * \Psi_\delta + \Phi}{k * T}}}{1 + N_S * e^{\frac{z * e * \Psi_\delta + \Phi}{k * T}}}$$

Formel 3.2-4

Für eine **Schichtdicke** von δ und der Näherung $\frac{d\Psi}{dx} \approx \frac{\Psi_o - \Psi_\delta}{\delta}$ gilt dann:

$$\sigma_S = \frac{\varepsilon'}{4 * \pi * \delta} (\Psi_o - \Psi_\delta)$$

Formel 3.2-5: Ladungsdichte der Stern Schicht

Die Kapazität für die STERN Schicht ist $\frac{\varepsilon'}{4 * \pi * \delta}$. Mit ε' ist die lokale Dielektrizitätskonstante gemeint, die von der des gesamten Lösemittels abweichen kann. Die komplette Oberflächenladungsdichte ist gegeben als Summe der Ladungsdichten von der STERN Schicht und der diffusen Schicht:

$$\sigma = \sigma_S + \sigma_d$$

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_S} + \frac{1}{C_d} = \frac{1}{C_S} + \frac{4 * \pi}{\varepsilon * K}$$

Formel 3.2-6

In konzentrierten Lösungen wird C_d sehr groß, und damit ist die Kapazität nur von der STERN Schicht bestimmt: $C = C_S$. Im Fall von Oxiden und biologischen Materialien sind Protonen potentialbeeinflussende Ionen und dürfen deswegen nicht vernachlässigt werden. Für kolloidale Teilchen hat LOEB^[5,6] eine Näherungsformel erstellt mit dem STOKES'sche Radius a und dem Abstand r zum Zentrum dieser Hülle.

$$\Psi = \Psi_o \frac{a}{r} * e^{-\kappa(r-a)}$$

Formel 3.2-7

Für weiterreichende Modelle kann auf folgende Literaturstellen hingewiesen werden^[7,8,9,10,11].

3.3 Flüssigchromatographische und elektrokinetische Trennsysteme

3.3.1 Kapillar Elektrophorese

In der Kapillar Elektrophorese verwendet man Quarzglaskapillaren, die mit einem Puffer gefüllt sind. In diesem Puffer bewegen sich die Ionen mit konstanter Geschwindigkeit in einem elektrischen Feld. Die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen u ist direkt proportional zur angelegten Feldstärke E . Den Proportionalitätsfaktor bezeichnet man als Mobilität der Ionen μ . Die Wanderungsgeschwindigkeit läßt sich ebenfalls als Quotient der Kapillarlänge und der Retentionszeit t_m beschreiben. Die effektive Kapillarlänge L_{eff} ist die Strecke, die die Ionen in der Kapillare bis zum Detektor zurücklegen. Die Gesamtlänge ist der Bereich, über den die Spannung abfällt.

$$u = \mu * E = \frac{L_{eff}}{t_m}$$

Formel 3.3-1

Die Trennung erfolgt aufgrund unterschiedlicher Wanderungsgeschwindigkeiten der Analyten im Puffer, deswegen lassen sich in der Elektrophorese nur Analyten trennen, die eine unterschiedliche Mobilität aufweisen.

$$\mu = \frac{L_{eff}}{t * E} = \frac{L_{eff} * L_{Ges}}{t * U}$$

Formel 3.3-2

Es gibt unterschiedliche Varianten der Kapillar Elektrophorese, die Kapillar Zonenelektrophorese (CZE), die Kapillar Gelelektrophorese (CGE), die Isotachophoreses (CITP) und die Micellare Elektrokinetische Chromatographie (MEKC).

In der CZE benutzt man „fused silica“ - Kapillaren, die mit einem wässrigen Puffer gefüllt sind. Über die gesamte Kapillare bleiben Pufferkonzentration, pH-Wert und Feldstärke konstant. Die Aufgabe des wässrigen Puffers ist es, den elektroosmotischen Fluß (EOF) zu ermöglichen. Der pH – Wert bestimmt die Protonierung des Analyten. Durch geschickte Wahl des pH-Wertes läßt sich eine unterschiedliche Mobilität der Analyten erzeugen, die eine Trennung bewirkt. Die Proben werden als konkrete Zone am Anfang der Kapillare aufgegeben und erreichen in diskreten Zonen den Detektor. Zuerst erscheinen die kleinen Kationen, gefolgt von den großen Kationen, den neutralen Analyten, den großen Anionen und schließlich den kleinen Anionen. Anionen, deren Migrationsgeschwindigkeit größer ist als der EOF, wandern wieder zurück ins Anodengefäß und sind unter diesen Bedingungen nicht trennbar und damit nicht nachweisbar.

Trennungen lassen sich durch Variation des Puffers, Umpolung des Feldes und Beschichtung der Kapillaroberflächen beeinflussen. Die Selektivität der Trennung läßt sich durch die Zugabe von Additiven zum Puffer, z.B. Harnstoff, Cyclodextrin, Detergenzien und organische Lösemittel modifizieren.

3.3.2 Kapillar - Flüssigchromatographie

Die Kapillarflüssigchromatographie ist eine Variante der Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC). Anstelle einer 4 bzw. 4,6 mm iD Stahlsäule verwendet man mit Kieselgelteilchen gepackte Kapillaren. Die mobile Phase wird mit einer kommerziellen Doppelkolbenpumpe über die Kapillare zum Detektor bewegt. Das Gesetz von Hagen Poiseuille^[12] beschreibt das Verhalten von Flüssigkeiten, die durch ein Rohr strömen. In unserem Fall handelt es sich um eine Kapillare mit einem Innendurchmesser von 300 µm.

$$\frac{V}{t} = \frac{\pi * R^4 * \Delta p}{8 * \eta * L}$$

Formel 3.3-3: Gesetz von Hagen Poiseuille

V	Volumen der Flüssigkeit, das in der Zeit t die Kapillare durchströmt
R	Radius der Kapillare mit glatter Wandung
Δp	Druckdifferenz zwischen den beiden Kapillarenden
t	Dauer des Flusses
l	Länge der Kapillare
η	dynamische Viskosität

In der Kapillar - Flüssigchromatographie bewegt sich nur sehr wenig mobile Phase durch die mit Kieselgelteilchen gepackte Kapillare. Betrachtet man das durchgängige Porensystem als ein Bündel Kapillaren mit kleinem Innendurchmesser, so kann der Volumenfluß pro Zeiteinheit nicht mehr besonders hoch sein, weil der Kapillarradius in der vierten Potenz in

die Formel eingeht. Mit höherem Druck läßt sich der Volumenfluß erhöhen; man erreicht den maximal zulässigen Druck sehr schnell.

Man hat nicht sehr viele Möglichkeiten, einen so geringen Fluß einzuregulieren:

1. An Pumpen, die sehr kleine Flüsse pulsationsfrei bewältigen können, kann man die Kapillaren direkt verbinden. Oft benutzt man hierfür Spritzenpumpen.
2. Benutzt man eine gängige HPLC-Pumpe, so muß der Großteil des Flusses abgeleitet werden. Der Flußteiler soll den gleichen Gegendruck aufbauen wie die gepackte Kapillare, um einen Fluß über die gepackte Kapillare zu ermöglichen.

Ein weiterer Aspekt, der bei der Kapillar – Flüssigchromatographie nicht vernachlässigt werden soll, ist die Möglichkeit, einen Gradienten einzusetzen. Bei einem Gradienten kombiniert man unterschiedliche mobile Phasen miteinander, die unterschiedliche Lösemittelstärken haben. Damit können Proben, die mehrere Substanzgruppen enthalten, getrennt werden. Die Volumenflüsse bei der Kapillar – Flüssigchromatographie sind so gering, daß das System totvolumenfrei sein muß, damit der Gradient überhaupt zum Tragen kommt. Der große Nachteil eines Gradienten ist, daß die Kapillare anschließend wieder konditioniert werden muß, was Zeit dauert. Damit ist ein Teil des Zeitgewinns schon wieder hinfällig. Trotzdem werden mit einem Gradienten einige Applikationen erst möglich oder so stark beschleunigt, daß sie interessant sind.

3.3.3 Kapillar - Elektrochromatographie (CEC)

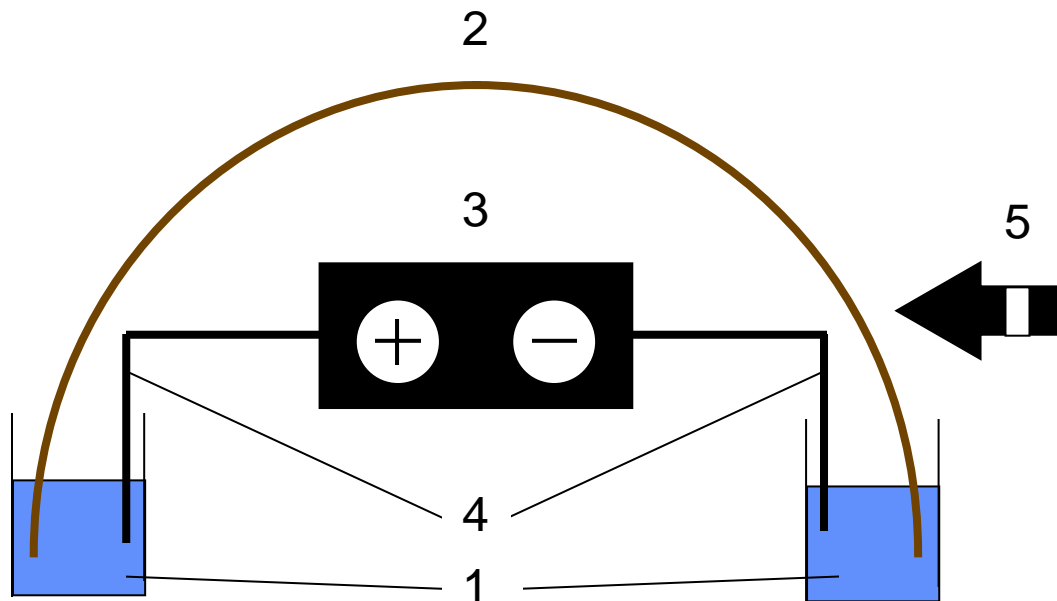


Abbildung 3.3.3-1: Schema einer CEC - Apparatur^[13,14]

1	Puffervorratsgefäß;
2	gepackte Kapillare
3	Netzteil;
4	inerte Elektroden
5	Detektorfenster und UV Detektor

Für die Kapillar - Elektrochromatographie benutzt man „fused silica“ – Kapillaren (2), die mit HPLC - Packungsmaterialien gefüllt sind. Die Länge des Packungsbettes beträgt ca. 25 cm. Die Kapillare ist etwas länger als das Packungsbett, weil die Detektion durch ein Detektionsfenster der Kapillare (on column) erfolgt. Standardmäßig benutzt man einen UV – Detektor (5). Die Kapillarenden werden jeweils in ein Puffervorratsgefäß (1) eingetaucht. In diesen befindet sich zusätzlich eine inerte Elektrode (4), die mit einer Hochspannungsquelle (3) verbunden ist. Legt man ein elektrisches Feld an die Puffergefäße, so wird der Kreislauf durch die gepackte Kapillare geschlossen. Bei den kommerziellen Geräten kann man noch einen Druck auf beide Puffergefäße ausüben, um ein Ausgasen während des Betriebes zu unterdrücken. Die kleinen Gasblasen verringern das elektrische Feld und damit auch den Elektroosmotischen Fluß. Mit steigender Spannung und mit steigender Stromstärke nimmt die Gefahr des Ausgasens zu.

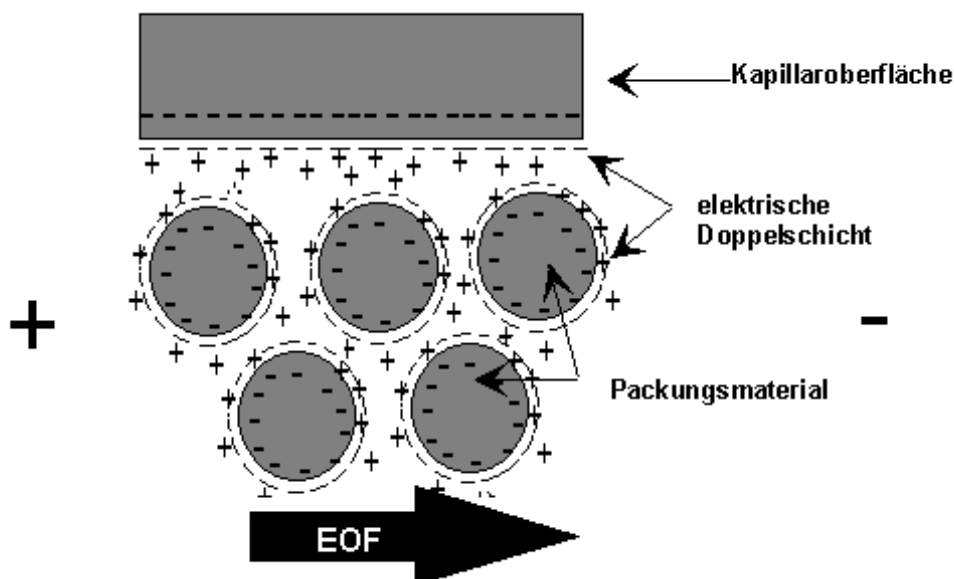


Abbildung 3.3.3-2: EOF gepackter Kapillaren^[14,13]

In ungepackten Kapillaren, wie sie in der CE verwendet werden, wird der EOF in Gegenwart eines elektrischen Feldes durch die freien Silanolgruppen an der Kapillaroberfläche generiert. In der Kapillar - Elektrochromatographie (CEC) verwendet man mit Kieselgelpartikeln gepackte Kapillaren. Sowohl die Kapillarwand als auch die Packungsmaterialien tragen zum EOF bei, weil beide freie Silanolgruppen besitzen. An den negativ geladenen Oberflächen bildet sich eine elektrische Doppelschicht aus. Durch Anlegen eines elektrischen Feldes generiert man den EOF.

Betrachtet man eine gepackte Kapillare, wie sie in Abbildung 3.3.3-2 dargestellt ist, so fällt auf, daß der Großteil der Oberfläche von den Packungsmaterialien gestellt wird. Diese Beobachtung läßt den Schluß zu, daß der EOF in der Kapillar – Flüssigchromatographie primär durch die Packungsmaterialien generiert wird.

3.3.4 Vergleich der Trennleistung von gepackten Kapillaren in der Flüssigchromatographie und der Elektrochromatographie

In der HPLC und der CEC strebt man an, die Analyten in diskrete Zonen zu trennen. Es gibt eine Reihe Faktoren, die die Banden verbreitern und so die Trennleistung beeinflussen.

Die Faktoren, die Einfluß auf die theoretische Bodenhöhe nehmen, sind die axiale Dispersion in dem Zwischenkornbereich (H_{disp}), die Filmdiffusion ($H_{\text{e, diff}}$), die Diffusion im Inneren eines Partikels ($H_{\text{i, diff}}$), die Massentransferkinetik in den Zwischenkorn - Kanälen ($H_{\text{t, diff}}$) und die Kinetik der Einstellung des Adsorptionsgleichgewichtes (H_{kin}). Dieses Modell wurde von Knox^[35,36,37,38] entwickelt, von Horvath^[15,16] für die HPLC optimiert und von Dittmann und Rozing^[17,13] für die CEC weiterentwickelt.

$$H = H_{\text{disp}} + H_{\text{e, diff}} + H_{\text{i, diff}} + H_{\text{t, diff}} + H_{\text{kin}}$$

Formel 3.3-4: Additive Beiträge, die zur Bandenverbreiterung beitragen

In gepackten Säulen läßt sich die Dispersion im Zwischenkornbereich in die axiale Diffusion und in die Eddy Diffusion aufspalten.

$$H_{\text{disp}} = H_{\text{a, diff}} + H_{\text{eddy, diff}}$$

Formel 3.3-5: Dispersion in axialer Richtung bei gepackten Kapillaren

Von allen genannten Termen sind nur die Eddy Diffusion und die Massentransferkinetik durch die Zwischenkornkanäle abhängig vom Typ des Flußprofils. Dies liegt daran, daß man die Zwischenräume der gepackten Kapillare als kleine Kapillare betrachten kann, wenn diese:

1. untereinander verbunden sind.
2. durchlässig sind.
3. eine gleichförmige Verteilung und deswegen einen einheitlichen Innendurchmesser haben.

3.3.4.1 Einfluß des Flußprofils auf die Bandenverbreiterung

Der Kanalradius R ^[18,19,20,21,22,23] ist wesentlich kleiner als der Radius der Packungsmaterialien r_p ; man schätzt ihn ab mit: $R \approx (0,25 \text{ bis } 0,4) * r_p$. Bei diesen kleinen Kanälen ist es offensichtlich, daß das parabolische Flußprofil die Banden verschmelzen läßt. Das elektrokinetisch betriebene System zeigt ein weitgehend stempelförmiges Flußprofil und gewinnt dadurch eine bessere Trennleistung.

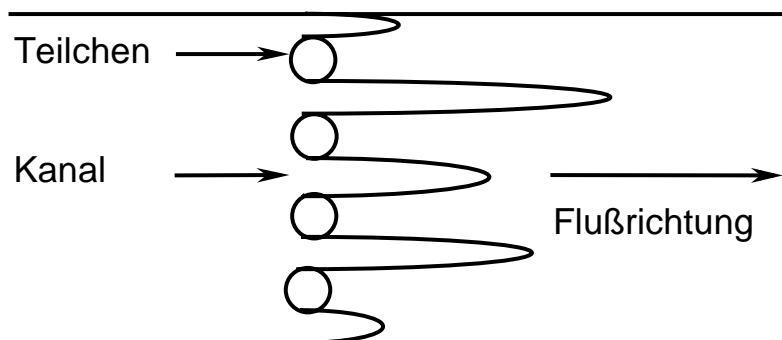


Abbildung 3.3.4-1: Flußprofil in einer gepackten Kapillare bei hydrodynamisch erzeugtem Fluß

Den Einfluß des Flußprofils bei der Eddy Diffusion, die den Weg um die Packungsmaterialien beschreibt, läßt sich mit der Abbildung 3.3.4-2 beschreiben. Bei dem hydrodynamischen Fluß treten wegen der verschieden dünnen Kanäle Unterschiede in der Fließgeschwindigkeit auf. Bei dem elektrokinetisch betriebenen System machen sich die Unterschiede im Kanaldurchmesser nicht so gravierend bemerkbar.

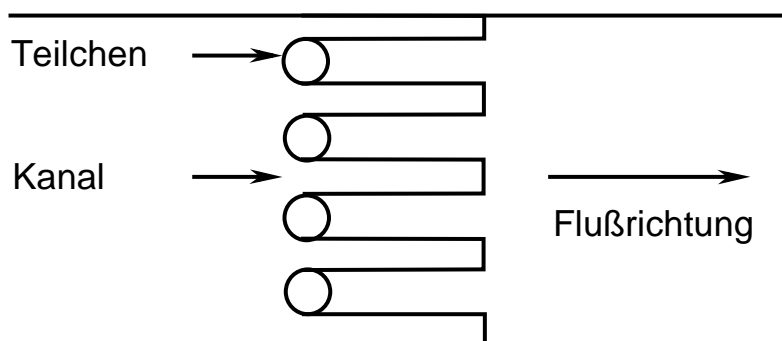


Abbildung 3.3.4-2: Flußprofil in einer gepackten Kapillare bei elektrokinetisch erzeugtem Fluß

Betrachtet man die beiden H vs u Kurven, die nach dem Modell von Dittmann und Rozing^[17] berechnet sind, so muß man nur die Faktoren vergleichen, die vom Flußprofil beeinflusst werden. Das sind die axiale Diffusion durch die Kapillaren und die Eddy Diffusion.

Der Diffusionsterm durch die Zwischenkorn - Kanäle unterscheidet sich fast nicht zwischen dem hydrodynamischen und dem elektrokinetischen System. Er bewirkt damit keinen Unterschied in der Trennleistung.

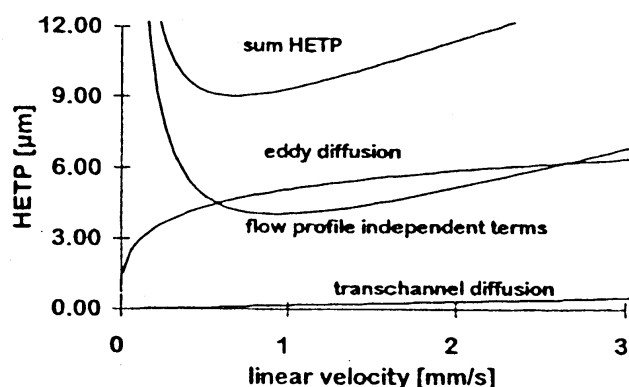


Abbildung 3.3.4-3: H vs u Kurve von $5\ \mu\text{m}$ Teilchen in der HPLC^[13]

Der Term der Eddy Diffusion unterscheidet sich allerdings gravierend. Er ist bei der HPLC etwa zweimal so groß wie bei der CEC. Hieraus resultiert eine wesentlich niedrigere Bodenhöhe bei der CEC. Damit ist die Eddy Diffusion verantwortlich für die Unterschiede der Trennleistung von CEC und Kapillar HPLC.

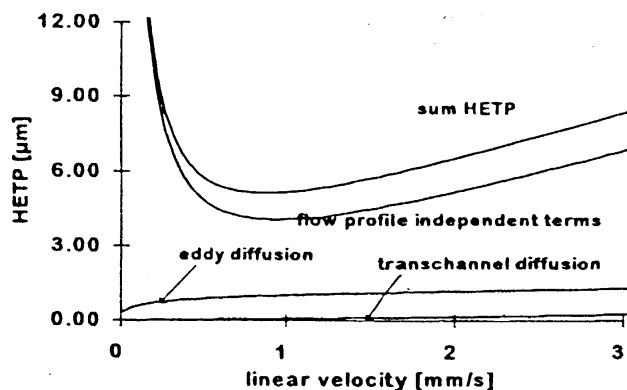


Abbildung 3.3.4-4: H vs u Kurve von 5 µm Teilchen in der CEC^[13]

Auf der Basis des gleichen Modells läßt sich die Effizienz beider Systeme in Abhängigkeit von der Säulenlänge und dem mittleren Teilchendurchmesser berechnen:

dp [µm]	Kapillar - HPLC			CEC		
	Länge / [cm]	N / Säule		Länge / [cm]	N / Säule	
5	50	45.000	H ~ 2-5 dp	50	90.000	H ~ dp
3	30	50.000		50	150.000	
1,5	15	33.000		50	210.000	

Tabelle 3.3.4-1: Theoretisch erreichbare Bodenzahlen pro Säulenlänge in der Kapillar HPLC und in der CEC

Im direkten Vergleich zwischen HPLC und CEC sieht man, daß die Bodenzahlen in der CEC bei $dp = 5 \mu\text{m}$ doppelt so groß sind. Verkleinert man den Durchmesser der Packungsmaterialien für die CEC, so läßt sich damit die Effizienz noch einmal verdoppeln.

4. Charakterisierung der Packung & der Packungsmaterialien

Hersteller	Probe	funktionelle Gruppe nach Herstellerangabe	dp [µm]	spezifische Oberfläche BET[m ² /g]	spezifisches Porenvolumen [ml / g]	mittlerer Porendurchmesser [Å]
Hypersil		C 18 Alkyl	3,0	109	0,47	127
Xtec S3	C18	C 18 Alkyl	3,0	150	0,35	68
Xtec S3	SAX	NR ₄ ⁺	3,0	162	0,46	93
Xtec S3	SAX-C6	NR ₄ ⁺ + C6 Alkyl	3,0	160	0,38	76
Xtec S3	SCX	Propylsulfonsäure	3,0	191	0,49	94
Xtec S3	SCX-C18	Propylsulfonsäure + C6 Alkyl	3,0	117	0,28	73
Xtec S3	SCX-C6	Propylsulfonsäure + C6 Alkyl	3,0	172	0,43	89
MICRA	2939	C18	3,0			
MICRA	0257b	polymeres C18	3,0			
MICRA	2917	C18 - nachsilanisiert	3,0			
MICRA	2734	C18	1,5			
MICRA	2930	C18	1,5			
MICRA	0195/95c	C18	1,5			
MICRA	2933	C18 - nachsilanisiert	1,5			

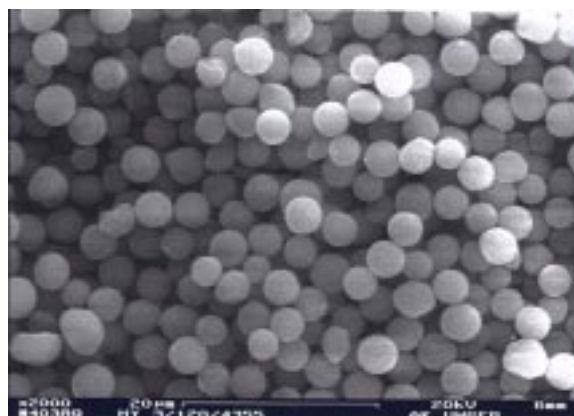
Tabelle 3.3.4-1: Übersicht der in der Arbeit verwendeten Packungsmaterialien

Die in der Tabelle aufgelisteten Materialien unterscheiden sich in ihrer Größe, ihrer Porosität und ihren funktionellen Gruppen.

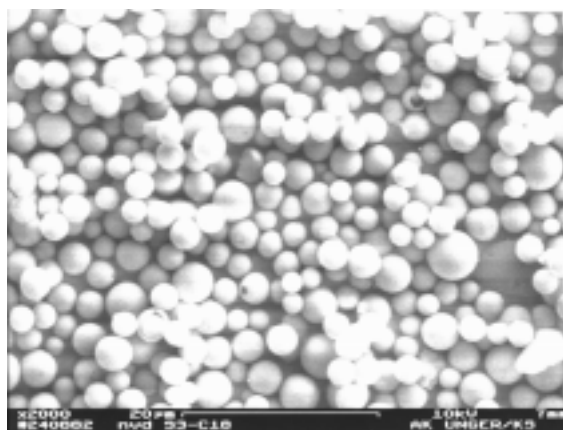
Die Packungsmaterialien von MICRA sind unporös und unterscheiden sich untereinander in ihrer Oberflächenbelegungsdichte und in ihrem Partikeldurchmesser.

Das Hypersil Material wird als Vergleichsmaterial verwendet, weil es ein gängiges CEC – Material ist, das sich durch gute chromatographische und elektrophoretische Eigenschaften auszeichnet.

4.1 Rasterelektronenmikroskopie (REM)



Hypersil ODS 3 µm Charge 120 4355

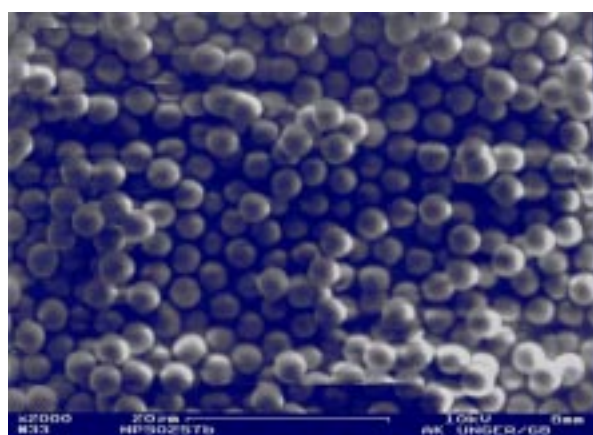


Xtec S3 C18

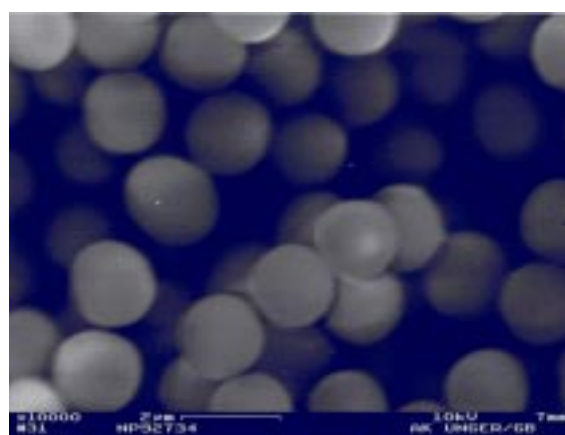
Abbildung 3.3.4-1: REM - Aufnahmen von porösen 3 µm Packungsmaterialien

Die Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme des Hypersilmaterials, zeigt, daß die Größenverteilung der Partikel nicht besonders scharf ist. Die Teilchen sind rund, und es existieren fast keine Bruchstücke.

Beim Xtec-Material ist die Größenverteilung noch ungünstiger. Der Anteil der nicht kugelförmigen Teilchen ist auffällig.



MICRA NPS ODS 3,0 µm Charge 0257b



MICRA NPS ODS 1,5 µm Charge 2734

Abbildung 3.3.4-2: REM - Aufnahmen von unporösen Packungsmaterialien

Bei den MICRA-Materialien fällt auf, daß die Größenverteilung sehr scharf ist. Es befinden sich keine Bruchstücke in dem Bildausschnitt, und die Teilchen sind annähernd sphärisch. Bei den anderen MICRA Chargen sehen die Bilder ähnlich aus.

4.2 Zeta - Potentialmessungen

Es wird vorausgesetzt, daß die STERN Schicht immobil ist. Etwas weiter weg von der Oberfläche gibt es im diffusen Bereich eine Schicht, die von den Scherkräften bewegt werden kann. Das Potential an der Oberfläche dieser Schicht nennt man **ζ -Potential**.

Dieses Potential ist proportional zur Azidität der Silanolgruppen an der Oberfläche. Die Azidität ist von der Gegenwart von Gegenionen abhängig und natürlich auch von Metallen, die in das Silica-Gerüst eingebaut sind. Oberflächenverunreinigungen der Kieselgele spiegeln sich im Zetapotential wieder.

4.2.1 ESA-Messungen

Wird ein alternierendes Druckfeld oder eine Tonwelle an eine Flüssigkeit angelegt, so wird Material, das in der Lösung suspendiert ist, verdrängt. Der Grad der Verdrängung ist eine Funktion von der Mobilität der Flüssigkeit an der Teilchenoberfläche. Falls geladene Teilchen sich gegenüber anders geladenen Teilchen bewegen, entsteht ein elektrisches Feld. Dieser Effekt wurde von DEBYE^[24] 1933 vorhergesagt und wird Ultraschall Vibrations Potential (UVP) genannt.

Legt man ein alternierendes elektrisches Feld an eine Lösung an, so werden sich geladene Teilchen elektrophoretisch bewegen und damit eine Druckwelle erzeugen. Diesen Effekt nennt man „Electrokinetic Sonic Amplitude“ (ESA). ESA und UVP sind proportional zum Zeta - Potential.^[25,26,27]

Das zu untersuchende Kieselgel (Hypersil ODS 3 μm Charge 4355) wird 2 Vol%-ig in einem Lösemittelgemisch aus Ethanol / HPLC-Wasser = 40 / 60 (w/w) suspendiert. Die Suspension wird 0,5 h dispergiert und zur Einstellung des Ionengleichgewichts über Nacht stehengelassen.

Hypersil ODS 3 μm

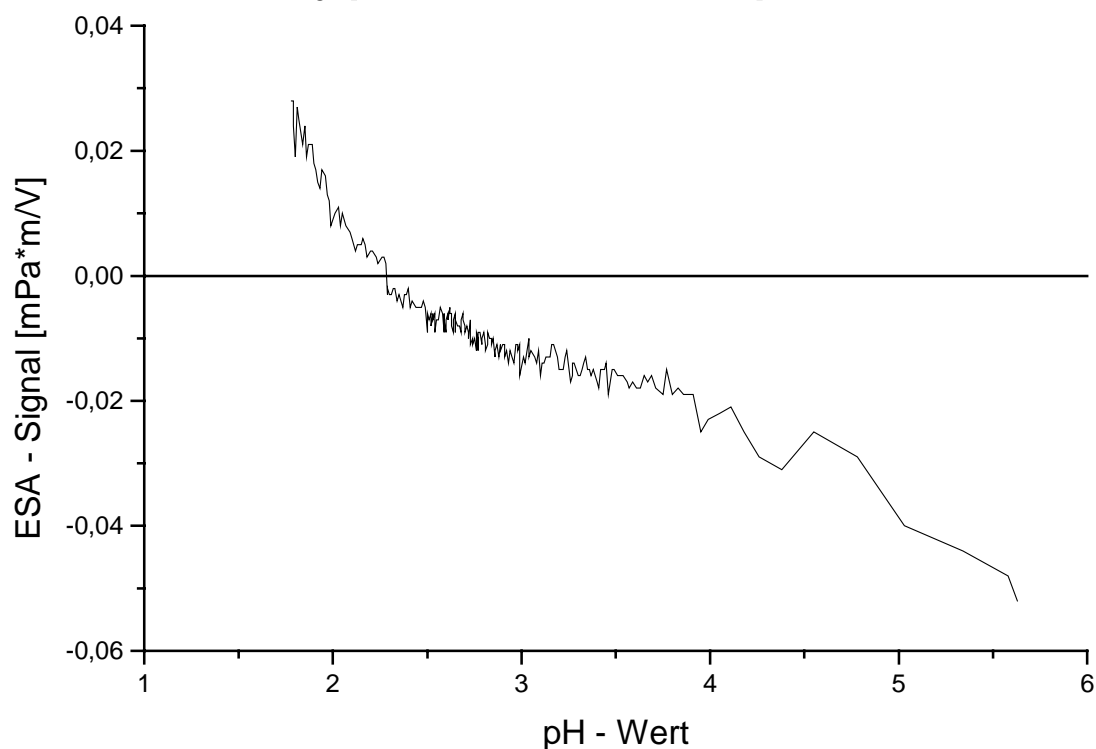


Abbildung 4.2.1-1: ESA - Messung in Abhängigkeit vom pH - Wert

Betrachtet man die Auftragung der ESA-Messung gegen den pH-Wert, so kann man den isoelektrischen Punkt erkennen. Den isoelektrischen Punkt bestimmt man beim Nulldurchgang des ESA – Signals mit pH 2,28. Da das Zeta - Potential aus den ESA-Werten bestimmt werden kann, verhält es sich analog und fällt von den niedrigen zu den höheren pH-Werten rapide ab.

4.2.2 Messung der elektrophoretischen Mobilität

Die Laser – Doppler – Anemometrie arbeitet wie eine Kapillarelektrophorese. Die geladenen Teilchen bewegen sich durch Elektroosmose in der Kapillare. Mit einem gekreuzten Laser wird „on column“ die Lichtstreuung gemessen, die sich durch die bewegten Teilchen ändert. Das elektrische Feld wird niederfrequent umgepolt, damit eine gleichmäßige Verteilung der Partikel gewährleistet bleibt. Die elektrophoretische Mobilität wird nach dem Modell von Schmoluchowski in das Zeta - Potential umgerechnet.

Die einzelnen Proben werden in einer 1 mM Kaliumchloridlösung dispergiert. - Bei stark hydrophoben Proben werden diese zuerst mit iso-Propanol benetzt und dann dispergiert. - Alle Proben werden bei ca. 50 W in einem Ultraschallbad dispergiert. Von der Suspension werden einige Tropfen in eine Messlösung überführt. Die pH - Titrationen erfolgt mit einem Autotitrationssystem.

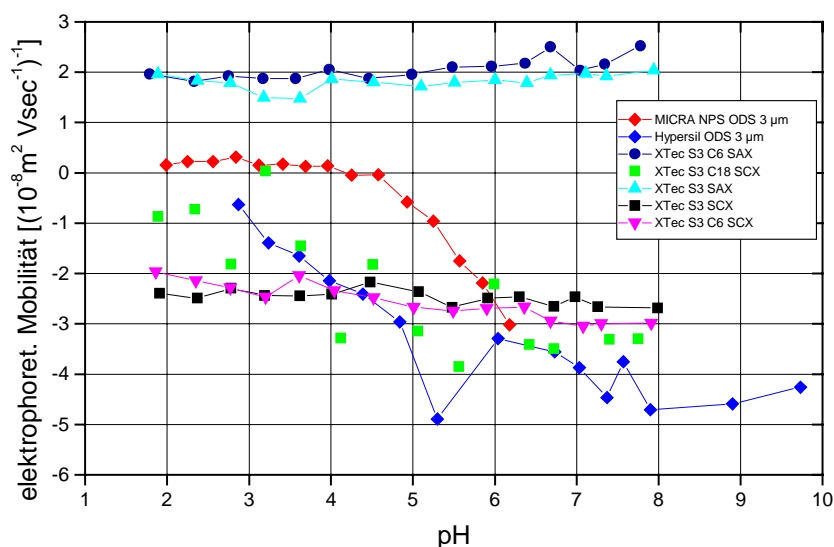


Abbildung 4.2.2-1: Elektrophoretische Mobilität verschiedener chemisch modifizierter Kieselgele in Abhängigkeit vom pH

Trägt man die elektrophoretische Mobilität gegen den pH auf, so ist offensichtlich, daß die der Anionenaustauscher pH unabhängig ist. Das hängt damit zusammen, daß die Anionenaustauscher quaternäre Ammoniumverbindungen sind, die positiv geladen sind.

Die unporösen MICRA - Teilchen zeigen über einen langen pH – Bereich keinerlei Mobilität. Bei pH 4,5 durchläuft die Kurve den Nullpunkt, fällt bis pH 6,5 recht linear ab. Im Ganzen bildet dieses Material eine konvexe Kurve.

Hypersil ODS 3 μ m durchläuft eine konkave Kurve, die bei pH 5,5 einen starken Einbruch zeigt, der auf eine reversible Änderung der Oberfläche in diesem pH Bereich hinweisen könnte.

Die sauren Kationenaustauscher zeigen eine Mobilität mit negativem Vorzeichen. Die MixMode Phase mit der C18-Alkylkette zeigen keine deutliche Tendenz. Die Werte streuen sehr stark und weisen darauf hin, daß mal die Effekte der RP – Phase mal die des Kationenaustauschers überwiegen. Schon bei der C6-Alkylkette sind die Meßwerte sehr harmonisch und nicht mehr vom pH – Wert abhängig.

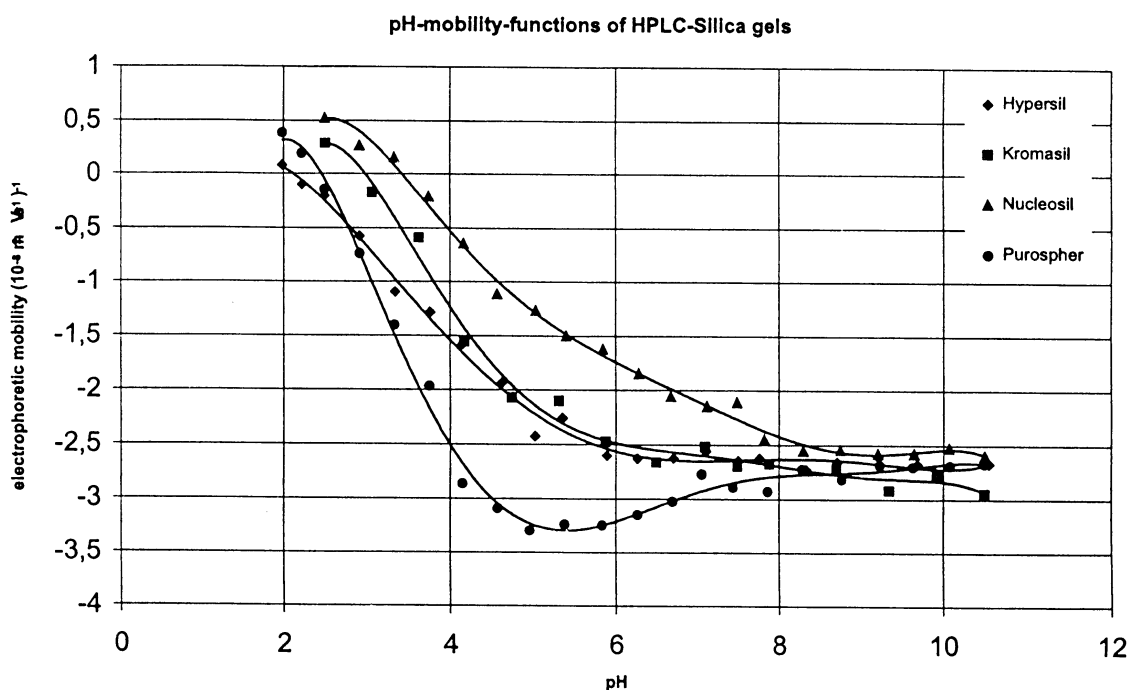


Abbildung 4.2.2-2: Elektrophoretische Mobilität nativer Kieselgele in Abhängigkeit vom pHWert^[28]

Im Gegensatz zu den eigenen Meßwerten handelt es sich hier um native Kieselgele, die etwas andere Oberflächen Eigenschaften haben.

Betrachtet man Hypersil in der Abbildung, so stellt man fest, daß es eine konkave Kurve durchläuft. Auch die anderen hier aufgetragenen Kieselgele zeigen dieses Verhalten.

Purospher durchläuft bei dieser Auftragung noch einen Wendepunkt. Die Anwesenheit dieser Schleife läßt die Interpretation zu, daß instabile Siloxane zu Silanolen umgelagert werden, die dann die elektrophoretische Mobilität verändern.

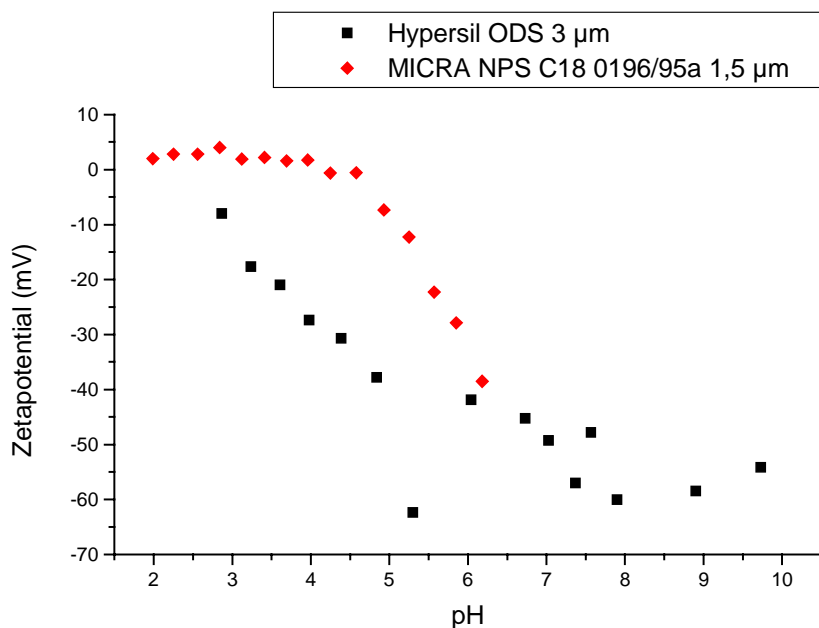


Abbildung 4.2.2-3: Zeta - Potentialmessungen von hydrophoben Kieselgelen in Abhängigkeit vom pH-Wert

Abbildung 4.2.2-3 zeigt, daß das Zeta - Potential von hydrophoben Kieselgelen bei niedrigen pH-Werten im Bereich von 0 mV liegt. Bei dem Hypersil - Material fällt das Zeta - Potential mit dem pH-Wert stetig und erreicht, nach einer Stufe zwischen pH 5 und 7, sein Minimum bei pH 8 - 9. Für das MICRA - Material kann man bis pH 4 keinen Einfluß des pH - Wertes auf das Zeta - Potential erkennen. Mit steigendem pH- Wert erreicht das Zeta - Potential bei pH 6 sein Minimum. Das MICRA - Material ist unporös, deswegen gibt es absolut gesehen weniger freie Silanolgruppen, die Einfluß auf das Zeta - Potential nehmen können, und es gibt eine geringere Beladung der Oberfläche mit C18-Ketten.

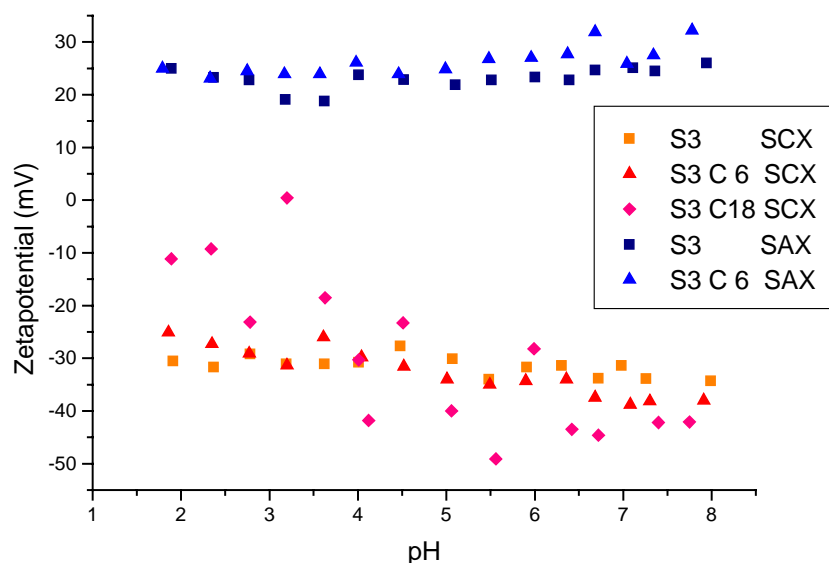


Abbildung 4.2.2-4: Zeta - Potentialmessungen eines X-TEC 3 μ m Kieselgels mit gemischtfunktionellen Gruppen:

S3-SCX Propylsulfonsäure

S3-C6/SCX C6 Gruppen und Propylsulfonsäure

S3-C18/SCX C18 Gruppen und Propylsulfonsäure

S3-SAX quaternäre Ammoniumverbindung;

S3-C6 / SAX: C6-Gruppen und quaternäre Ammoniumverbindung

Die Teilchen, die mit Propylsulfonsäure silanisiert wurden und die gemischtfunktionellen Partikel mit Propylsulfonsäuren und C6-Alkyl-Kette zeigen fast keine Schwankungen in Abhängigkeit vom pH-Wert. Die gemischtfunktionellen Teilchen mit der Propylsulfonsäure und der C18-Kette schwanken sehr stark mit dem Zeta - Potential. Grund ist die schlechte Benetzbarkeit der C18-Ketten durch wässrige Systeme, die die Messwerte verfälscht.

Silanisiert man das Kieselgel mit einer Sulfonsäuregruppe, so erhöht sich die negative Ladungsdichte an der Oberfläche. Diese Tatsache spiegelt sich direkt in der Messung wider, indem die Messwerte in den negativen Bereich verschoben werden. Das 3 μ m Material, das nur mit der Propylsulfonsäure silanisiert ist, zeigt ein Zeta - Potential, das über den gesamten pH-Bereich sehr stabil ist, weil das Zeta - Potential primär durch die Propylsulfonsäure bestimmt wird und nicht durch die Ladungsdichte, die durch Silanolgruppen hervorgerufen wird.

Die Partikel, die mit einer quaternären Ammoniumverbindung silanisiert sind haben eine positive Ladung auf ihrer Oberfläche. Damit hat das Zeta - Potential der Ammoniumverbindungen positive Werte. Alle Meßwerte der Partikel, die mit Ammoniumgruppen silanisiert sind, erscheinen sehr konstant über den gesamten pH-Bereich.

4.2.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Zwei unterschiedliche Methoden der Zetapotentialbestimmung wurden verwendet. Die ESA Messung und die Laser – Doppler – Anemometrie. Beide führen zu dem selben Ergebnis, wie man am Beispiel von Hypersil ODS 3 μm sehen kann. Der Isoelektrische Punkt von Hypersil ODS 3 μm konnte mit pH 2,28 bestimmt werden. Dieser Wert liegt sehr nahe bei einem Literaturwert, bei dem der Isoelektrische Punkt eines nativen Hypersilmaterials bestimmt wurde. pH 2,10. Da das native Material mehr freie Silanolgruppen besitzt, sollte der Isoelektrische Punkt des nativen Materials saurer sein, wie es gemessen wurde. Die ESA Messung benötigt mehr Material, deswegen wurden die meisten Messungen nach der Laser Doppler Anemometrie durchgeführt.

Vergleicht man die elektrophoretische Mobilität mit den Zetapotentialen in Abhängigkeit vom pH Wert, so spiegelt sich jede Tendenz der Mobilität im Zetapotential wieder.

Die reinen Ionenaustauscherphasen verhalten sich bezüglich ihres Zetapotential und ihrer elektrophoretischen Mobilität unabhängig vom pH – Wert. Das hängt damit zusammen, daß die funktionellen Gruppen quaternäre Ammoniumverbindungen und Propylsulfonsäuren sind. Diese haben einen konstanten Isoelektrischen Punkt und überdecken die anderen Effekte.

Die gemischtfunktionellen Kieselgele, die eine C6 – Alkylkette tragen, verhalten sich genauso wie die reinen Ionenaustauscher. Der gemischtfunktionelle Kationenaustauscher mit der C18-Alkylkette schwankt zwischen Kationenaustauscher und reinem RP – Material.

Hypersil ODS 3 μm zeigt eine ähnliche elektrophoretische Mobilität wie ein natives Hypersil Material. Das Zetapotential läßt sich aus der elektrophoretischen Mobilität berechnen und ist deswegen auch pH abhängig. Mit der Änderung des Zetapotentials gehen Veränderungen an der Oberfläche des Materials einher, sei es daß Siloxane zu Silanolgruppen aufspalten oder sei es das sich ein Monomeres der Kieselsäure umlagert. Hier spielen räumliche Faktoren eine Rolle, z.B. Porenvolumen und Oberflächenkrümmung.

Das unporöse MICRA – Material zeigt zwischen pH 1 und pH 4,5 keinerlei elektrophoretische Mobilität und der Wert des Zetapotentials ist Null. Erst dann fällt es innerhalb von 2 pH Einheiten um 40 mV. Die mangelnde Mobilität kann mit der geringen Oberfläche des Materials zusammenhängen, damit verbunden ist eine geringe Silanolgruppenzahl, die sich im Zetapotential widerspiegelt.

4.3 Füllen von Kapillaren mit partikulärem Kieselgel

In der CEC verwendet man standardmäßig Packungsmaterialien mit einem mittleren Teilchendurchmesser von ca. 3 µm. Teilchen dieser Größe agglomerieren infolge der elektrostatischen Aufladung. Deswegen müssen sie mit einem Lösemittel benetzt werden. Damit die Kapillare gleichmäßig gepackt ist, muß man die unterschiedliche Sinkgeschwindigkeit v_s der Packungsmaterialien eliminieren. Bei dem STOKES'SCHEN GESETZ^[29] berücksichtigt man die Dichte des Packmaterials ρ_p , den mittleren Durchmesser der Teilchen d_p , die Dichte der Flüssigkeit ρ_f und die Viskosität η der Flüssigkeit. Mit g der Erdbeschleunigung gilt:

$$v_s = (\rho_p - \rho_f) \frac{g d_p^2}{18\eta}$$

Formel 4.3-1

Damit existieren vier verschiedene Suspensionsmethoden zum Packen von Kapillaren:

1. die einfache Suspension in organischen Lösemitteln: Hier muß die Packgeschwindigkeit wesentlich größer sein als die Sinkgeschwindigkeit, um weder Dichte noch Viskosität berücksichtigen zu müssen.
2. die elektrostatische Dispersion^[30]: Man verwendet beispielsweise 0,001 N Ammoniaklösung und desaktivierte Kieselgele, die anschließend wieder aktiviert werden müssen.
3. die viskose Dispersion^[31]: Die Viskosität muß sehr groß sein, damit die Sinkgeschwindigkeit entsprechend klein ist, deshalb dauert das Packen der Säulen sehr lange.
4. die Schwebesuspension^[32]: Ist die Dichte der Lösung etwa genauso groß wie die des Packmaterials, so ist die Sinkgeschwindigkeit gleich Null. Meist braucht man halogenierte Lösemittel, um die entsprechende Dichte einzustellen.

Die in dieser Arbeit verwendeten Kapillaren wurden nach der Methode 1 gepackt, weil die Packgeschwindigkeit wesentlich größer ist als die Sinkgeschwindigkeit. Dies liegt an der geringen Viskosität des überkritischen Kohlendioxid.

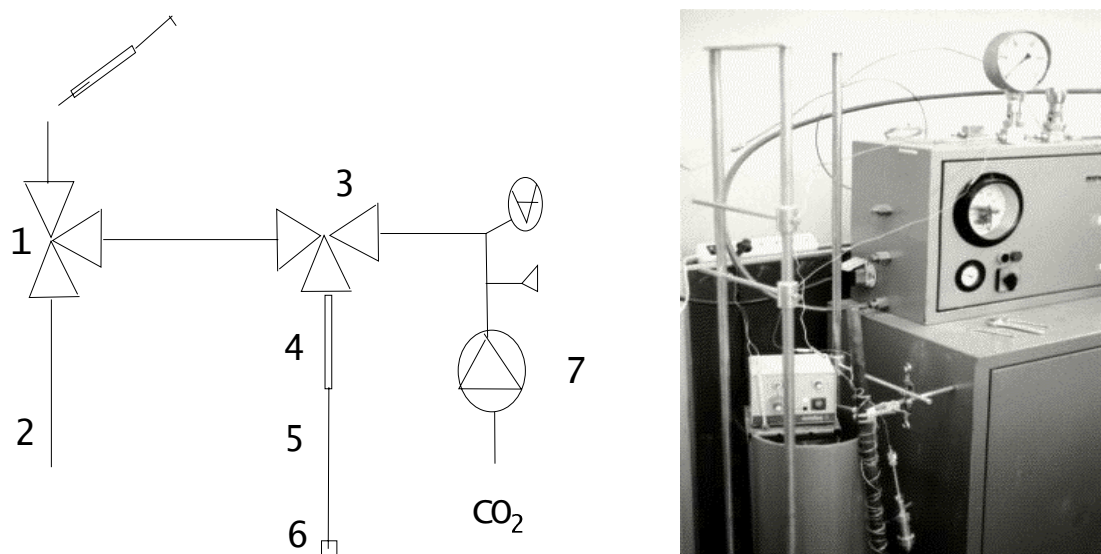


Abbildung 4.2.3-1: Packschema und Packapparatur

- 1 HPLC Schaltventil mit Injektionsport für die Flüssigsuspension
- 2 Restriktionskapillare zum Entspannen
- 3 HPLC Schaltventil
- 4 Milliboresäule (25 cm x 1 mm) als Packreservoir
- 5 zu packende fused silica Kapillare
- 6 Restriktionsadapter
- 7 Kompressor

Ca. 15 μg eines Kieselgels werden mit 0,1 ml n - Hexan suspendiert, mit einer Plastikspritze in ein HPLC-Dreiwege-Schaltventil injiziert und manuell durch eine leere „fused silica“-Kapillare gepreßt, die mit einem Restriktionsfilteradapter verschlossen wird. Sobald der erste Tropfen erscheint. Nun wird mit der Spritze der letzte Rest Suspension aus dem HPLC-Schaltventil herausgedrückt, dieses in die nächste Position gestellt, womit das überkritische Kohlendioxid die Suspension durch die Kapillare transportiert und diese dabei mit Packmaterial füllt. Um Hohlraum- bzw. Dombildungen in der Packung zu vermeiden, wird die Kapillare während des gesamten Packvorganges in einem temperierten Ultraschallbad aufbewahrt. Nach ca. 15 bis 30 Minuten ist der Packvorgang abgeschlossen, und der Druck wird über eine Restriktionskapillare abgebaut. Anschließend wird die trockene Kapillare mit einer druckgetriebenen HPLC - Pumpe verbunden und mit einem Gemisch von Wasser / Acetonitril = 80 / 20 (V/V) benetzt. Einem Liter Fließmittel werden noch 25 mg an Natriumhydroxid zugesetzt um den Sinterprozeß zu fördern. Bei einem Druck von ca. 250 bar wird auf der Hochdruckseite mit einem Lichtbogenschweißgerät (Splicer) ein Sinterprozeß gestartet.

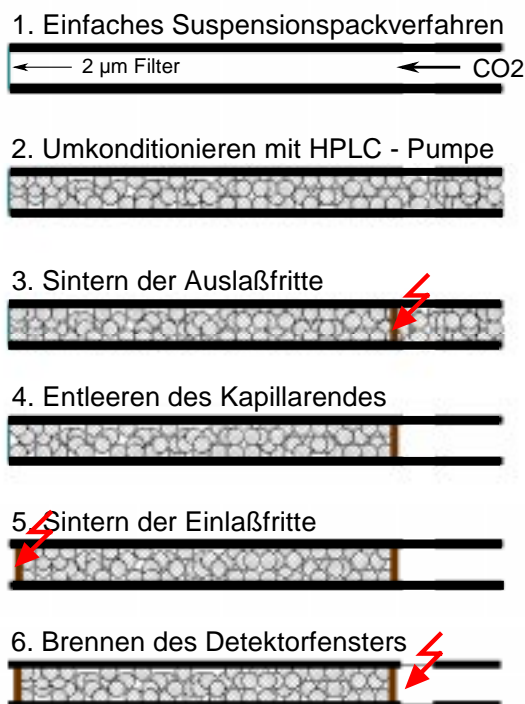


Abbildung 4.2.3-2: Schema zum Packen von Kapillaren

Das Ergebnis dieses Sinterprozesses ist die sogenannte Fritte, ein Bereich, in dem die Packungsmaterialien zusammengeklebt sind. Hiervon verspricht man sich einen definierten Abschluß des Packungsbettes. - Den Druck von 250 bar läßt man anschließend über eine Restriktionskapillare entspannen, dreht die Kapillare um, entfernt den Restriktionsadapter, schließt sie mit dieser Seite an die HPLC-Pumpe, spült den lockeren Part des Packungsbettes heraus und brennt eine neue Fritte. Der Abstand der Fritten und damit auch der gepackte Teil der Kapillare beträgt systembedingt 25 cm bzw. 8 cm. Neben der Auslaßfritte befindet sich ein Detektionsfenster. Das erlaubt die Detektion direkt hinter dem Packungsbett durch die Kapillare. Die Kapillare wird in dem kommerziellen Gerät von Agilent Technologie HP CE^{3D} mit dem Puffer 20 mM Tris-HCl / Acetonitril = 40 / 60 (V/V) konditioniert. Hierzu wird für 10 Minuten ein externer Druck von 10 bar auf der Einlaßseite zusammen mit einer Spannung von 15 kV angelegt. Danach wird der Druck für 10 Minuten auf die Auslaßseite gelegt und das elektrische Feld angelegt. Anschließend wird ein Druck von 10 bar auf beide Puffervorratsgefäße gelegt, um ein Ausgasen innerhalb der Kapillare zu verhindern. Dazu wird eine Spannung von 30 kV für ca. 30 Minuten angelegt. Sobald Spannung, Strom und Basislinie parallel zueinander verlaufen und die Basislinie nicht mehr schwankt, ist die Kapillare einsatzbereit.

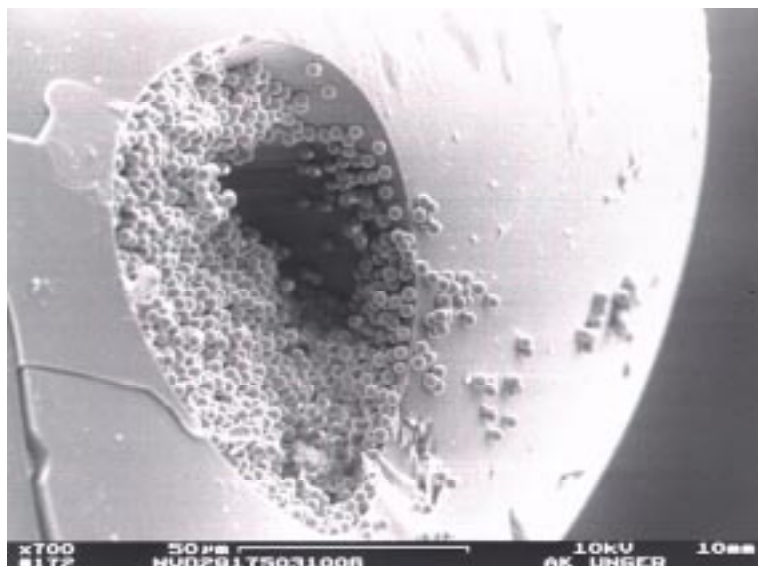


Abbildung 4.2.3-3: REM Aufnahme einer Fritte; MICRA NPS ODS 3,0 µm Charge 2917

Die REM - Aufnahme zeigt den Übergang vom Packungsbett zum ungepackten Teil der Kapillare. Es ist gut zu beobachten, daß die Kieselgelpartikel miteinander und mit der Kapillarwand verklebt sind. Durch das Sintern wird dieser Klebeprozess eingeleitet. Die große Kunst des Kapillarpackens besteht darin, eine homogene Packung zu erzeugen, die mit zwei Fritten in der Kapillare fixiert ist. Die Fritten müssen sowohl gegenüber hydrodynamischem Druck, als auch gegenüber elektrostatischen Anziehungen stabil sein. Neben der Stabilität müssen die Fritten für das Puffergemisch und die Analyten durchlässig sein.

5. Charakterisierung gepackter Kapillaren mittels Elektrochromatographie

Ziel dieses Kapitels ist es Kapillaren mit den in Tabelle 3.3.4-1 aufgeführten Materialien zu packen. Zur Charakterisierung der gepackten Kapillaren wird Thioharnstoff, ein unretardierter Analyt, injiziert. Die Kapillaren mit unterschiedlichen Packungsmaterialien sollen in bezug auf EOF – Geschwindigkeit und Bodenhöhe miteinander verglichen werden. Es werden mehrere Kapillaren mit dem gleichen Material gepackt und die einzelnen Messungen werden mehrfach wiederholt.

5.1 Mit porösen RP - Kieselgelen gepackte Kapillaren

Die klassischen Materialien für die Kapillar – Elektrochromatographie sind poröse Kieselgele mit einem mittleren Teilchendurchmesser von 3 µm. Normalerweise besitzen sie eine C8 - bzw C18 - Modifizierung. Das Packen von dem Hypersilmaterial dient als interner Test für die Packmethode und den Umgang mit Kapillaren. Unterschiedliche Puffersysteme und Lösemittelzusammensetzungen sollen miteinander verglichen werden.

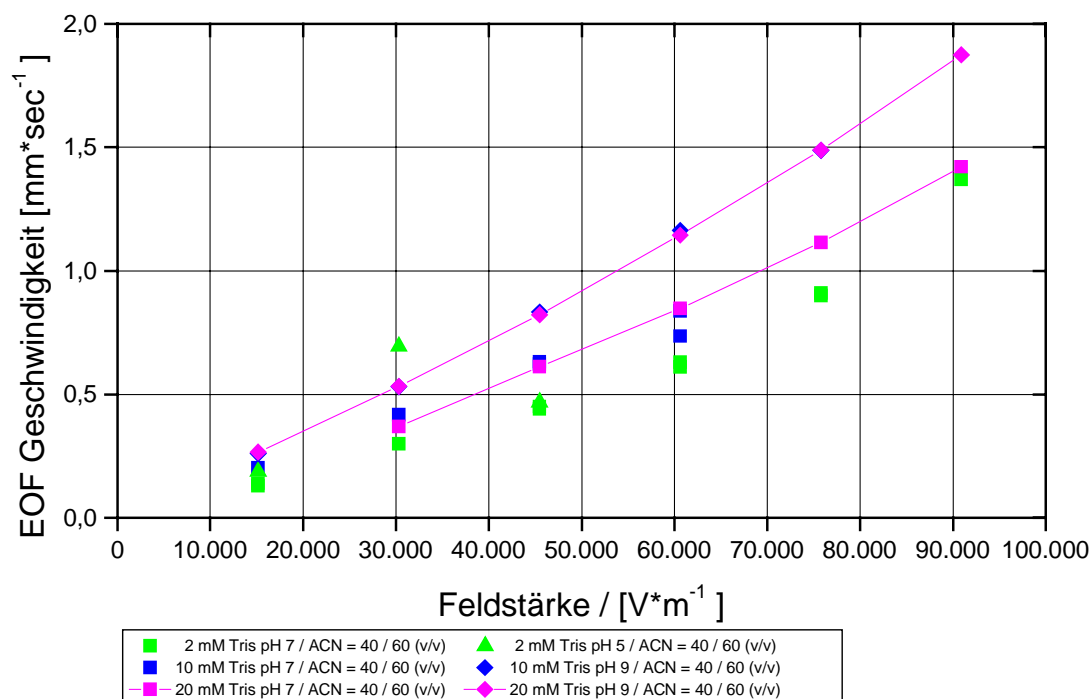
5.1.1 Hypersil ODS 3 μ m: Tris-HCl – PufferHypersil ODS 3 μ m: Puffer / ACN = 40 / 60

Abbildung 5.1.1-1: Abhängigkeit der EOF - Geschwindigkeit von der Feldstärke
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., 25 cm gepackt; Analyt Thioharnstoff

Beim Auftragen der EOF-Geschwindigkeit gegen die Feldstärke läßt sich der lineare Zusammenhang verdeutlichen. Vergleicht man die Werte bei pH 7 mit den anderen pH - Werten bei gleicher Pufferkonzentration, so läßt sich zeigen, daß mit steigendem pH - Wert auch die Steigung der Kurve zunimmt. Das bedeutet, daß die EOF - Geschwindigkeit mit steigendem pH - Wert zunimmt. Die Steigung der Geraden nimmt mit steigender Konzentration des Puffers ab. Der experimentelle Befund spiegelt die Vorhersage nach Schmoluchowski wider.

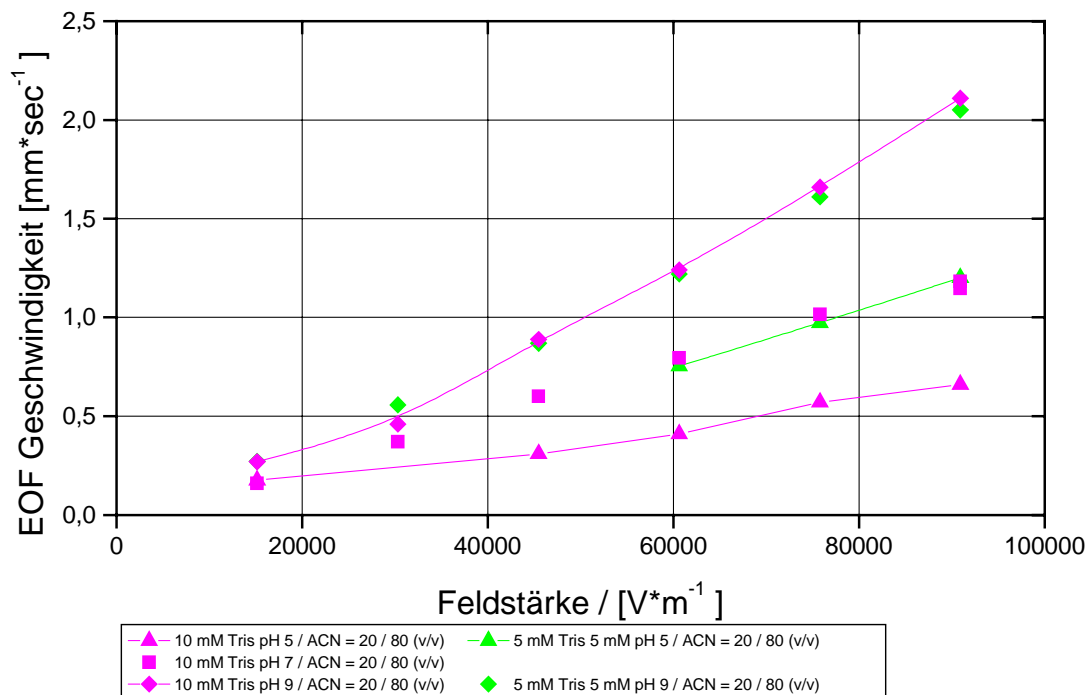
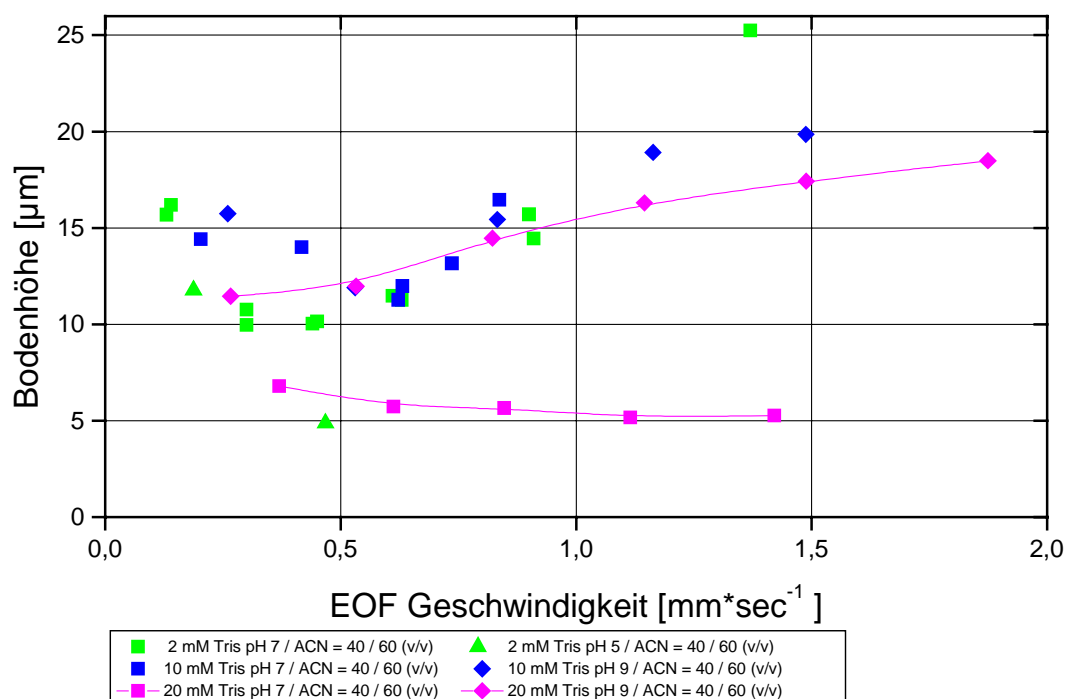
Hypersil ODS 3 μm : Puffer / ACN = 20 / 80

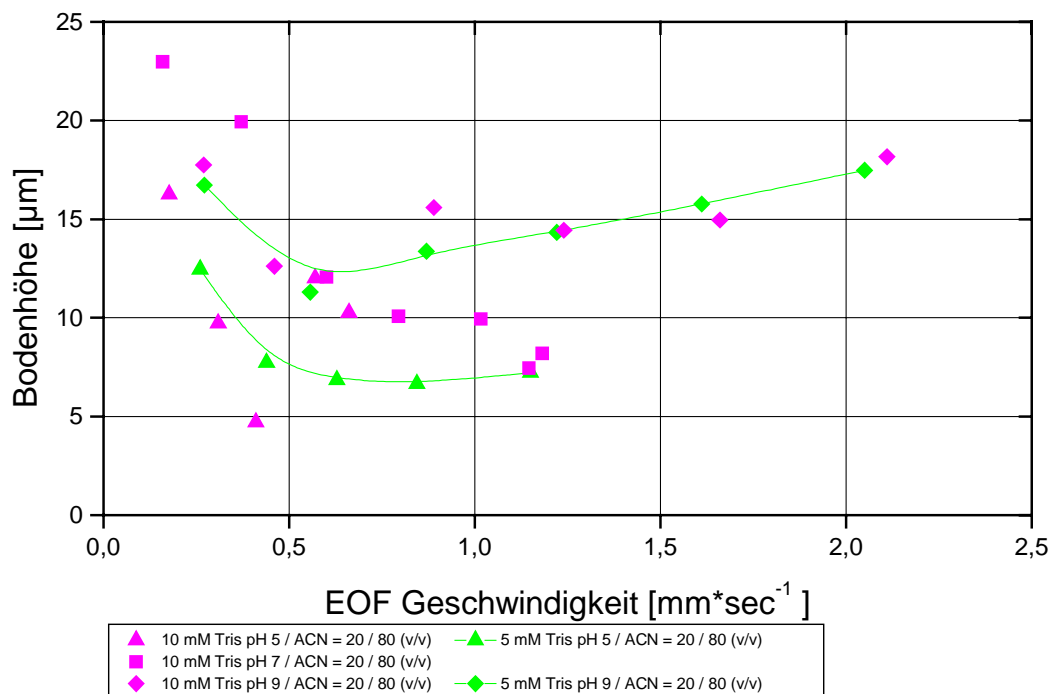
Abbildung 5.1.1-2: Abhängigkeit der EOF - Geschwindigkeit von der Feldstärke
 Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt; Analyt Thioharnstoff

Mit zunehmendem pH - Wert liegen immer mehr Silanolgruppen in der deprotonierten Form vor. Durch die höhere Ladungsdichte an den Oberflächen nimmt die elektrische Doppelschicht zu, und damit wird die Wanderungsgeschwindigkeit des elektroosmotischen Flusses gefördert. Das lässt sich direkt aus dem Diagramm ablesen, bei dem die Steigung der Geraden mit wachsendem pH-Wert zunimmt. Der Vergleich der Werte bei pH 5 zeigt, daß die EOF - Wanderungsgeschwindigkeit mit steigender Pufferkonzentration abnimmt, auch das spiegelt sich in der Gradensteigung wider.

Hypersil ODS 3 μm : Tris-Puffer / ACN = 40 / 60Abbildung 5.1.1-3: H vs u Kurve von Hypersil ODS 3 μm

Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt; Analyt Thioharnstoff

Im neutralen bis alkalischen Bereich durchläuft die Kurve ein Minimum in der Größenordnung des vier bis fünffachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 4 - 5$ dp). Mit steigender EOF - Geschwindigkeit nimmt die Bodenhöhe wieder zu. Durch die freie Ladung treten COULOMB'sche Wechselwirkungen verstärkt auf, die zu Bandenverbreiterungen führen. Bei pH 5, im leicht sauren Bereich, nähert sich die Kurve mit wachsender Wanderungsgeschwindigkeit dem Eineinhalbfachen des mittleren Teilchendurchmessers des Packmaterials an ($H \approx 1,5$ dp).

Hypersil ODS 3 μm : Tris - Puffer / ACN = 20 / 80Abbildung 5.1.1-4: H vs u Kurve von Hypersil ODS 3 μm

Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
 Analyt: Thioharnstoff

Bei einem höheren Anteil des organischen Lösemittels nimmt die EOF-Wanderungsgeschwindigkeit zu, weil die hydrophoben Wechselwirkungen des Analyten mit den C18 - Ketten herabgesetzt werden. Analog zu dem vorangegangenen Diagramm nimmt die Bodenhöhe mit steigendem pH - Wert zu. Bei pH 5, im leicht sauren Bereich ist $H \approx 2 - 3$ dp, im neutralen beträgt $H \approx 3 - 4$ dp und im leicht alkalischen Bereich, pH 9, durchläuft es ein Minimum bei $H \approx 5 - 6$ dp und steigt bei höheren Wanderungsgeschwindigkeiten wieder an.

5.1.2 Hypersil ODS 3 μ m: Phosphat – Puffer

Hypersil ODS 3 μ m: Phosphat - Puffer / ACN

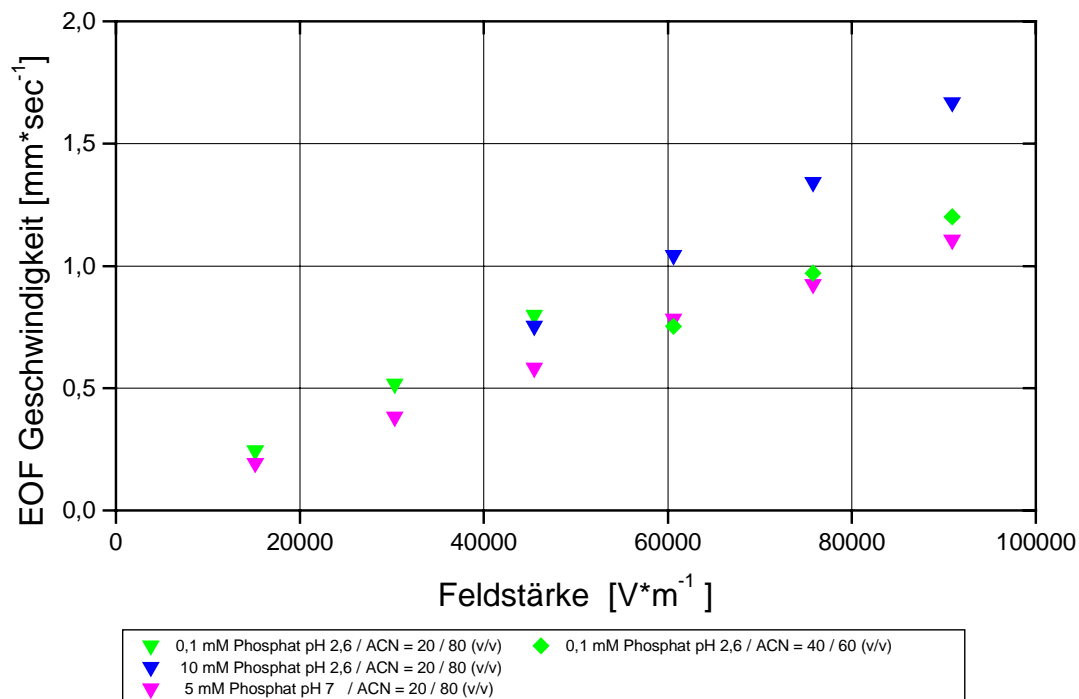


Abbildung 5.1.2-1: Abhängigkeit der EOF - Geschwindigkeit von der Feldstärke
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Die Steigung der Auftragung der Wanderungsgeschwindigkeit gegen die elektrische Feldstärke zeigt die Konzentrationsabhängigkeit, auch wenn ein anderer Puffer verwendet wird. Die pH- Abhängigkeit verhält sich vergleichbar wie bei dem Tris – HCl – Puffer.

Hypersil ODS 3 μm : Phosphat-Puffer / ACN

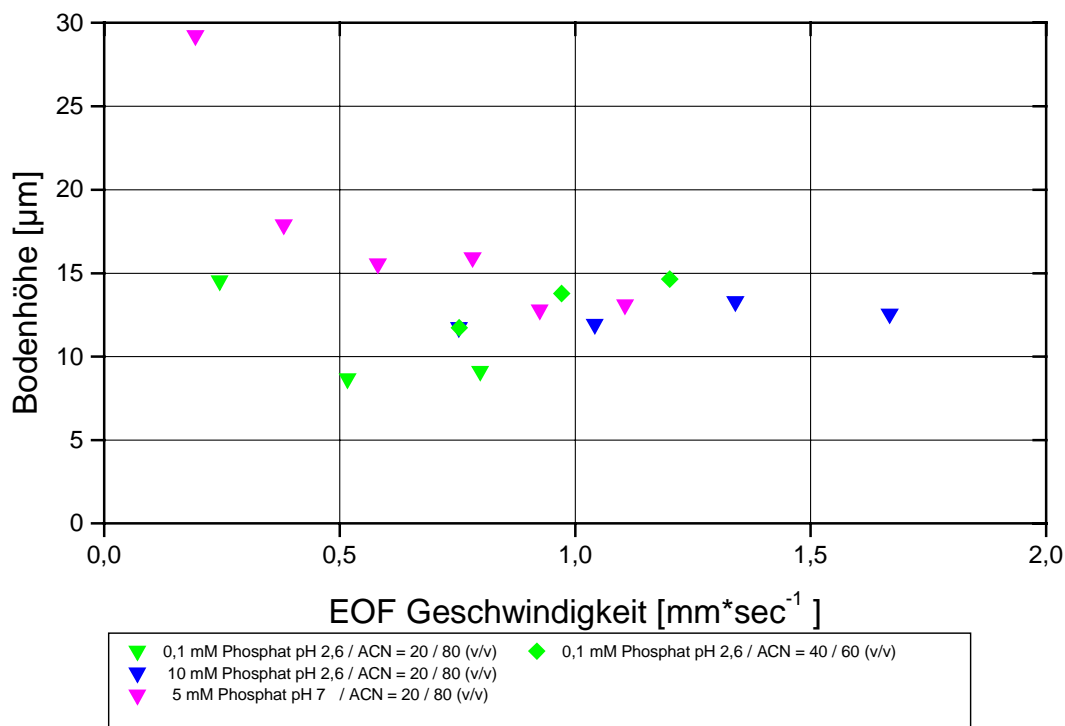


Abbildung 5.1.2-2: H vs u Kurve von Hypersil ODS 3 μm

Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Die H vs u Kurve durchläuft ein Minimum bei dem Dreifachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 3 \text{ dp}$). Das Minimum wird bei $\text{pH} = 2,6$ und einer Phosphatkonzentration von 0,1 mM erreicht. Die Kurven haben ihren Schwerpunkt bei einer Bodenhöhe von dem Fünffachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 5 \text{ dp}$).

5.1.3 XTec S3 C18

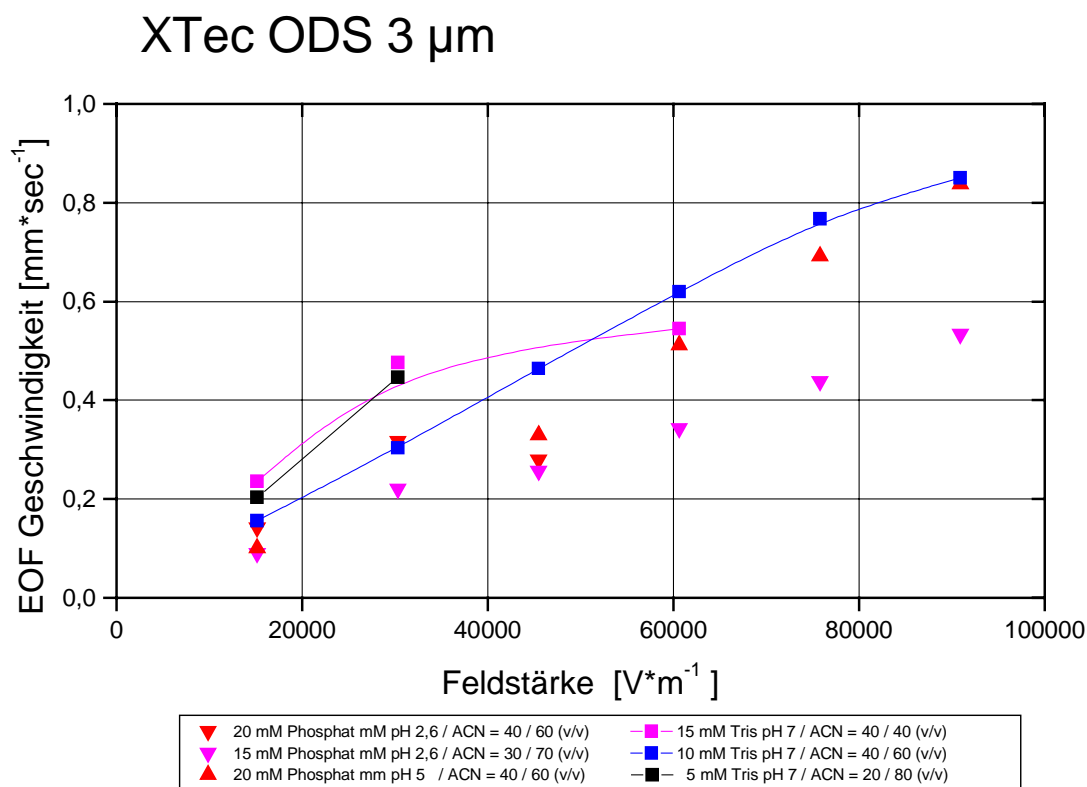


Abbildung 5.1.3-1: Abhängigkeit der EOF - Geschwindigkeit von der Feldstärke
 Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
 Analyt: Thioharnstoff

An diesem Diagramm spiegelt sich der Einfluß des organischen Lösemittelgehalts auf eine unretardierte Substanz wider. Die Steigung nimmt mit wachsendem Anteil organischen Lösemittels zu. Bei einem organischen Lösemittelanteil von 40% Acetonitril und einer Pufferkonzentration von 15 mM Tris-HCl verläßt die Kurve den linearen Bereich. Das kann damit zusammenhängen, daß bei hohen Feldstärken zu große Ströme fließen und dadurch die Spannung nicht komplett aufgebaut wird.

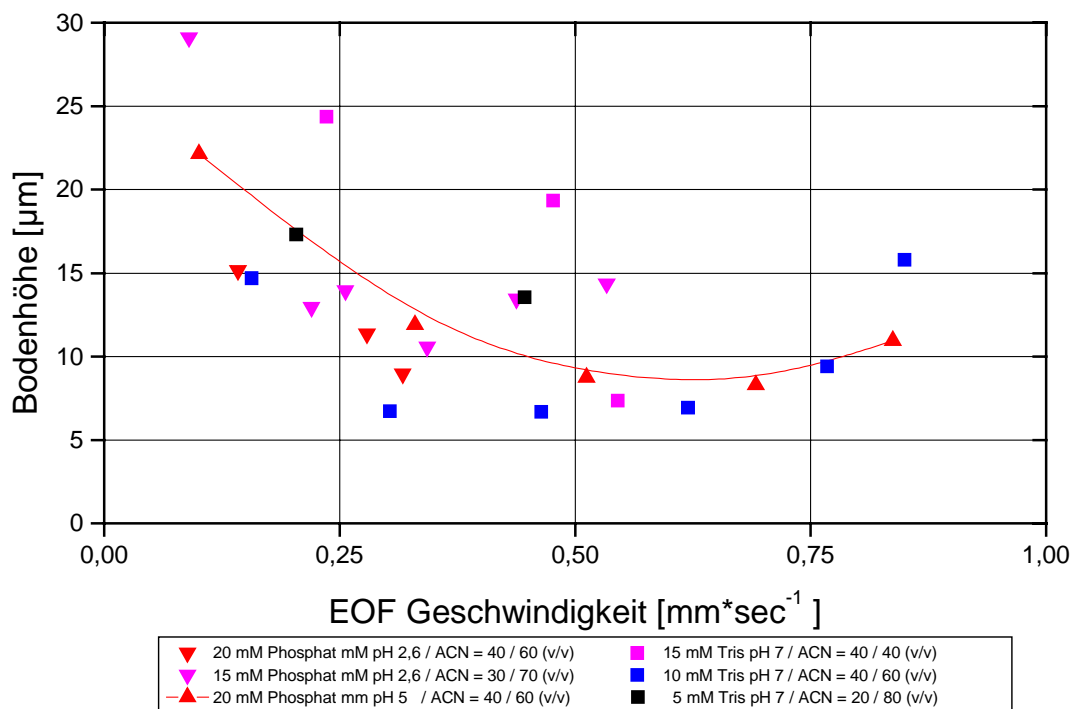
XTec ODS 3 μm


Abbildung 5.1.3-2: H vs u Kurve von Xtec S3 C18

Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
 Analyt: Thioharnstoff

Bei diesem Material durchläuft die H vs u Kurve ein Minimum bei dem Zwei- bis Dreifachen ($H \approx 2 - 3$ dp), danach steigt die Kurve auf das Vier- bis Fünffache des mittleren Teilchendurchmessers an ($H \approx 4 - 5$ dp). Dieses Material zeigt ungünstige Eigenschaften für die Kapillar - Elektrochromatographie, weil das Minimum bei geringen Wanderungs-Geschwindigkeiten auftritt und keine großen Endgeschwindigkeiten erreicht werden.

5.2 Mit unporöse RP – Kieselgele gepackte Kapillaren

Es liegen unporöse Kieselgele vor, die sich in der Größe des mittleren Teilchendurchmessers und in der Oberflächenfunktionalisierung unterscheiden. Der Übersichtlichkeit wegen sind diese Daten in einer Tabelle dargestellt. Die Materialien sind nach Herstellerangaben in absteigender Reihenfolge der Dichte der Oberflächensilanolgruppen sortiert:

Material	dp / μm	Silanisierung	Charakterisierung
2939	3,0	C18	Ligandendichte identisch mit 2930
0257b	3,0	C18	3.0 μm Material vergleichbar mit 0195/95c
2917	3,0	C18 - nachsilanisiert	Ligandendichte und Nachsilanisierung vergleichbar mit 2933
2734	1,5	C18	Ligandendichte kleiner als 2930
2930	1,5	C18	Ligandendichte identisch mit 0195/95c
0195/95c	1,5	C18	Standard MICRA Material
2933	1,5	C18 - nachsilanisiert	Ligandendichte identisch mit 2930

Tabelle 5.1.3-1: Charakterisierung der unporösen Kieselgele nach Herstellerangaben

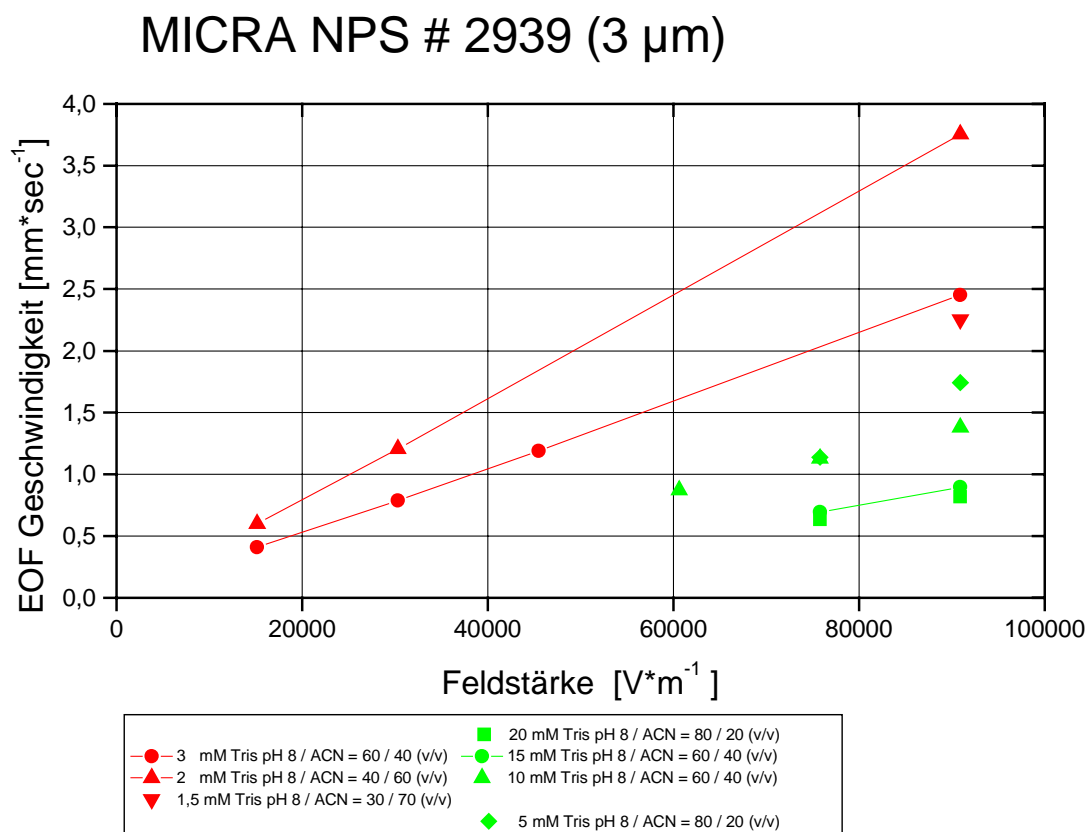
5.2.1 Micra NPS ODS # 2939 (3,0 μm)

Abbildung 5.2.1-1: Abhängigkeit der EOF - Geschwindigkeit von der Feldstärke
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Bei der Auftragung von EOF-Geschwindigkeit gegen die Feldstärke ist der lineare Zusammenhang offensichtlich. Die unporösen Teilchen haben eine große EOF - Geschwindigkeit bei hohen Feldstärken. Mit höherem Anteil an organischem Lösemittel steigt die Geschwindigkeit des elektroosmotischen Flusses an.

Die Steigung der Geraden nimmt mit steigender Konzentration des Puffers ab, wie man bei einem Puffergemisch von Acetonitril / Tris - HCl - Puffer 40 / 60 (v/v) sehen kann. Die Beobachtung unterstützt die Vorhersage von Schmoluchowski.

MICRA NPS # 2939 (3 μm)

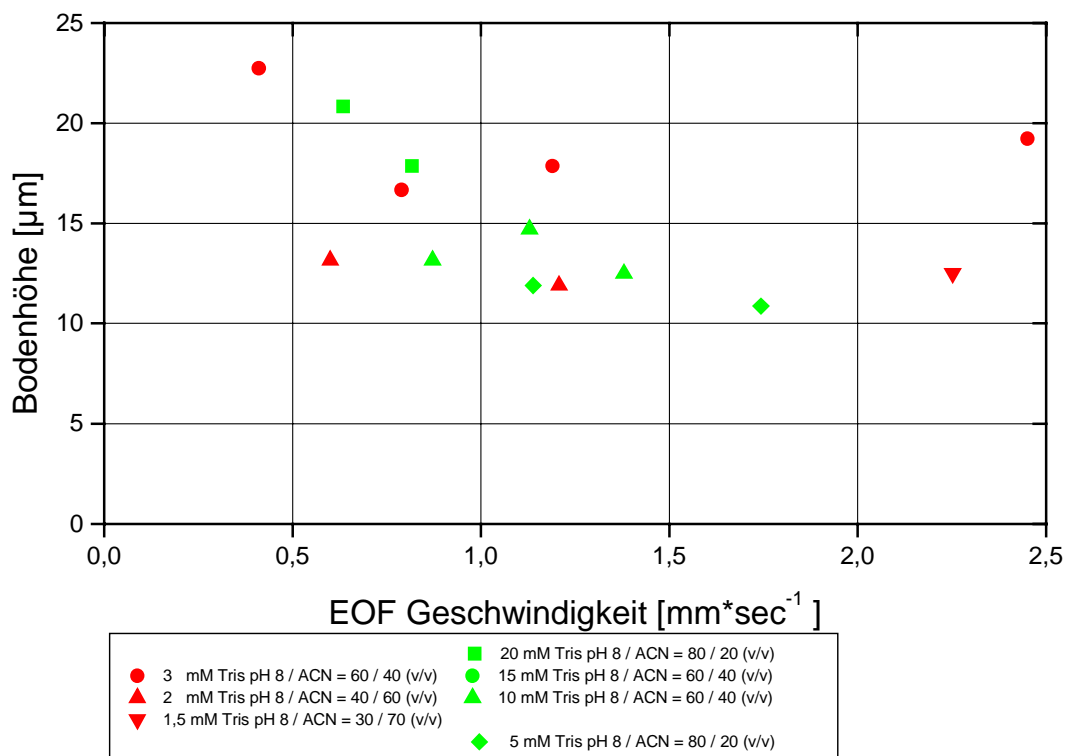


Abbildung 5.2.1-2: H vs u Kurve von Micra NPS ODS # 2939

Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
 Analyt: Thioharnstoff

Bei diesem Material beträgt die Bodenhöhe das Drei- bis Vierfache des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 3 - 4 \text{ dp}$). Das lässt sich damit erklären, daß der Kohlenstoffgehalt sehr gering ist. Die hohe Geschwindigkeit des elektroosmotischen Flusses lässt sich auf die hohe Dichte der freien Silanolgruppen an der Oberfläche des Kieselgels zurückführen.

5.2.2 Micra NPS ODS # 0257b (3,0 μm)

MICRA NPS # 0257b 3 μm

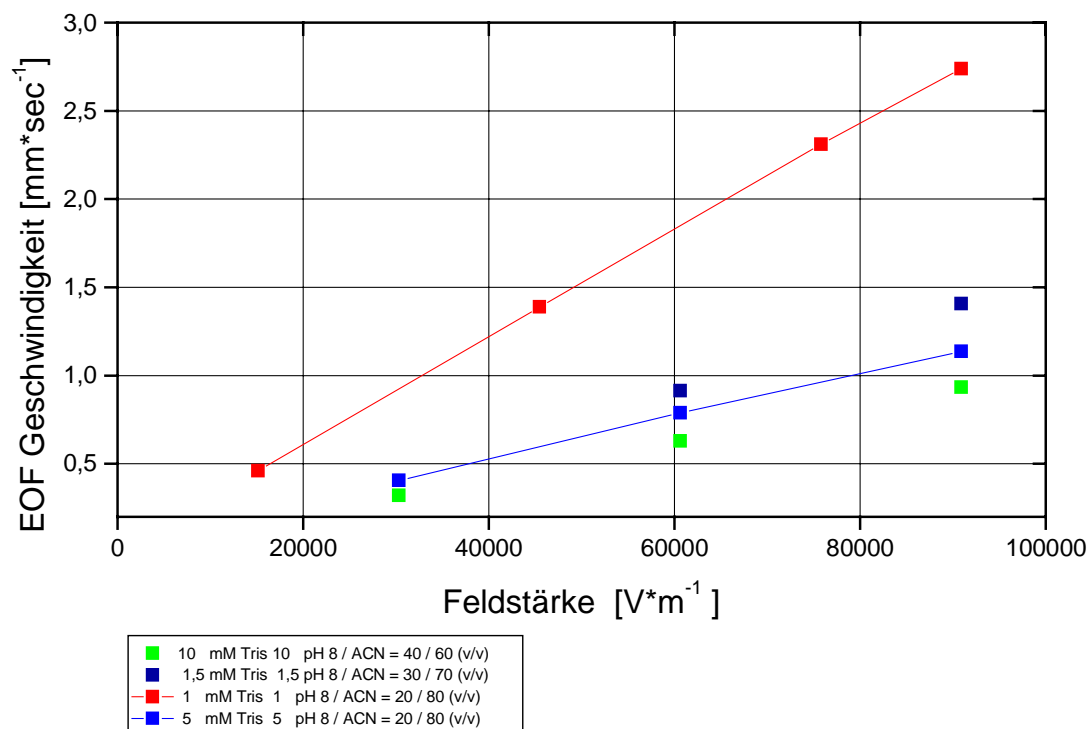


Abbildung 5.2.2-1: Abhängigkeit der EOF - Geschwindigkeit von der Feldstärke
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Die Auftragung der EOF - Geschwindigkeit gegen die Feldstärke spiegelt die Erwartungen wider. Mit zunehmendem Anteil an organisches Lösemittel steigt die Geschwindigkeit an.

Der Zusammenhang zwischen Feldstärke und Wanderungsgeschwindigkeit ist linear, wie es sein soll. Wie sich bei einem Lösemittelanteil von 80% Acetonitril ablesen lässt, ist die Steigung bei niedrigen Pufferkonzentrationen größer als bei höheren Konzentrationen.

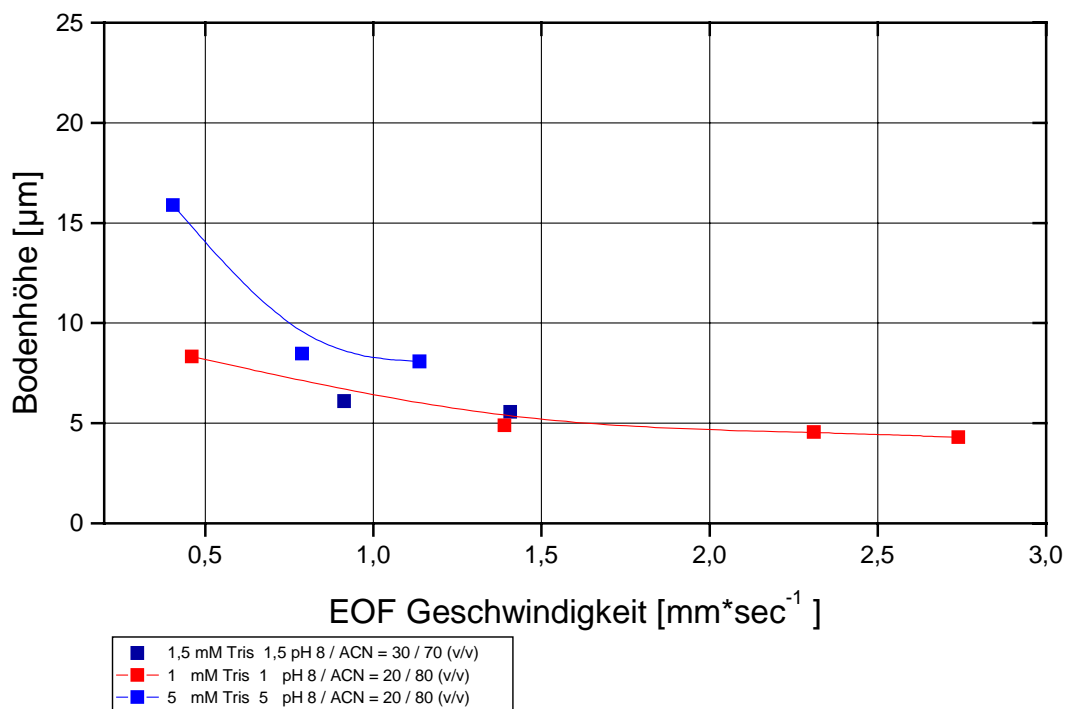
MICRA NPS # 0257b 3 μm 

Abbildung 5.2.2-2: H vs u Kurve von MICRA NPS ODS # 0257b

Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Betrachtet man diese H vs u Kurve, so fällt auf, daß sie sich bei hohen Flußgeschwindigkeiten des elektroosmotischen Flusses an das Eineinhalbfache bis Zweifache des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 1,5 - 2 \text{ dp}$) anschmiegt. Bei der Auftragung gegen die Feldstärke, sieht man die lineare Abhängigkeit zur Wanderungsgeschwindigkeit. Diese ist bei niedrigen Konzentrationen und einem hohen Anteil an Acetonitril mit $u = 2,8 \text{ mm/sec}$ sehr groß.

5.2.3 MICRA NPS ODS # 2734 (1,5 μm)

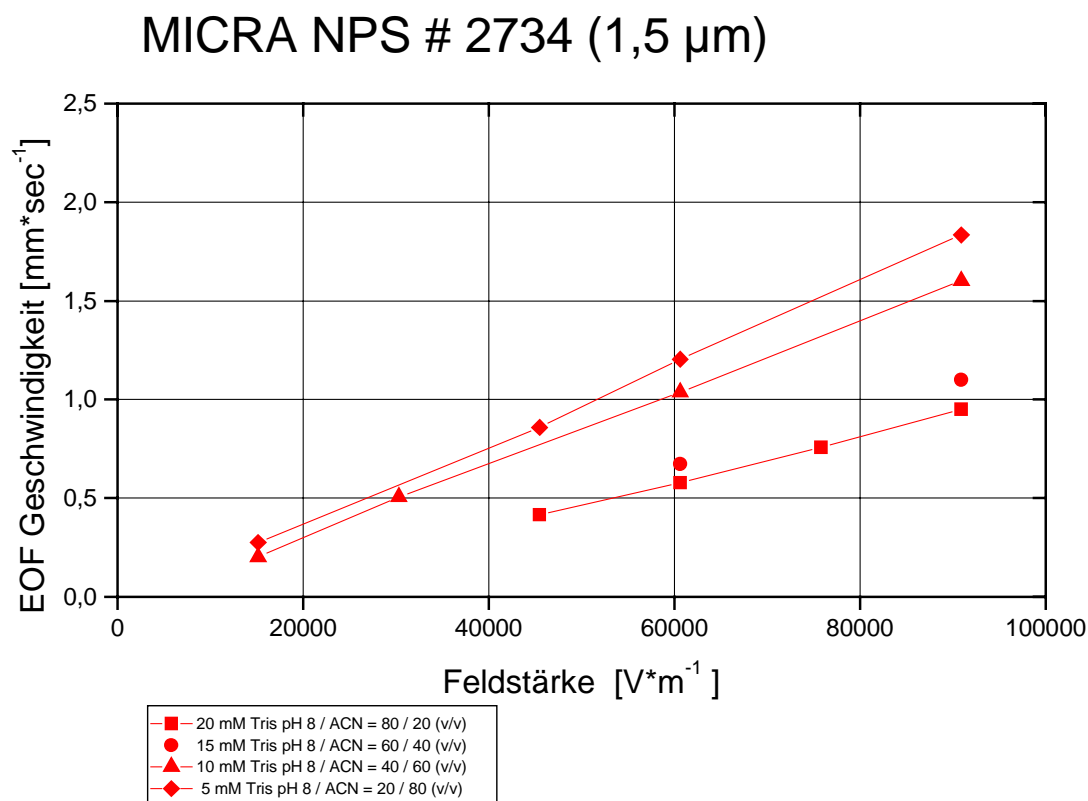


Abbildung 5.2.3-1: Abhängigkeit der EOF - Geschwindigkeit von der Feldstärke
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Betrachtet man die Auftragung der EOF Geschwindigkeit gegen die elektrische Feldstärke, so ist offensichtlich, daß der Zusammenhang auch für 1,5 μm Packungsmaterialien linear ist. Die Wanderungsgeschwindigkeit nimmt mit steigendem Anteil an organischem Lösemittel zu. Damit verhalten sich die 1,5 μm Packungsmaterialien ebenfalls nach der Vorhersage von Schmoluchowski.

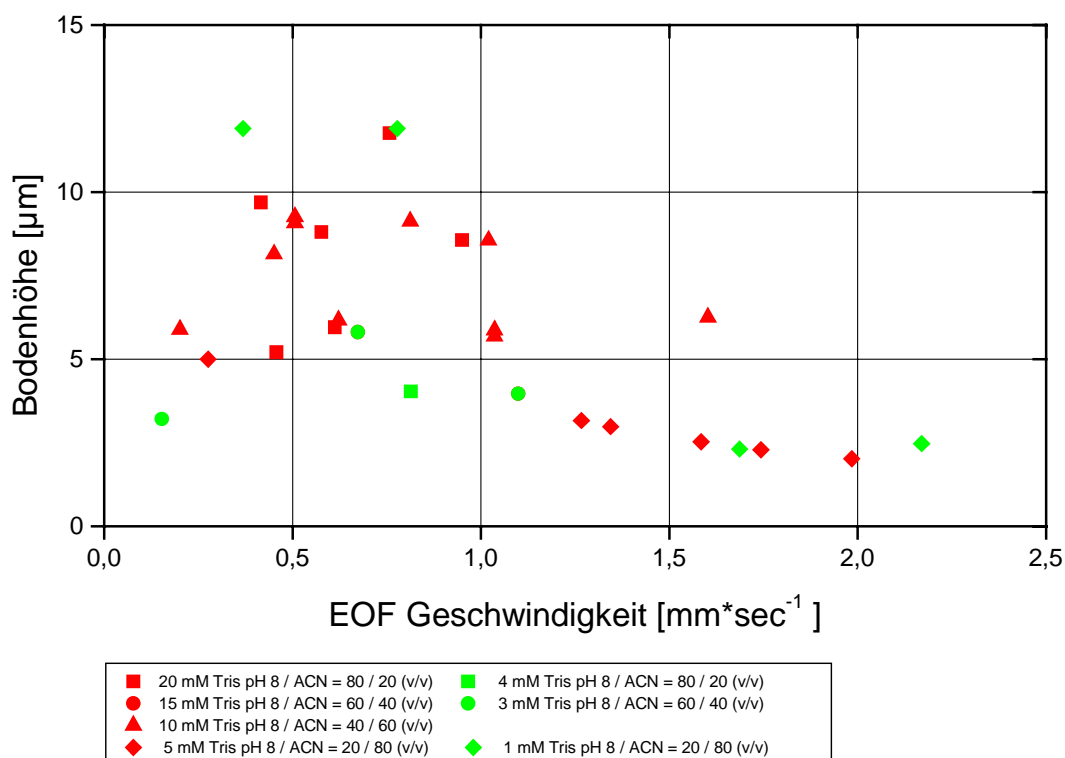
MICRA NPS # 2734 (1,5 μm)

Abbildung 5.2.3-2: H vs u Kurve von Micra NPS ODS # 2734

**Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff**

Bei der H vs u Kurve fällt auf, daß sich bei hohen EOF Geschwindigkeiten die Bodenhöhe an das Eineinhalbfache des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 1,5 \text{ dp}$) anschmiegt. Das ist besonders auffällig, weil bei den größeren Packungsmaterialien das Doppelte bis Vierfache erreicht wird.

Bei niedrigen Flußgeschwindigkeiten streuen die Werte sehr stark. Bei der Auftragung gegen die Feldstärke sieht man, daß der lineare Zusammenhang zur EOF Geschwindigkeit auch für unporöse Teilchen mit einem Durchmesser von 1,5 μm gilt.

5.2.4 H vs u Kurven von unporösen Kieselgelen mit Aceton und Pyren nach Kraak und Poppe

Kraak und Poppe^[33] haben 1997 die beiden folgenden H vs u Kurven veröffentlicht. Die Kapillaren sind mit unporösen 1,5 µm Partikeln der Firma Chromosphere gepackt und sind mit C18-Alkylketten silanisiert.

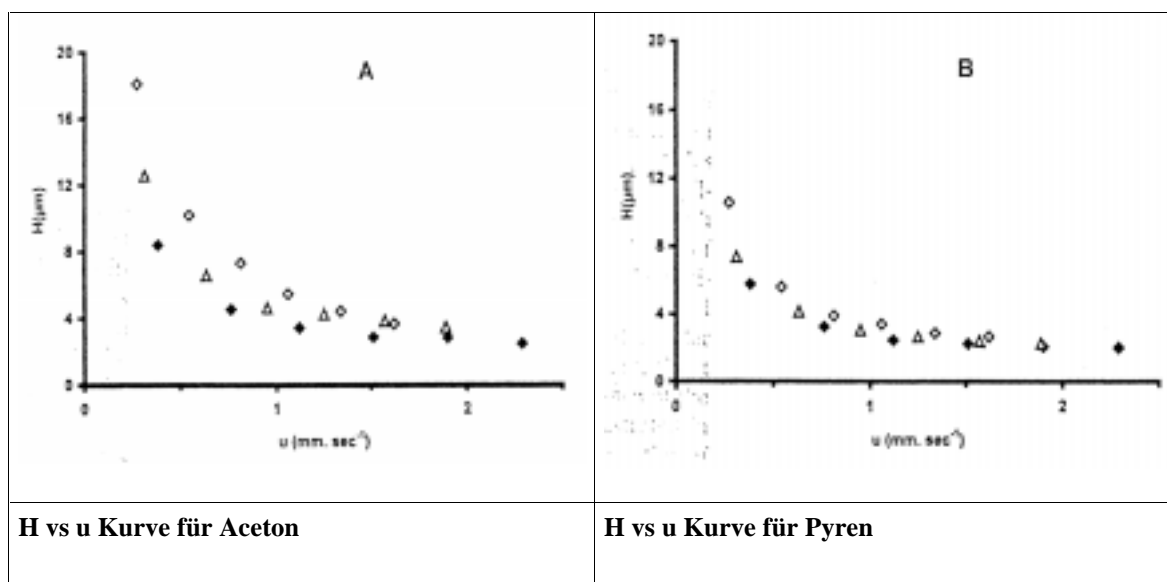


Abbildung 5.2.4-1: H vs u Kurven unporöser Silikapartikel^[33]

Wasser / ACN 60 % (■), 70 % (△) and 80 % (◇) (V/V) + 5 mM SDS + 1.6 mM Natriumtetraborat; 20 kV ; Inj. 10 kV 1 sec; 100 µm i.d x 32 cm, 1,5 µm ODS-Chromosphere

Offensichtlich ist, daß die Bodenhöhe mit steigender EOF - Geschwindigkeit sinkt und sich etwa dem doppelten Teilchendurchmesser ($H \approx 2 dp$) annähert. Mit Aceton als Analyten sind die Kurven bei den niedrigeren EOF - Wanderungsgeschwindigkeiten etwas weiter auseinandergezogen und mit Pyren als Analyten fallen die Kurven zusammen. Ansonsten entsprechen diese Kurven den Beobachtungen, die bei den 1,5 µm NPS ODS Materialien von MICRA gemessen wurden.

5.2.5 Zusammenfassung der H vs u Kurven poröser und unporöser Kieselgele

Alle Messungen wurden mit Thioharnstoff durchgeführt. Als nichtretardierte Substanz bietet sich dieser Analyt zur Bestimmung der EOF-Geschwindigkeit und der Bodenhöhe an. Diese beiden Parameter eignen sich zur Charakterisierung gepackter Kapillaren mittels CEC. Es wurden mehrere Kapillaren mit den gleichen Packungsmaterialien gepackt und die Messungen der einzelnen Kapillaren wurden mindestens dreimal wiederholt. Die Einflüsse von der Packungsdichte und der Einfluß der Fritten auf die Effizienz der Kapillare wurde in diesem Kapitel nicht diskutiert, weil alle Kapillaren nach dem gleichen Prinzip hergestellt wurden.

Phosphat und Tris / HCl - Puffer zeigen die gleiche Tendenz mit Hypersil ODS 3 μm . Bei niedrigen pH-Werten mit niedrigen Pufferkonzentrationen werden die niedrigsten Bodenhöhen und höchsten Geschwindigkeiten des elektroosmotischen Flusses gemessen. Das Minimum der Bodenhöhe nimmt mit steigendem pH-Wert zu. Für den Tris-HCl Puffer ergibt sich für den leicht sauren Bereich eine Bodenhöhe am Minimum von dem Zwei- bis Dreifachen ($H \approx 2 - 3 \text{ dp}$), im neutralen vom Drei- bis Vierfachen ($H \approx 3 - 4 \text{ dp}$) und im leicht alkalischen Bereich von dem Fünf- bis Sechsfachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 5 - 6 \text{ dp}$). Mit dem Phosphatpuffer ergeben sich für den stark sauren Bereich, $\text{pH} = 2,6$, Bodenhöhen am Minimum der H vs u Kurve von dem Dreifachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 3 \text{ dp}$) und im neutralen von dem Fünffachen Teilchendurchmesser ($H \approx 5 \text{ dp}$). Bei höheren Fließgeschwindigkeiten steigen die Kurven wieder an!

Das Xtec-Material besitzt ein zu geringes Zeta - Potential, um einen adäquaten EOF zu generieren, damit ist es leider für die Kapillar - Elektrochromatographie nicht besonders geeignet. Erst durch die gemischtfunktionellen Gruppen läßt sich ein sehr großer EOF generieren, der jedoch nicht reproduzierbar ist^[34].

Die unporösen Packungsmaterialien haben von Natur aus eine sehr viel geringere Oberfläche als poröse Teilchen und können deswegen sehr leicht überladen werden. Bei MICRA NPS ODS 2939 (3,0 μm) ist die Dichte der C18 Alkylketten gering. Das rechtfertigt Bodenhöhen von dem Drei- bis Vierfachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 3 - 4 \text{ dp}$), wenn die EOF - Wanderungsgeschwindigkeit sehr groß ist. Das ist bei diesem Material gegeben und korreliert mit der hohen Silanolgruppendichte, die ein entsprechendes Zeta - Potential erzeugen kann.

Bei MICRA NPS ODS 0257b (3,0 μm) erreicht die Kurve ein Minimum bei dem Zweifachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 2 \text{ dp}$). Auch die Wanderungsgeschwindigkeit des elektroosmotischen Flusses ist mit 2,8 mm / sec überdurchschnittlich groß.

Bei den unporösen 1,5 μm Packungsmaterialien, MICRA NPS ODS 2734 (1,5 μm), treten H vs u Kurven auf, deren Minimum bei dem Eineinhalbfachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 1,5 \text{ dp}$) liegt. Es zeigt sich wieder, daß das Minimum der Kurven bei hohen Wanderungsgeschwindigkeiten und hohem Anteil an organischem Lösemittel auftritt. Diese Ergebnisse decken sich mit den Veröffentlichungen von Kraak und Poppe.

Bei der Auftragung der Wanderungsgeschwindigkeit gegen die elektrische Feldstärke läßt sich zeigen, daß sowohl die Konzentrationsabhängigkeit des Puffers als auch der Einfluß durch den Anteil des organischen Lösemittels für poröse und unporöse Teilchen gilt. Es ist zu berücksichtigen, daß die hohen Wanderungsgeschwindigkeiten nur bei sehr kleinen Pufferkonzentrationen auftreten, weil das Potential mit steigender Pufferkonzentration abfällt. Bei den unporösen Packungsmaterialien findet man eine höhere Wanderungsgeschwindigkeit des EOF, weil durch die geringere Porosität dünnere „aktive Kapillaren“ gebildet werden, und deswegen das Oberflächenpotential nicht so weit in der diffusen Schicht abfällt.

Mit zunehmenden pH - Wert liegen immer mehr Silanolgruppen in der deprotonierten Form vor. Durch die höhere Ladungsdichte an den Oberflächen nimmt die elektrische Doppelschicht zu und damit wird die Wanderungsgeschwindigkeit des elektroosmotischen Flusses gefördert. Das läßt sich deutlich aus den Diagrammen ablesen, bei denen die Steigung der Geraden mit wachsendem pH-Wert zunimmt.

Damit entsprechen die porösen und die unporösen Teilchen gleichermaßen den Vorhersagen von Knox^[35,36,37,38] und Schmoluchowski.

5.3 *Einfluß von Ionenpaarreagentien auf elektroosmotischen Fluß und theoretische Bodenhöhe*

Durch den Zusatz von Ionenpaarreagentien zu den normalen Fließmitteln der Kapillar – Elektrochromatographie sollen die Eigenschaften der stationären und der mobilen Phase beeinflußt werden. Mit diesen Additiven werden zusätzliche Ionen in die Lösung gegeben, die die Leitfähigkeit erhöhen und zusätzliche Ladung in die Nähe der Teilchenoberfläche bringen und damit das Zetapotential beeinflussen können. Die Ionenpaarbildung mit den Analyten kommt in diesem Kapitel noch nicht zur Geltung, weil alle Messungen mit Thioharnstoff durchgeführt werden.

Es wurden fluorierte Karbonsäuren verwendet, die stärker sauer sind als die reinen Karbonsäuren und deswegen in der deprotonierten Form vorliegen.

Micellenbildner wurden eingesetzt (SDS), die in niedrigen Konzentrationen mit den C18-Alkylketten der Standardpackmaterialien Wechselwirken können und mit diesen dynamische Mixmode Phase bilden.

Schließlich wurde ein basisches Additiv, Triethylamin, verwendet, das an die freien Silanolgruppen adsorbiert wird und die Ladung umpolt und damit den EOF verlangsamen kann.

Von allen diesen Additiven kann man erwarten, daß sie den elektroosmotischen Fluß direkt oder indirekt beeinflussen. Eventuell haben sie auch Auswirkungen auf die Retention und damit auf die Trennung.

Beschreibung	Bezeichnung
Hexafluorbuttersäure	HFBA
Pentafluorpropansäure	PFFPA
Trifluoressigsäure	TFA
Natriumdodecylsulfat	SDS
Triethylamin	TEA

Tabelle 5.2.5-1: Aufstellung der verwendeten Additive

5.3.1 Fluorierte Karbonsäuren als Additive

Hypersil ODS 3 μ m: Fluoroadditive

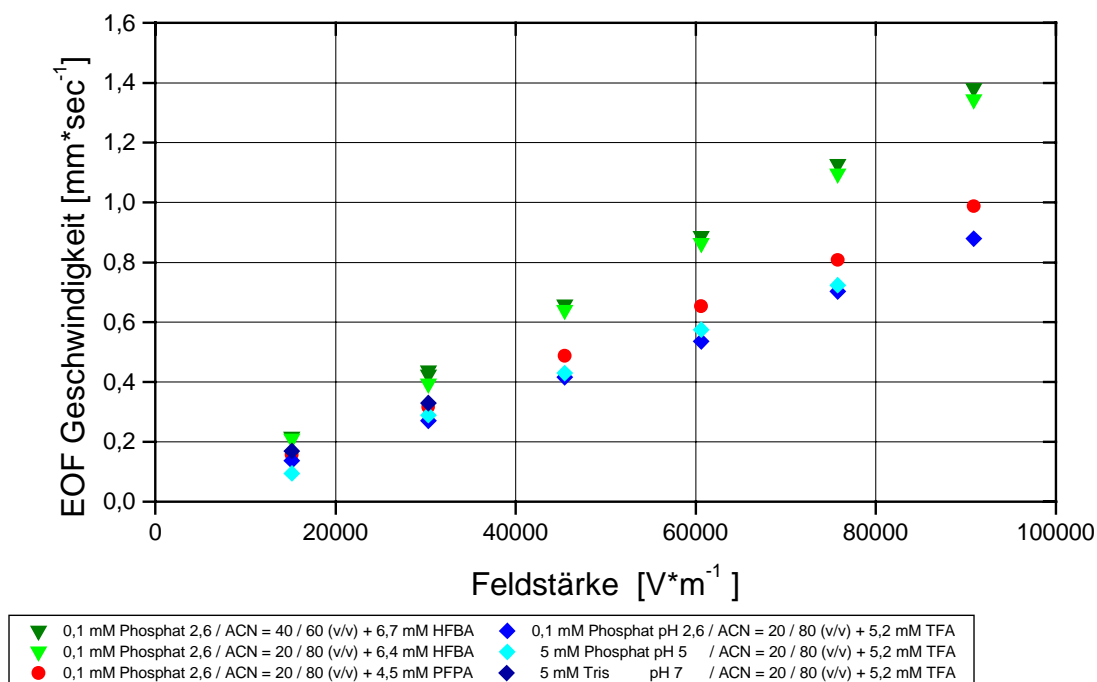


Abbildung 5.3.1-1: Abhängigkeit der EOF - Geschwindigkeit von der Feldstärke mit Fluorokarbonsäuren als Additive
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Die EOF - Wanderungsgeschwindigkeit in Gegenwart von fluorierten Karbonsäuren liegt mit 1,4 mm/sec in der gleichen Größenordnung wie die der Phosphatpuffer ohne Additive. Wenn man Heptafluorobutansäure (HFBA) betrachtet, so stellt man fest, daß die Einflüsse des organischen Lösemittelanteils auf den EOF noch auftreten, aber sehr klein geworden sind. Mit steigender Kettenlänge des organischen Restes in den Fluorkarbonsäuren nimmt die EOF - Wanderungsgeschwindigkeit zu.

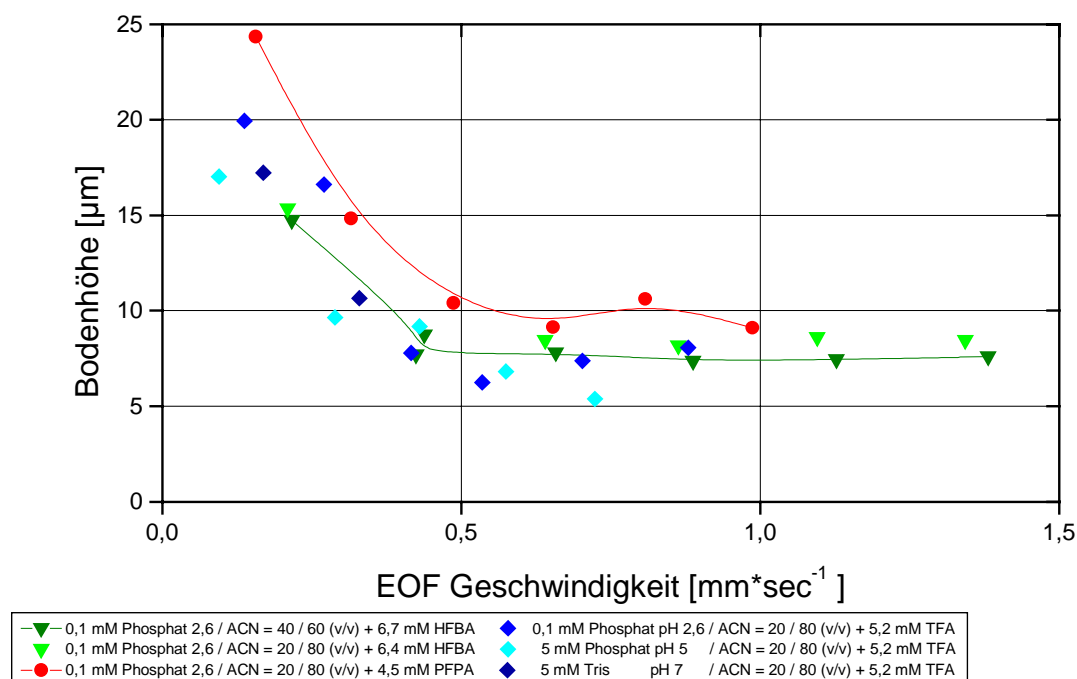
Hypersil ODS 3 μ m: Fluoroadditive

Abbildung 5.3.1-2: H vs u Kurve von Hypersil ODS mit Fluorkarbonsäuren als Additive
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Durch Zusatz von Fluorkarbonsäuren zu dem Puffer ändert sich die H vs u- Kurve insofern, als hohe EOF - Werte, die mit hohem angelegtem elektrischen Feld korrelieren, nicht zur Erhöhung der Bodenzahlen führen. Es lassen sich keine weiteren markanten Unterschiede in der Bodenhöhe von Thioharnstoff zwischen Trifluoressigsäure (TFA), Pentafluorpropionsäure (PFPA) und Heptafluorbutansäure (HFBA) beobachten. Das Minimum der Bodenhöhe liegt bei dem Zwei- bis Dreifachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 2 - 3 dp$) und steigt bei wachsender EOF - Wanderungsgeschwindigkeit nicht mehr an.

5.3.2 SDS als Additiv

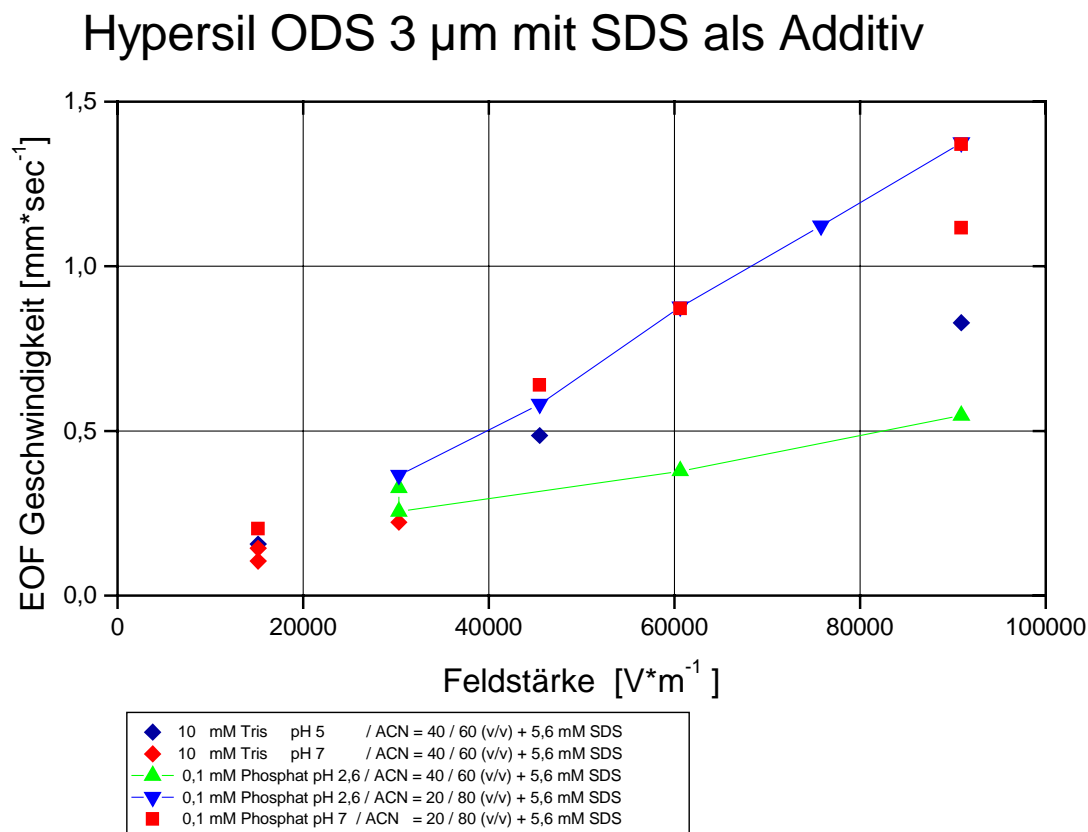


Abbildung 5.3.2-1: Abhängigkeit der EOF - Geschwindigkeit von der Feldstärke mit SDS als Additiv
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Bei der Auftragung von der EOF - Wanderungsgeschwindigkeit gegen die Feldstärke sieht man den linearen Zusammenhang sehr deutlich. Vergleicht man die Puffergemische Acetonitril / Phosphatpuffer = 60 / 40 mit 80 / 20 (v/v) bei pH = 2,6 so zeigt sich, daß mit steigendem Anteil an organischem Lösemittel die Wanderungsgeschwindigkeit zunimmt. Damit entsprechen die Meßwerte den Vorhersagen der Theorie.

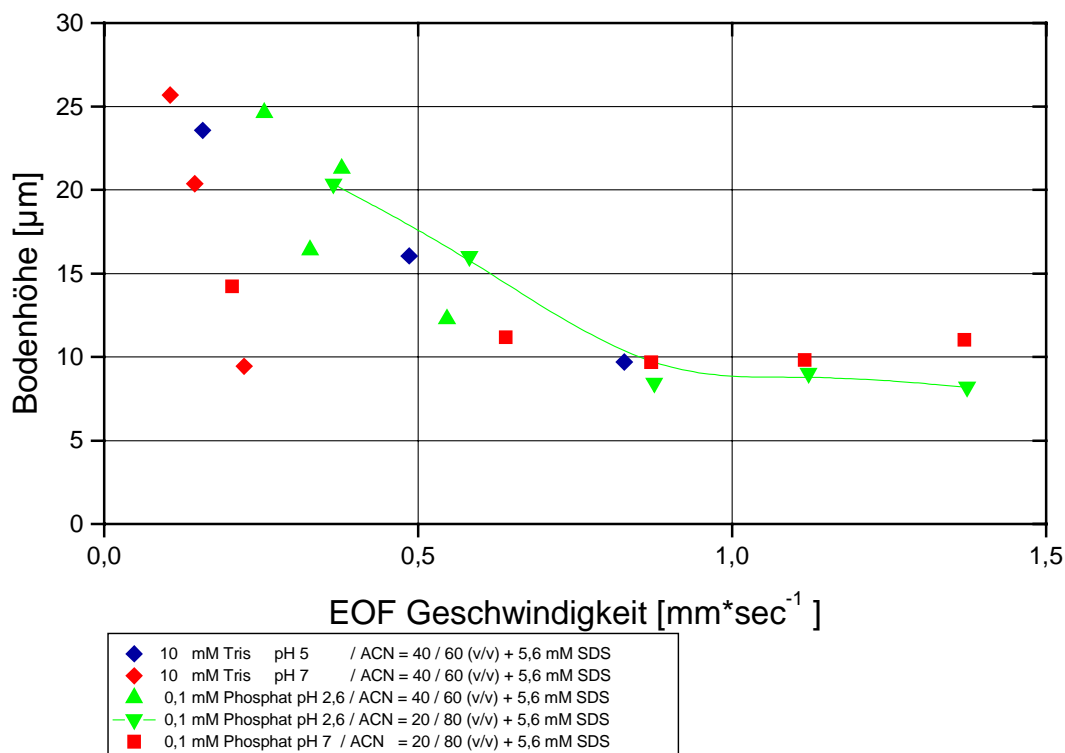
Hypersil ODS 3 μm mit SDS als Additiv

Abbildung 5.3.2-2: H vs u Kurve von Hypersil ODS mit SDS als Additiv
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Bei der hier gezeigten H vs u Auftragung durchläuft die Kurve ein Minimum bei einer Bodenöhöhe, die dem Dreifachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 3 \text{ dp}$) entspricht. Bei $\text{pH} = 7$ durchläuft die Kurve ein Minimum und steigt leider wieder an, bei $\text{pH} = 2,6$ wird das Minimum bei höheren Flußgeschwindigkeiten erreicht.

5.3.3 Triethylamin als Additiv

Hypersil ODS 3 μm mit Triethylamin als Additiv

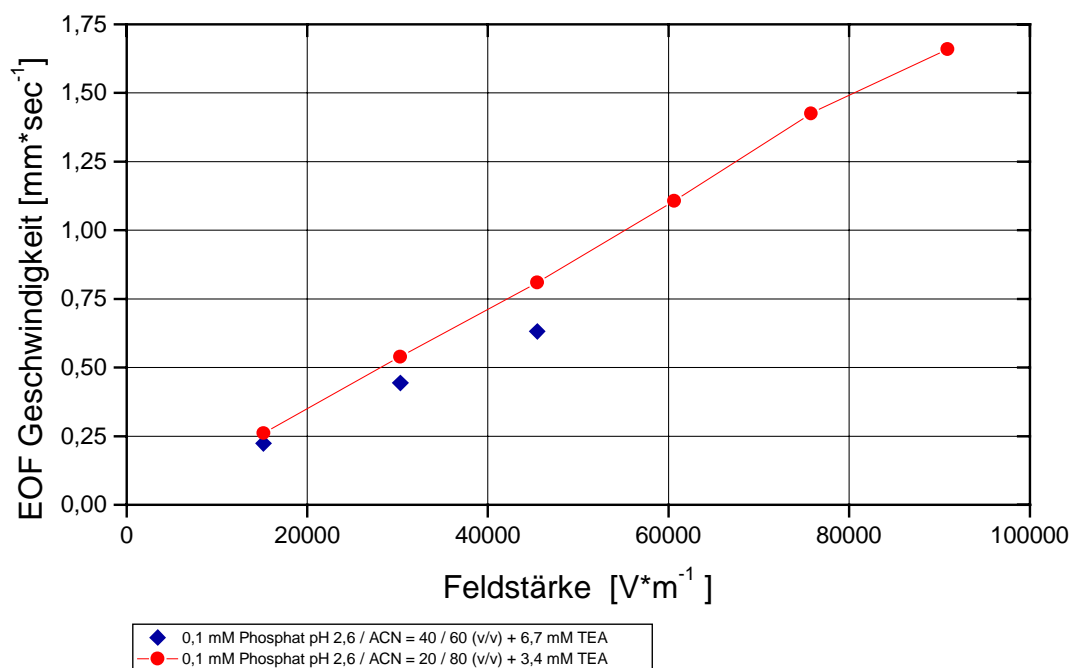


Abbildung 5.3.3-1: Abhängigkeit der EOF - Geschwindigkeit von der Feldstärke
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Trägt man die EOF - Wanderungsgeschwindigkeit gegen die Feldstärke auf, so sieht man, daß sich eine Gerade ergibt, und daß ein steigender Anteil an organischem Lösemittel im Fließmittel zu einer Zunahme der Steigung führt. Die EOF - Geschwindigkeit liegt in derselben Größenordnung wie die, die im reinen Acetonitril / Phosphatpuffer beobachtet wird.

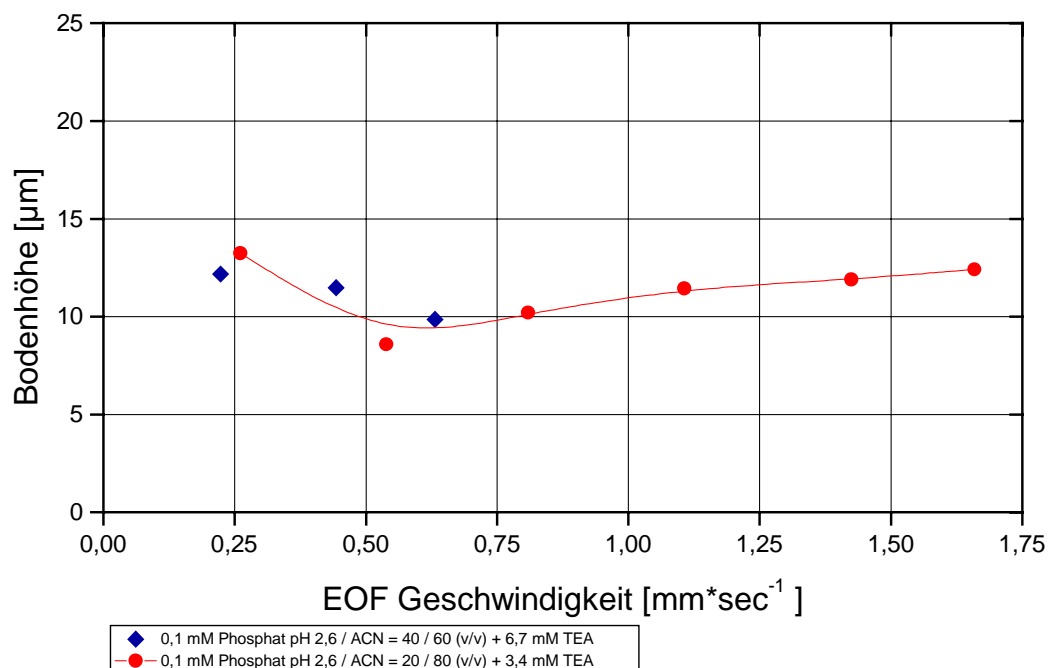
Hypersil ODS 3 μm mit Triethylamin als Additiv

Abbildung 5.3.3-2: H vs u Kurve von Hypersil ODS mit Triethylamin als Additiv

Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt;
Analyt: Thioharnstoff

Bei der Auftragung der Bodenhöhe gegen die EOF Wanderungsgeschwindigkeit durchläuft die Kurve ein Minimum bei dem Dreifachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 3 \text{ dp}$). Die Kurve steigt bei wachsender Geschwindigkeit auf das Vierfache ($H \approx 4 \text{ dp}$) an.

5.3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die H vs u Kurven in Gegenwart von Additiven zu dem Fließmittel unterscheiden sich nicht merklich von der eines reinen Acetonitril / Phosphatpuffer Gemisches.

Innerhalb der halogenierten Karbonsäuren treten bei der Auftragung der theoretischen Bodenhöhe in Abhängigkeit von der Wanderungsgeschwindigkeit keine wesentlichen Unterschiede auf. Bei allen wird das Minimum der Kurve bei niedrigen EOF Geschwindigkeiten erreicht und nähert sich mit steigenden Geschwindigkeiten dem Zwei- bis Dreifachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 2 - 3 dp$).

Bei Natriumdodecylsulfat (SDS) als Additiv streuen die Bodenhöhen bei niedrigen EOF Geschwindigkeiten und nähern sich bei höheren EOF Geschwindigkeiten dem Dreifachen des mittleren Teilchendurchmessers ($H \approx 3 dp$). Hier variieren die Bodenhöhen nicht mit dem pH-Wert.

Triethylamin verhält sich als Additiv analog zum reinen Phosphatpuffer, die H vs u Kurve durchläuft bei geringen EOF Geschwindigkeiten ein Minimum bei dem Dreifachen des Teilchendurchmessers und die Bodenhöhe steigt mit höheren Geschwindigkeiten wieder an. Der elektroosmotische Fluß ist in der Größenordnung wie der mit reinem Phosphatpuffer. Der Einfluß des Anteils des organischen Lösemittels ist bei Zusatz von halogenierten Karbonsäuren vernachlässigbar gering. Bei Triethylamin ist er nicht besonders ausgeprägt und bei Natriumdodecylsulfat ist er quantitativ.

Der Einfluß von Additiven auf den elektroosmotischen Fluß ist offensichtlich sehr gering. Damit Wechselwirken die Additive nicht mit der Oberfläche der Trägermaterialien und beeinflussen das Zetapotential nicht oder nur geringfügig. Die Wechselwirkungen finden voraussichtlich mit den C18 – Alkylketten statt und haben damit keinen Einfluß auf den EOF, allerdings können sie dort die Selektivität der Trennung beeinflussen, was näher untersucht werden muß.

6. Trennung von Testgemischen

In dieser Arbeit werden unpolare, polare, basische, saure und zwitterionische Testsubstanzen vorgestellt, die mit der Kapillar - Elektrochromatographie getrennt werden sollen. Alle Testgemische sind in 10 mL HPLC-Wasser / Acetonitril = 50 / 50 (v/v) gelöst.

Testmischung	basisch	sauer	polar	unpolar
Alkylbenzole				+
Anilinderivate	+			
Aminosäuren	+	+		
Benzoessäurederivate		+		
EPA Mix 610				+
Engelhardt Mix			+	
Multikomponenten	+		+	
Softdrinkadditive	+	+	+	
Parabene		+	+	
Polare Mischung			+	
Steroide				+
Xanthine 1	+		+	
Xanthine 2	+		+	

Tabelle 5.3.4-1: Einteilung der Testmischungen

Es sollen die Einflüsse von der Fließmittelzusammensetzung, der Pufferkonzentration und von Additiven auf die Trennung untersucht werden. Bei den Beispielen ist zu berücksichtigen, daß sich die Trennungen aus den Einflüssen des EOF, der elektrophoretischen Mobilität und der Retention ergibt. Die elektrophoretische Mobilität kann in Abhängig von der Ladung in Richtung des EOF oder entgegengesetzt gerichtet sein.

6.1 Alkylbenzole

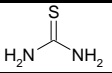
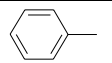
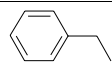
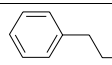
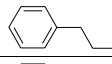
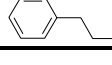
Substanz	#		Einwaage / mg
Thioharnstoff	1		
Toluol	2		62,1
Ethylbenzol	3		62,8
Propylbenzol	4		56,4
Butylbenzol	5		51,1
Pentylbenzol	6		71,4

Tabelle 5.3.4-1: Aufstellung der Analyten, die in der Testmischung Alkylbenzole verwendet werden. Die Analyten sind in 10 mL Acetonitril gelöst

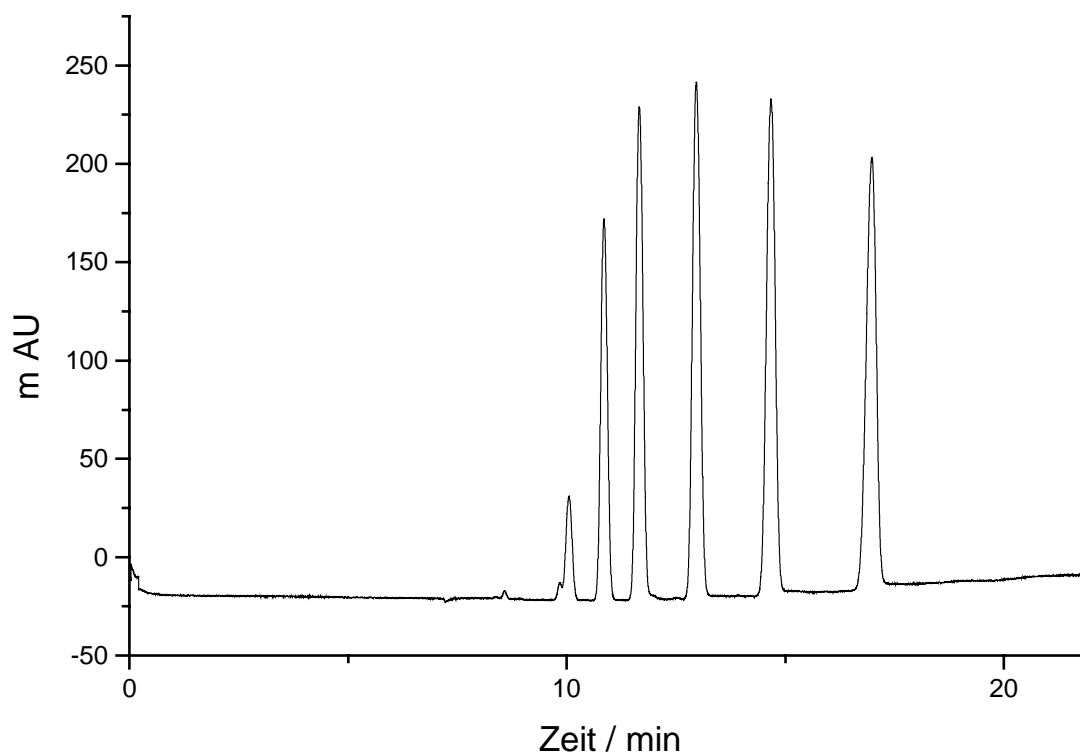


Abbildung 5.3.4-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: 50 mM TrisHCl pH 8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Spannung: 10 kV; Detektion: UV, 214 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Toluol, Ethylbenzol, Propylbenzol, Butylbenzol, Pentylbenzol

	t ₀	t _{Toluol}	k	t _{Ethylbenzol}	k	t _{Propylbenzol}	k	t _{Butylbenzol}	k	t _{Pentylbenzol}	k
kV	min	min		min		min		min		min	
10 (*)	10,82	11,66	0,08	12,54	0,16	14,00	0,34	16,06	0,49	18,86	0,75
15	7,11	7,68	0,08	8,26	0,16	9,21	0,30	10,50	0,48	12,08	0,70
15(*)	7,21	7,77	0,08	8,34	0,16	9,33	0,29	10,71	0,49	12,57	0,75
20	5,41	5,83	0,08	6,27	0,16	7,00	0,29	8,03	0,49	9,43	0,75

Tabelle 5.3.4-2: Einfluß der Spannung auf die Retentionskoeffizienten
 Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 50 mM TrisHCl pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v);
 Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Toluol, Ethylbenzol, Propylbenzol, Butylbenzol, Pentylbenzol; Bei den mit (*) markierten Zeilen wurden die Zahlenwerte aus der 20 kV Messung extrapoliert.

Bei den nichtretardierten Substanzen konnte gezeigt werden, daß die Wanderungsgeschwindigkeit proportional zu dem angelegten Feld ist. Die Retentionskoeffizienten für unpolare Substanzen, die bei einer Spannung von 15 und 20 kV gemessen wurden, sind identisch. Damit konnte gezeigt werden, daß die Wanderungsgeschwindigkeit von unpolaren retardierten Substanzen proportional zum angelegten Feld ist. So lassen sich auch Trennungen unpolarer Substanzen vergleichen, die bei unterschiedlichen Feldstärken gemessen wurden. Die Elutionsfolge entspricht den empirischen Erwartungen. Je kleiner die Seitenkette ist, desto geringer sind die Wechselwirkungen mit der stationären Phase und um so kleiner sind die Retentionszeiten.

Puffer	t ₀	t _{Toluol}	k	t _{Ethylbenzol}	k	t _{Propylbenzol}	k	t _{Butylbenzol}	k	t _{Pentylbenzol}	k
mM	min	min		min		min		min		min	
2,5	12,60	19,42	0,54	27,77	1,20	30,91	1,45	34,07	1,70	41,94	2,33
5	10,82	11,66	0,08	12,54	0,16	14	0,34	16,06	0,49	18,86	0,75
10	10,56	11,39	0,08	12,24	0,16	13,61	0,29	15,34	0,45	17,70	0,68

Tabelle 5.3.4-3: Einfluß der Pufferkonzentration auf die Retentionskoeffizienten
 Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: TrisHCl pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Toluol, Ethylbenzol, Propylbenzol, Butylbenzol, Pentylbenzol

Mit steigender Konzentration nimmt die EOF-Wanderungsgeschwindigkeit zu. Das spiegelt sich darin wider, daß sowohl die Totzeit, als auch die Retentionszeiten der Analyten und der Retentionskoeffizient kleiner werden. Der Zusammenhang zwischen steigender Konzentration und sinkendem Retentionskoeffizienten ist nicht linear.

pH	U	t ₀	t _{Toluol}	k	t _{Ethylbenzol}	k	t _{Propylbenzol}	k	t _{Butylbenzol}	k	t _{Pentylbenzol}	k
	kV	min	min		min		min		min		min	
7	5	26,98	29,43	0,09	32,03	0,19	36,17	0,34	41,69	0,54	49,28	0,83
5	5	25,68	32,76	0,28	36,9	0,44	42,24	0,65	51	0,99	63	1,46
5	30	4,28	5,49	0,28	6,15	0,44	7,04	0,65	8,50	0,99	10,50	1,46

Tabelle 5.3.4-4: Einfluß der Pufferkonzentration und des pH-Wertes auf die Retentionskoeffizienten
 Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 5 mM TrisHCl / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Toluol, Ethylbenzol, Propylbenzol, Butylbenzol, Pentylbenzol

Beim Vergleich der pH-Werte 5 und 7 stellt man fest, daß bei pH 7 die Retentionsfaktoren kleiner sind und damit die retardierten Substanzen weniger stark mit der stationären Phase Wechselwirken.

ACN	Puffer	U	t ₀	t _{Toluol}	k	t _{Ethylbenzol}	k	t _{Propylbenzol}	k	t _{Butylbenzol}	k	t _{Pentylbenzol}	k
%	mM	kV	min	min		min		min		min		min	
70	15	30	2,41	3,30	0,37	3,59	0,49	4,06	0,69	4,69	0,95	5,59	1,32
80	10	30	2,20	2,58	0,17	2,70	0,23	2,91	0,32	3,18	0,45	3,55	0,62

Tabelle 5.3.4-5: Einfluß des Anteils an organischem Lösemittel auf die Retentionskoeffizienten
 Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: Phosphatpuffer pH 8 / Acetonitril (v/v); Spannung: 20 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Toluol, Ethylbenzol, Propylbenzol, Butylbenzol, Pentylbenzol.

Wie erwartet, nehmen die Retentionszeiten mit steigendem Anteil an organischem Lösemittel ab. Dies spiegelt sich auch in den Retentionskoeffizienten wider, die bei einem Acetonitrilgehalt von 80% wesentlich kleiner sind.

Additiv	Additiv	t ₀	t _{Toluol}	k	t _{Ethylbenzol}	k	t _{Propylbenzol}	k	t _{Butylbenzol}	k	t _{Pentylbenzol}	k
	mM	min	min		min		min		min		min	
SDS	2,8	2,92	4,36	0,49	5,48	0,88	6,43	1,20	7,76	1,66	9,69	2,32
TEA	3,3	3,06	4,23	0,38	5,59	0,83	7,00	1,29	8,99	1,94	11,91	2,89
HFBA	3,3	3,78	4,74	0,26	6,00	0,59	7,09	0,88	8,57	1,27	10,72	1,84

Tabelle 5.3.4-6: Einfluß der Additive auf die Retentionskoeffizienten;
 Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 0,1 mM Phosphatpuffer pH 2,6 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Toluol, Ethylbenzol, Propylbenzol, Butylbenzol, Pentylbenzol.

Vergleicht man Natriumdodecylsulfat (SDS) mit Triethylamin (TEA) so stellt man fest, daß die Retentionszeiten bei TEA größer sind als bei SDS. TEA fungiert bei einem pH - Wert von 2,6 als Base, es bildet das positiv geladene Ammoniumion. Damit entsteht neben dem EOF zur Anode noch ein kathodischer EOF, der dem „normalen“ EOF entgegengesetzt verläuft.

Durch die Vektoraddition wird der Gesamt - EOF kleiner. Das läßt sich an den Retentionszeiten ablesen.

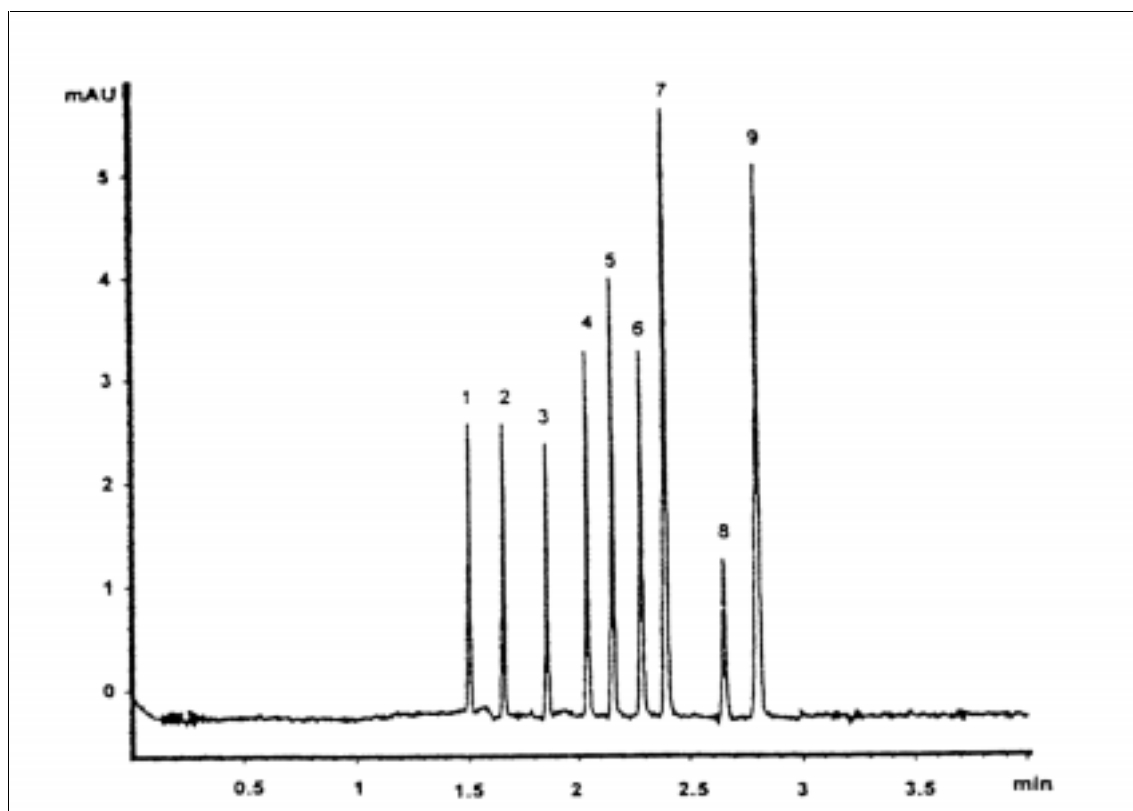


Abbildung 5.3.4-2: Trennung von Alkylbenzolen ^[33]

Kapillare: 32 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 24 cm gepackt mit 1.5 µm NPS ODS-Chromsphere, **mobile Phase:** Wasser / Acetonitril = 40 / 60(v/v) + 5 mM SDS + 1.6 mM Natriumtetraborat; **Spannung:** 20 kV; **Detektion:** UV, 254 nm; **Elutionsfolge:** 1 = Aceton, 2 = Benzol 3 = Toluol, 4 = Ethylbenzol, 5 = Propylbenzol, 6 = Butylbenzol, 7 = Impurity, 8 = Pentylbenzol, 9 = Hexylbenzol

Bemerkenswert an dieser Trennung der Alkylbenzole von Kraak und Poppe mit unporösen 3 µm Teilchen ist die Tatsache, daß die Trennung innerhalb von 3 Minuten erfolgt ist. Diese Trennung ist ein gutes Beispiel für die Schnelligkeit und die Effizienz, mit der unporöse Packungsmaterialien in der Kapillar - Elektrochromatographie eingesetzt werden können. Auf dem Hypersil Material dauert die Trennung etwa 10 Minuten, das ist dreimal so lange.

6.2 Anilinderivate

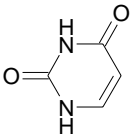
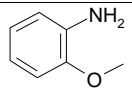
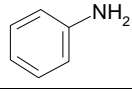
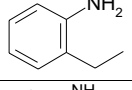
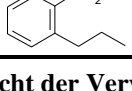
Substanz		Einwaage / mg
Uracil		98,3
o-Anisidin		51,1
Anilin		49,2
2-Ethylanilin		48,8
2-Propylanilin		49,3

Tabelle 5.3.4-1: Übersicht der Verwendeten Anilinderivate
Die Analyten sind in 10 mL Acetonitril / HPLC-Wasser = 50 / 50 (v/v) gelöst

Packung	ACN	pH	U	t ₀	t _{Anisidin}	k	t _{Anilin}	k	t _{Ethylanilin}	k	t _{Propylanilin}	k
	%		kV	min	min		min		min		min	
Hypersil ODS	60	7	10	7,67	9,00	0,17	9,21	0,20	9,87	0,29	10,40	0,36
Hypersil ODS *	60	7	10	8,03	9,51		9,74		10,46		11,04	
Hypersil ODS	60	7	15	5,35	6,34	0,18	6,49	0,21	6,97	0,30	7,36	0,38
Hypersil ODS	80	5	30	3,37	4,03	0,20	4,16	0,23	4,57	0,36	5,03	0,49
Xtec S3 C18	60	7	10	14,67	23,05	0,57	24,81	0,69	30,13	1,05	35,87	1,44

Tabelle 5.3.4-2: Einfluß des Anteils an organischem Lösemittel auf die Retentionskoeffizienten
Tris-HCl Puffer 10 mM ; Kapillare 25 cm gepackt
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 10 mM TrisHCl / Acetonitril (v/v); Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Uracil, o-Anisidin, Anilin, 2-Ethylanilin, 2-Propylanilin
Die Werte der mit (*) bezeichneten Zeile wurden aus der 15 kV Messung extrapoliert.

In dieser Testmischung kommt Uracil als neutrale Substanz vor und sonst nur Derivate des Anilins. Alle Aminogruppen liegen bei einem pH-Wert kleiner als 9 in der protonierten Form vor. Die neutralen Analyten eluieren nach dem Totvolumen und die negativ geladenen Analyten zum Schluß. Bei dieser Testmischung handelt es sich um geladene retardierte Analyten, deswegen wird kein Analyt vor dem Totvolumen eluiert. o-Anisidin besitzt eine polare Methoxygruppe, die bei diesen pH Werten ungeladen ist, deswegen wird es direkt nach Uracil eluiert. Alle anderen Amine werden stärker retardiert. Die Retentionszeiten nehmen mit steigender Länge der Alkylkette zu.

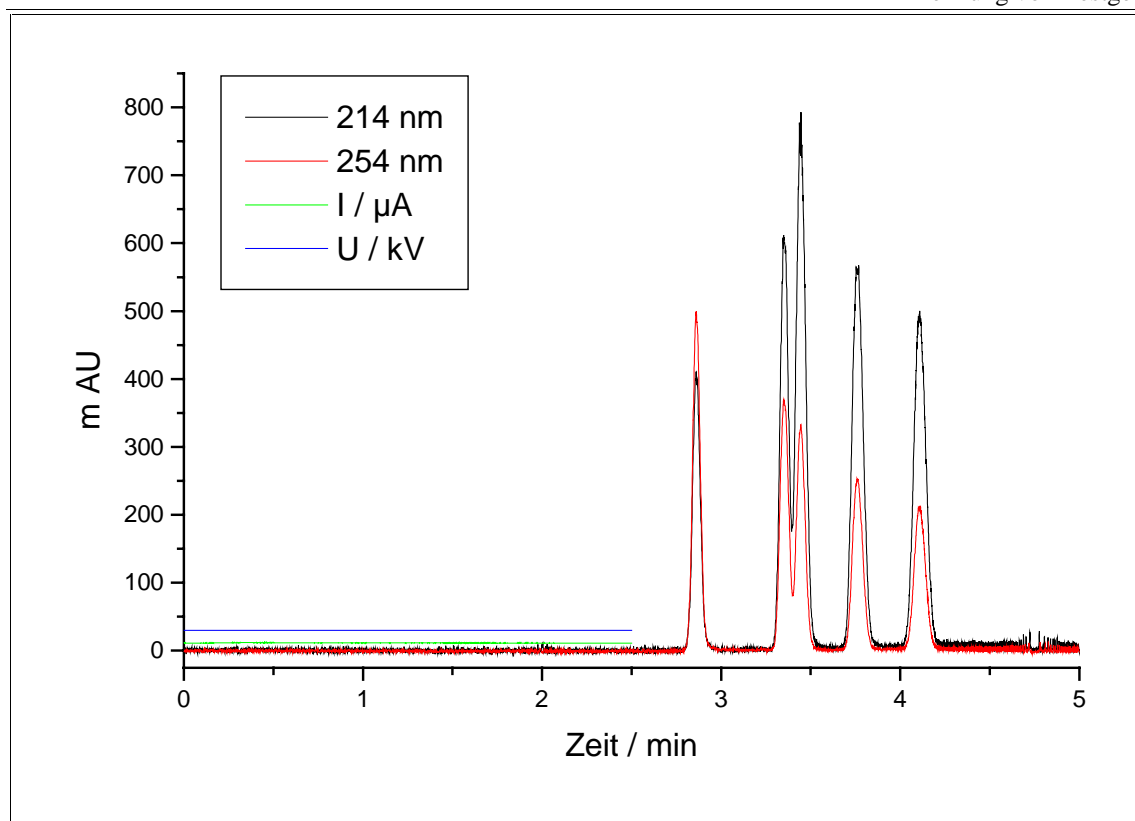


Abbildung 5.3.4-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: 5 mM Phosphatpuffer pH 7 / Acetonitril = 20 / 80(v/v); Spannung 30 kV; Elutionsfolge: Uracil, o-Anisidin, Anilin, 2-Ethylanilin, 2-Propylanilin.

Bei einem pH-Wert von 2,6 sind alle Aminogruppen protoniert. Bemerkenswert ist, daß die Totzeiten für 60 und 80% Anteil an Acetonitril (ACN) nicht so stark voneinander abweichen. Die Retentionszeiten für die anderen Analyten unterscheiden sich hingegen stark. Dadurch werden die Retentionskoeffizienten, wie erwartet, wesentlich kleiner.

ACN	Puffer	pH	t_0	t_{Anisidin}	k	t_{Anilin}	k	$t_{\text{Ethylanilin}}$	k	$t_{\text{Propylanilin}}$	k
%			min	min		min		min		min	
60	0,1	2,6	3,54	5,49	0,55	6,00	0,69	7,83	1,21	10,39	1,94
80	0,5	2,6	3,17	3,90	0,23	4,00	0,26	4,29	0,36	4,61	0,46
80	5	7	2,86	3,35	0,17	3,45	0,20	3,76	0,31	4,11	0,44

Tabelle 5.3.4-3: Einfluß des Anteils an organischem Lösemittel auf die Retentionskoeffizienten Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: Phosphatpuffer / Acetonitril (v/v); Spannung 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Uracil, o-Anisidin, Anilin, 2-Ethylanilin, 2-Propylanilin.

ACN	Additiv	C _{Additiv}	t ₀	t _{Anisidin}	k	t _{Anilin}	k	t _{Ethylanilin}	k	t _{Propylanilin}	k
%		mM	min	min		min		min		min	
60	--	(0,1)	3,54	5,49	0,55	6,00	0,69	7,83	1,21	10,4	1,94
60	SDS	5,60	3,82	5,34	0,40	5,76	0,51	7,19	0,88	8,95	1,34
80	--	(0,5)	3,17	3,90	0,23	4,00	0,26	4,29	0,36	4,61	0,46
80	SDS	2,80	3,35	3,68	0,10	4,07	0,22	4,43	0,32	4,81	0,44
80	TEA	3,37	2,54	3,17	0,25	3,29	0,30	3,70	0,46	4,17	0,64

Tabelle 5.3.4-4: Einfluß von SDS und TEA auf die Retentionskoeffizienten der Anilinderivate
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil
ODS 3 µm, mobile Phase: 0,1 mM Phosphatpuffer pH 2,6 / Acetonitril (v/v);
Spannung 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Uracil, o-Anisidin, Anilin, 2-
Ethylanilin, 2-Propylanilin.

Bei dem Vergleich der beiden Messungen mit 60% Acetonitril (ACN), fällt auf, daß die Totzeit ohne Additiv kleiner ist. Dafür werden die Analyten mit dem Additiv Natriumdodecylsulfat (SDS) weniger stark retardiert. Da SDS bei dieser Messung eine Konzentration oberhalb von 5 mM hat, darf man damit rechnen, daß die Micellenbildung eingesetzt hat, und die Analyten deswegen etwas schneller transportiert werden. Betrachtet man die Retentionskoeffizienten, so sieht man, daß die mit SDS-Zusatz immer kleiner sind als die ohne. Auch bei den Messungen mit einem Anteil von 80% Acetonitril fällt auf, daß mit SDS als Additiv die Retentionskoeffizienten kleiner sind als ohne Additiv.

Mit Triethylamin (TEA) als Additiv sind die Retentionszeiten wesentlich kleiner als mit SDS. Mit Zusatz von TEA wird zwar ebenfalls die Konzentration im Puffer erhöht, allerdings ist dieses Additiv positiv geladen. Damit entsteht ein zusätzlicher anodischer EOF, der die Wanderungsgeschwindigkeit der Analyten beschleunigt. Diese Tendenz ist zu erwarten, weil durch Zusatz von SDS eine höhere Ionenkonzentration in der Lösung vorhanden ist, dadurch können zusätzlich noch Einflüsse der Ionenchromatographie auftreten.

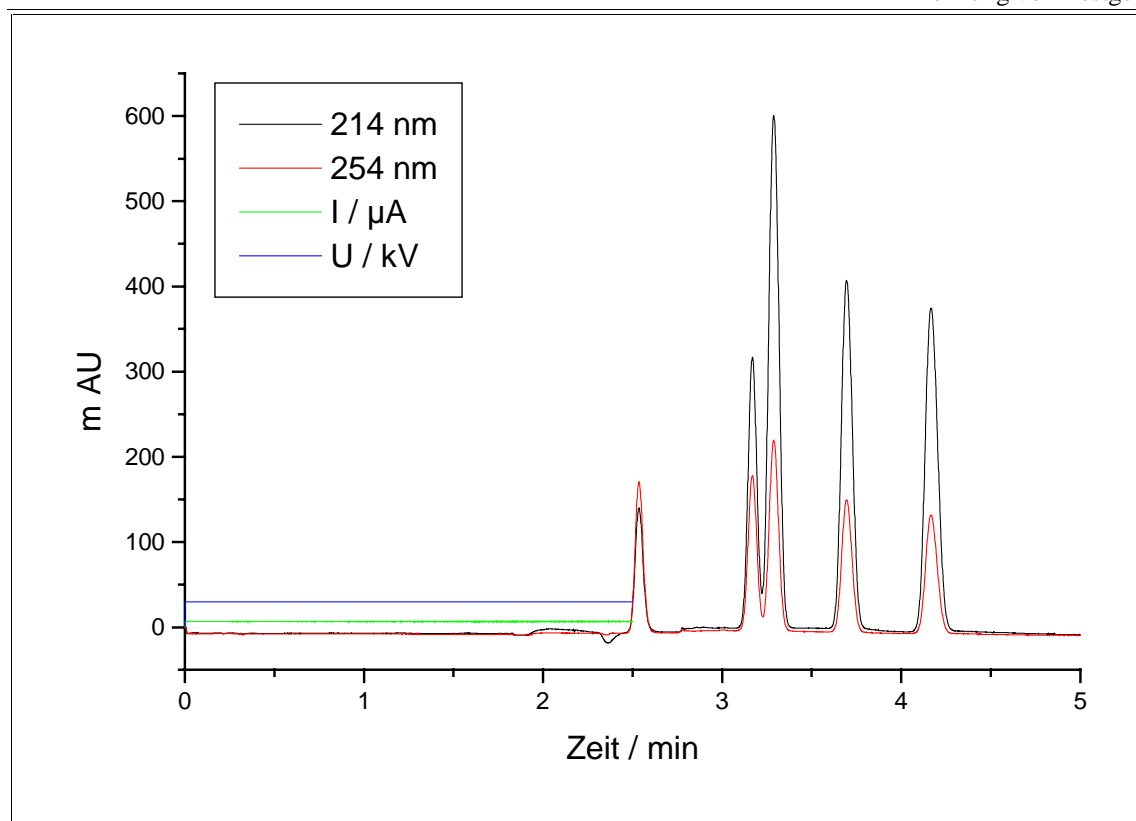


Abbildung 5.3.4-2: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: 3,37 mM Triethylamin / Phosphat pH 2,6 / Acetonitril = 10 / 10 / 80 (v/v); Spannung: 20 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Uracil, o-Anisidin, Anilin, 2-Ethylanilin, 2-Propylanilin

6.3 Aminosäuren

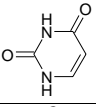

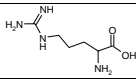
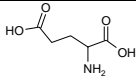
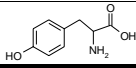
Substanz		α -COOH	α -NH ₃ ⁺	Seitenkette	Einwaage / mg
Uracil					103,2
DL-Alanin		2,3	9,9		105
L-Arginin		1,8	9,0	12,5	106,6
L-+-Glutaminsäure		2,2	9,7	4,3	131,6
L-Tyrosin		2,2	9,1	10,9	57,1

Tabelle 5.3.4-1: Übersicht der verwendeten Aminosäuren
in 10 mL HPLC-Wasser / Acetonitril = 50 / 50 (v/v) gelöst

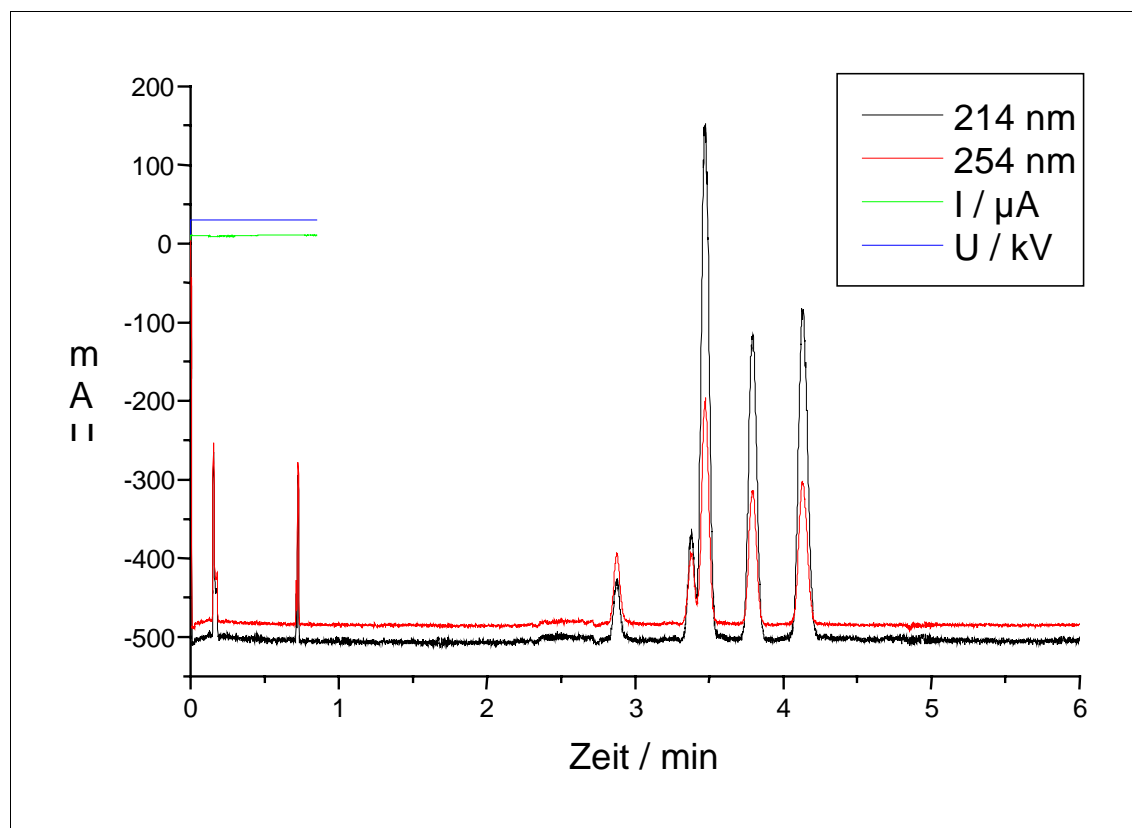


Abbildung 5.3.4-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μ m, mobile Phase: 5 mM Phosphatpuffer pH 7 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 214 nm, 254 nm; Elutionsfolge: Uracil, DL-Alanin, L-Arginin, L-+-Glutaminsäure, L-Tyrosin

t_0	$t_{DL\text{-Alanin}}$	k	$t_{L\text{-Arginin}}$	k	$t_{L\text{-+Glutaminsäure}}$	k	$t_{L\text{-Tyrosin}}$	k
min	min		min		min		min	
2,877	3,38	0,17	3,473	0,21	3,794	0,32	4,133	0,44

Tabelle 5.3.4-2: Trennbedingungen für ein Aminosäuregemisch
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: 1 mM Phosphatpuffer pH 7 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Elutionsfolge: Uracil, DL-Alanin, L-Arginin, L-+-Glutaminsäure, L-Tyrosin

Anhand der UV-Spektren läßt sich die Elutionsfolge Uracil, DL-Alanin, L-Arginin, L-+-Glutaminsäure, L-Tyrosin verifizieren. Diese Elutionsfolge spiegelt die Erwartung wider, die sich aus den Unterschieden in den pK-Werten ergibt. Bei Glutaminsäure liegt die zweite Carboxylgruppe dissoziiert vor, damit ist das Molekül negativ geladen und wird nach Arginin eluiert. Alanin ist nach außen neutral und wird wegen seiner kurzen Seitenkette wenig retadiert und folgt deswegen direkt auf Uracil. Tyrosin und Arginin sind beide neutral geladen und Wechselwirken einerseits mit dem Phenyl- andererseits mit dem Guanidylrest.

6.4 Benzoessäurederivate







Substanz		pK	Einwaage/ mg
Salicylsäure		2,99	51,9
Benzoessäure		4,20	62,8
Phenol		10,0	59,9
Benzol			38,1
Benzaldehyd			103,0

Tabelle 5.3.4-1: Übersicht über die verwendeten Benzoessäurederivate

$t_{\text{Benzaldehyd}}$	t_{Benzol}	t_{Phenol}	$t_{\text{Benzoessäure}}$	$t_{\text{Salicylsäure}}$
min	min	min	min	min
10,06	18,82	23,43	29,668	58,885

Tabelle 5.3.4-2: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit XTEC S3 C18, mobile Phase: 10 mM Tris – HCl - Puffer pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Spannung: 10 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Benzaldehyd, Benzol, Phenol, Benzoessäure, Salicylsäure

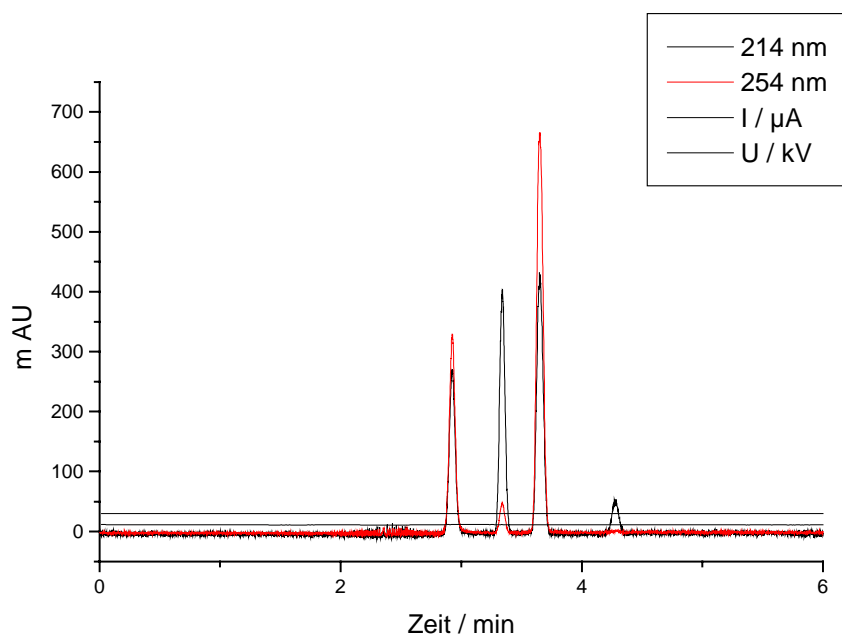


Abbildung 5.3.4-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit HYPERSIL ODS 3 μm , mobile Phase: 1 mM Phosphat - Puffer pH 7 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 214 nm, 254 nm; Elutionsfolge: Benzaldehyd, Benzol, Phenol, Benzoesäure, Salicylsäure

ACN	Puffer	pH	U	$t_{\text{Benzaldehyd}}$	t_{Benzol}	t_{Phenol}	$t_{\text{Benzoesäure}}$	$t_{\text{Salicylsäure}}$
%	mM		kV	min	min	min	min	min
60	10	2,6	30	3,13	3,47	4,44	5,37	6,73
80	0,5	2,6	30	2,50	2,84	2,92	3,17	3,28
50	25	8	30	3,22	3,99	4,48	4,74	5,22
70	15	8	30	2,30	2,51	2,77	2,93	3,23
80	10	8	30	2,35	2,53	2,77	3,04	
80	10	8	15	4,77	5,24	5,46	5,87	
80	5	7	30	2,93	3,34	3,65	4,28	

Tabelle 5.3.4-3: Einfluß des Anteils an organischem Lösemittel auf die Retentionskoeffizienten Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit HYPERSIL ODS 3 μm , mobile Phase: Phosphat-Puffer / Acetonitril (ACN) (v/v); Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Benzaldehyd, Benzol, Phenol, Benzoesäure, Salicylsäure

Bei einem pH-Wert von 2,6 liegt kein Analyt dissoziiert vor. Deswegen wird die Elutionsfolge nur von den Wechselwirkungen mit der stationären Phase beeinflusst. Bei 80% Acetonitril fallen Benzoesäure und Salicylsäure zusammen. Bei pH 7 und 8 sind Salicyl- und Benzoesäure deprotoniert und werden deswegen im elektrischen Feld verzögert.

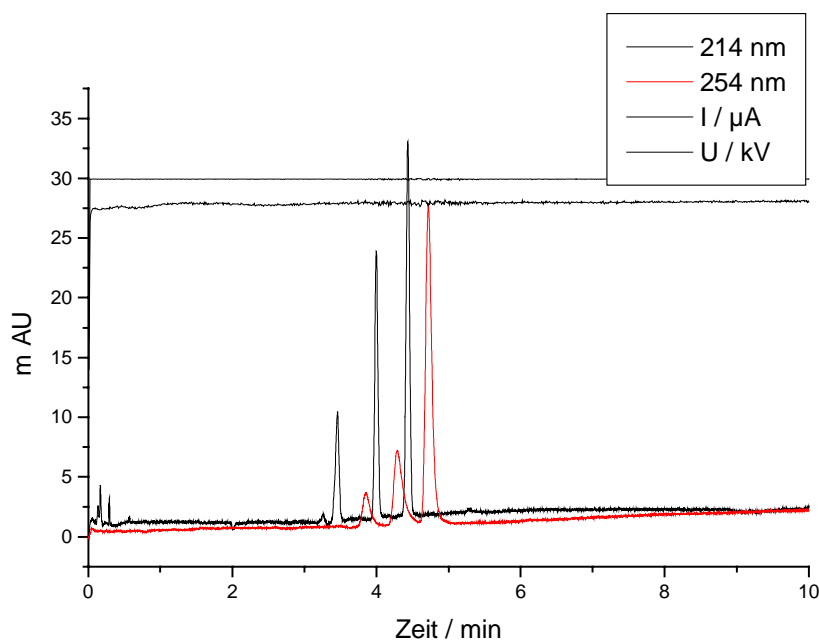


Abbildung 5.3.4-2: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit HYPERSIL ODS 3µM, mobile Phase: 0,5 mM Phosphat-Puffer pH 5 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v) + 5,2 mM Trifluoressigsäure; Spannung 30 kV; Detektion: UV, 214 nm, 254 nm; Elutionsfolge: Benzaldehyd, Benzol, Phenol, Benzoessäure, Salicylsäure

Verwendet man Hexafluorobutansäure (HFBA) als Additiv, so erniedrigt sich die Anzahl der getrennten Analyten um einen. Das kann damit zusammenhängen, daß die kritische Micellenkonzentration überschritten wird und damit nur noch Substanzgruppen getrennt werden: Karbonsäuren, Phenole, unpolare Aromaten und Aldehyde.

Mit Natriumdodecylsulfat (SDS) lassen sich die Analyten innerhalb von 7,5 Minuten trennen. Mit Triethylamin (TEA) als Additiv werden die Retentionszeiten der Analyten erhöht und die Analyten weiter auseinander geschoben. Das liegt daran, daß TEA bei diesem pH-Wert protoniert vorliegt und mit den geladenen Analyten Ionenpaare bilden kann. Das erhöht die Wechselwirkungen und damit auch die Retentionszeiten. Es ist in diesem Fall nicht nötig, TEA zu verwenden, weil damit die Analysezeit fast dreimal so hoch ist, wie bei SDS.

ACN	Additiv	C _{Additiv}	t _{Benzaldehyd}	t _{Benzol}	t _{Phenol}	t _{Benzoessäure}	t _{Salicylsäure}
%		mM	min	min	min	min	min
60	--	(10)	3,13	3,47	4,44	5,37	6,70
60	HFBA	6,68	3,11	3,55	3,64	3,98	--
80	--	(0,5)	2,50	2,91	3,23	6,46	8,12
80	SDS	2,802	2,91	3,12	3,36	3,68	4,52
80	TEA	3,37	2,11	6,68	9,16	11,10	12,12

Tabelle 5.3.4-4: Einfluß von Additiven auf die Retentionszeiten der Benzoessäurederivate
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit HYPERSIL ODS 3 µM, mobile Phase: 0,1 mM Phosphat-Puffer pH 2,6 / Acetonitril (ACN) (v/v) + Additiv; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Benzaldehyd, Benzol, Phenol, Benzoessäure, Salicylsäure

6.5 EPA - Mischung Nr. 610

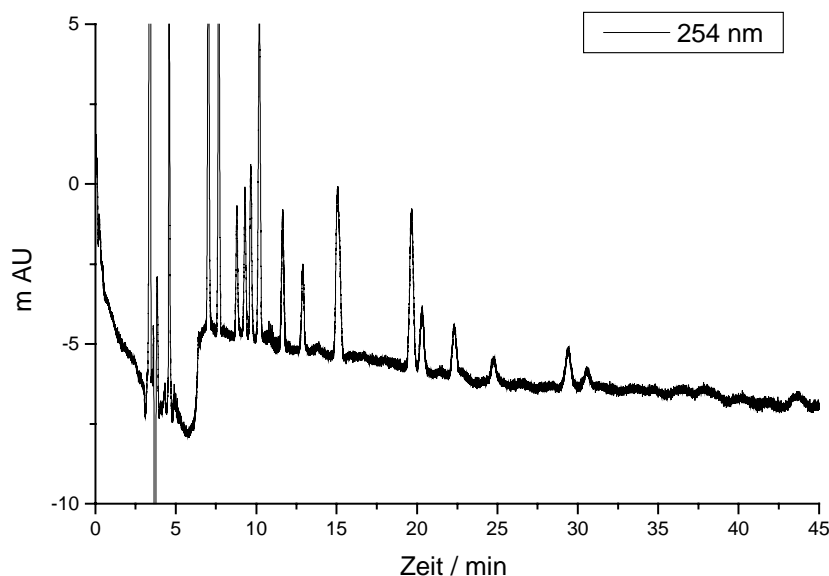


Abbildung 5.3.4-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: 50 mM Phosphatpuffer pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Naphthalin, Acenaphthylen, Acenaphthen, Fluoren, Phenanthren, Anthrazen, Fluoranthren, Pyren, Benzo(a)anthrazen, Chrysen, Benzo (b)fluoranthren, Benzo(k)fluoranthren, Benzo(a)pyren, Dibenzo(a,h)anthracen, Benzo (ghi)perylen, Indeno(1,2,3-cd)pyren

Betrachtet man diese Trennung, so stellt man fest, daß diese Testmischung nicht für die Kapillar Elektrochromatographie zusammengestellt ist. Es handelt sich um eine Mischung für die Gaschromatographie. Durch die hohe Auflösung läßt sich demonstrieren, daß alle Substanzen getrennt werden können, auch wenn Indeno(1,2,3-cd)pyren beinahe im Rauschen untergeht. Die Elutionsfolge entspricht, wie bei den Alkylbenzolen, der Faustformel: je hydrophober und größer die Analyten sind, desto später wird die Substanz eluiert.

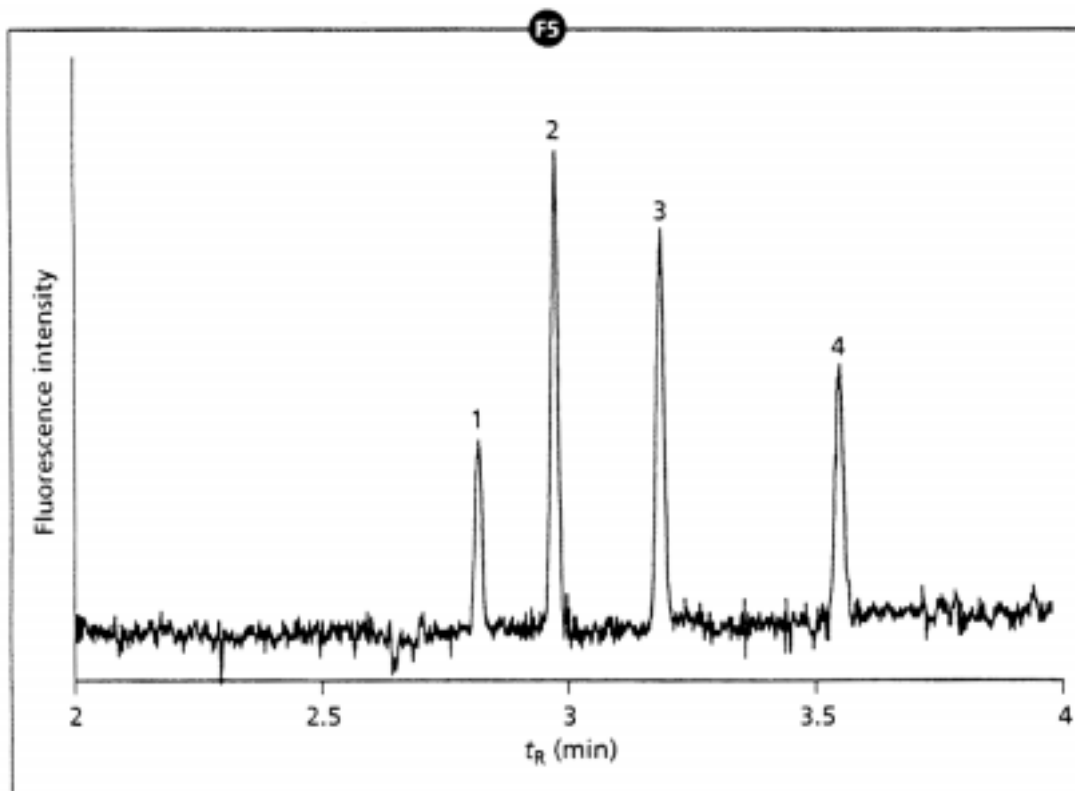


Abbildung 5.3.4-2: Trennung eines Gemisches von vier PAHs mit 1,5 μm MICRA NPS ODS^[39]
 Kapillare: 100 μm I.D., 28 cm gepackt mit MICRA NPS ODS 1,5 μm , mobile Phase: 4 mM Natriumtetraborat / Acetonitril = 30 / 70 (v/v); Spannung: 20 kV; Fluorescence;
 Elutionsfolge: 1 = Fluoranthen, 2 = Benzo[a]anthracen, 3 = Benzo[k]fluoranthen und 4 = Benzo[ghi]perylen

Betrachtet man dieses Elektroferrogramm, so ist offensichtlich, daß Chao Yan^[39.] eine sehr schnelle Trennung mit den unporösen Teilchen veröffentlicht hat. Die komplette Trennung ist in ca. 3,6 Minuten abgeschlossen. Für einen genaueren Vergleich zu dem porösen Material empfiehlt sich, die Tabelle zu betrachten:

Packungsmaterial	Querverweis	$t_{\text{Fluoranthen}}$	$t_{\text{Benzo(a)anthracen}}$	$t_{\text{Benzo(k)fluoranthen}}$	$t_{\text{Benzo(ghi)perylen}}$
Hypersil ODS 3 μm	Abbildung 5.3.4-1	9,97	12,63	19,98	29,05
MICRA NPS ODS 1,5 μm	Abbildung 5.3.4-2	2,8	2,95	3,2	3,6

Tabelle 5.3.4-1: Retentionszeiten ausgewählter Analyte aus Abbildung 5.3.4-1 und Abbildung 5.3.4-2

Die Trennung auf den mit unporösen MICRA Teilchen gepackten Kapillaren läuft 3,6 bis 8 mal so schnell ab wie auf den mit porösen Hypersil Materialien gepackten. Dies entspricht der Erwartung, weil die porösen Teilchen eine wesentlich größere Oberfläche besitzen, auf der dann C18-Alkylketten gebunden sind. Damit sind die hydrophoben Wechselwirkungen wesentlich stärker ausgeprägt als bei den unporösen Teilchen. Die höhermolekularen Aromaten neigen stärker zur hydrophoben Wechselwirkung, deswegen ist hier der Unterschied zwischen den Retentionszeiten auch so ausgeprägt.

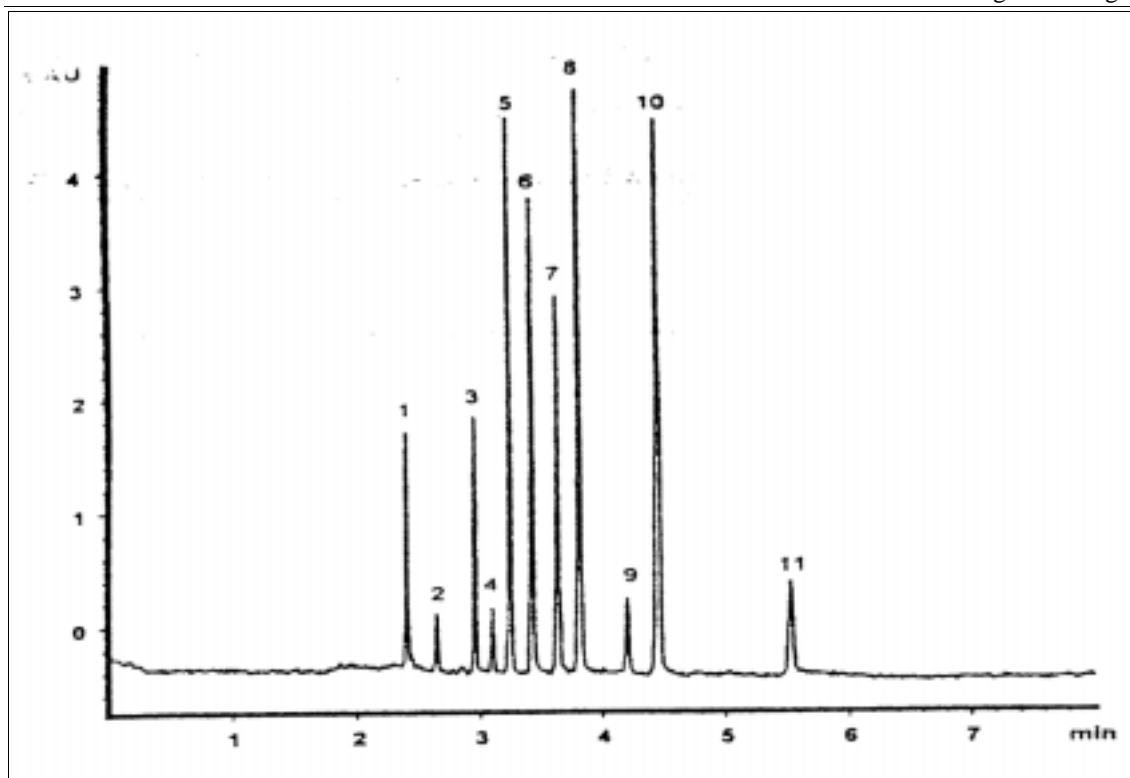


Abbildung 5.3.4-3: Trennung eines Gemisches von PAHs mit 1,5 μm NPS ^[33]
 Kapillare: 100 μm I.D., 32 cm gepackt mit Chromsphere ODS 1,5 μm , mobile Phase: Wasser / Acetonitril = 40 / 60 (v/v) + 5 mM SDS + 1,6 mM Natriumtetraborat; Spannung: 20 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: 1 = Aceton, 2 = Benzol, 3 = Naphthalin, 4 = Acenaphthylen, 5 = Acenaphthen, 6 = Fluoren, 7 = Phenanthren, 8 = Anthracen, 9 = Fluoranthen, 10 = Pyren, 11 = Crysen

Die Trennung der niedermolekularen Aromaten mit Natriumdodecylsulfat als Additiv ist Kraak^[33] sehr gut gelungen. Die Peaks sind scharf, symmetrisch und basislinienmäßig getrennt. Das Signal-Rausch-Verhältnis ist genial.

Querverweis	$t_{\text{Naphthalin}}$ min	$t_{\text{Acenaphthylen}}$ min	$t_{\text{Acenaphthen}}$ min	t_{Fluoren} min	$t_{\text{Phenanthren}}$ min	$t_{\text{Anthracen}}$ min	$t_{\text{Fluoranthen}}$ min	t_{Pyren} min
Abbildung 5.3.4-1	4,39	6,87	7,50	8,60	9,10	9,46	9,97	11,40
Abbildung 5.3.4-3	2,9	3,1	3,3	3,4	3,6	3,8	4,2	4,5

Tabelle 5.3.4-2: Retentionszeiten ausgewählter Analyte aus Abbildung 5.3.4-1 und Abbildung 5.3.4-3

Bei den „kleinen Aromaten“ schneiden die unporösen Packungsmaterialien bei den Retentionszeiten nicht so gut ab. Die Zeiten der unporösen Teilchen sind nur 1,5 bis 2,5 mal so groß. Allerdings ist das Rauschen der Basislinie bei den unporösen Teilchen besser, und damit wird die Trennung deutlicher.

6.6 Engelhardt – Gemisch








Substanz		Einwaage/ mg
Uracil		98,3
Anilin		49,2
Phenol		59,9
p-Ethylanilin		
N-N-Dimethylanilin		
Toluol		62,1
Ethylbenzol		62,8

Tabelle 5.3.4-1: Übersicht über die Substanzen, die im Engelhardt – Gemisch enthalten sind

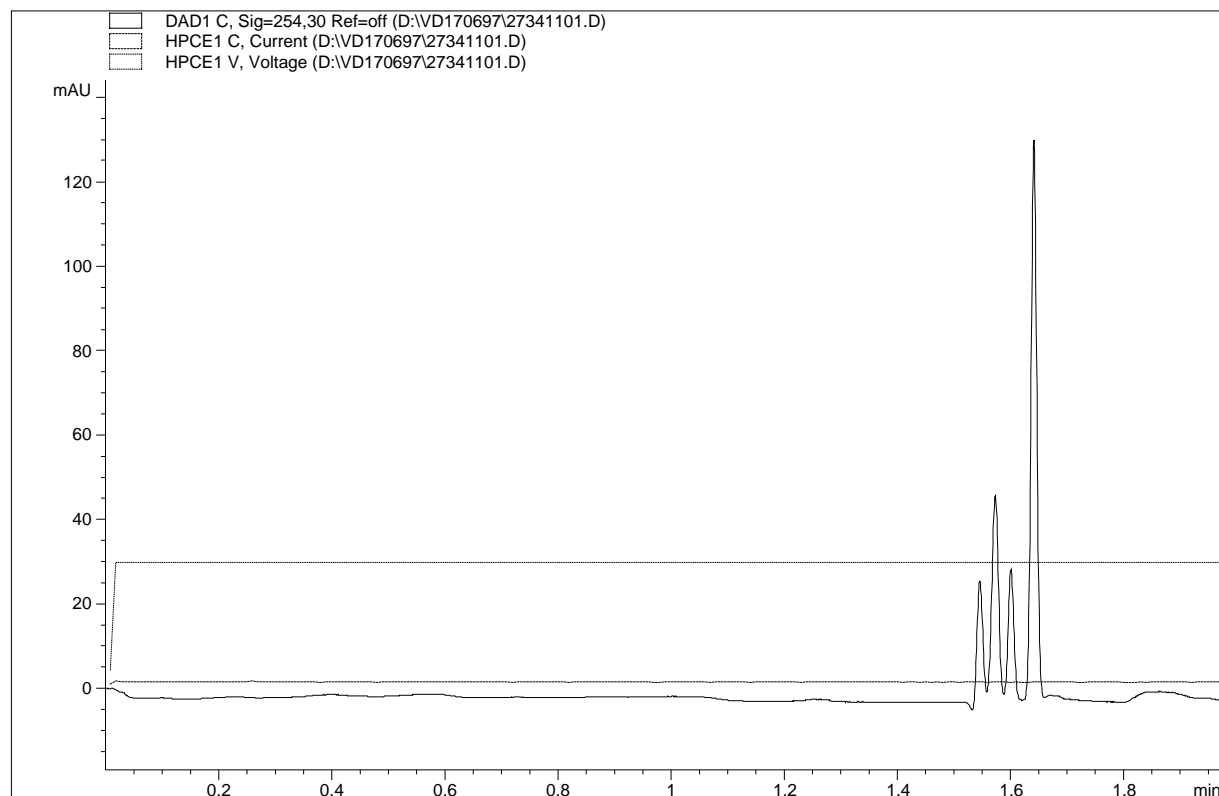


Abbildung 5.3.4-1: Engelhardt-Gemisch

Kapillare: 100 μm I.D., 32 cm gepackt mit MICRA NPS ODS 1.5 μm # 2734, mobile Phase: 1 mM Tris HCl pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Uracil, Anilin, Phenol, p-Ethylanilin, N-N-Dimethylanilin, Toluol, Ethylbenzol

An diesem Beispiel kann man die Probleme der Kapillar - Elektrochromatographie mit unporösen Teilchen sehr gut beschreiben. Die Analyse ist in einer sehr kurzen Zeit abgeschlossen und zeigt sehr scharfe Peaks, leider nur vier der sieben Analyte. Bei einem Gehalt von 80% Acetonitril erzeugt die Kapillare, die mit dieser Charge des MICRA Materials

gepackt ist, einen sehr guten elektroosmotischen Fluß und damit sehr kurze Analysezeiten. Mit diesem hohen Anteil an organischem Lösemittel kann das Gemisch nicht getrennt werden. Mit geringerem Acetonitrilgehalt von 40%, bei dem die Trennung erfolgt, ist der EOF zu langsam. Bei diesem Beispiel handelt es sich um ein Gemisch, das sich mit der CEC nicht sinnvoll trennen läßt.

6.7 Multikomponentenstandard /Sprengstoffmischung

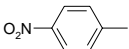
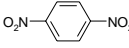
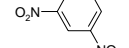

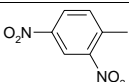

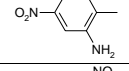
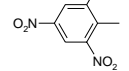
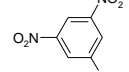
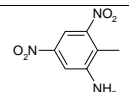
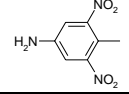
Substanz		Einwaage / mg
4 NT		11,88
1,4-DNB		12,31
1,3-DNB		11,86
2,6-DNT		10,66
2,4-DNT		15,75
2A-6NT		10,65
2A-4-NT		14,61
2,4,6-TNT		14,23
1,3,5-TNB		13,01
2A-4,6-DNT		9,93
4A-2,6-DNT		15,25

Tabelle 5.3.4-1: Substanzen, die in der Sprengstoffmischung des Hessischen Landesamtes für Umweltschutz und Geologie enthalten sind.

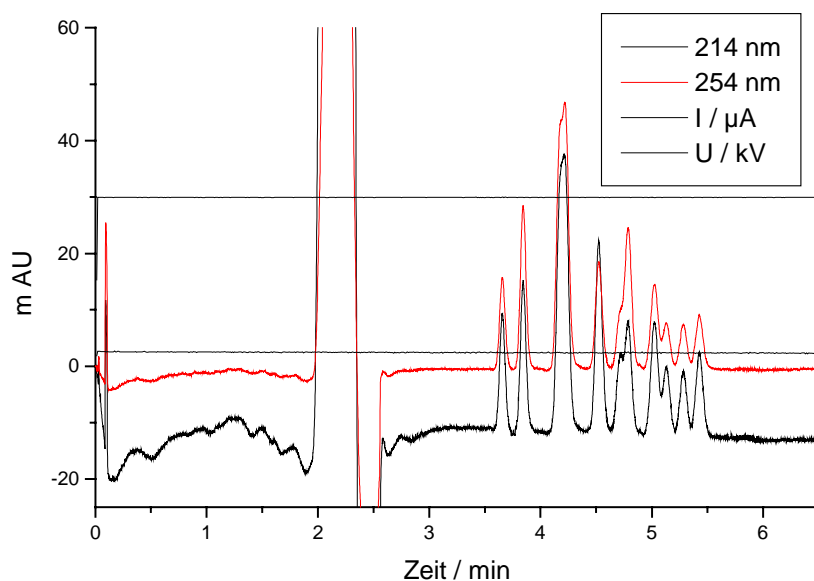


Abbildung 5.3.4-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: 50 mM Phosphatpuffer pH 8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 214nm, 254 nm; Elutionsfolge: 4-Nitrotoluol, 1,4-Dinitrobenzol, 2,4-Dinitrotoluol, 4-Amino-2,6-Dinitrotoluol, 1,3,5-Trinitrobenzol, 1,3-Dinitrobenzol, 2-Amino-6-Nitrotoluol, 2,6-Dinitrotoluol, 2-Amino-4-Nitrotoluol, 2,4,6-Trinitrotoluol, 2-Amino-4,6-Dinitrotoluol

Die Komponenten sind in 100 ml Methanol gelöst. Das erklärt den starken Lösemittelpeak bei 2 min. Die Substanzen können mit dem Puffergemisch Phosphatpuffer / Acetonitril = 40 / 60 zum Teil bis zur Basislinie getrennt werden. Die Hälfte der Komponenten taucht in der Flanke einer anderen Substanz auf. Diese Trennung ist ein Hinweis darauf, daß mit der Kapillar - Elektrochromatographie sehr viele Substanzen getrennt werden können. Um die CEC stärker zu etablieren, benötigt man weitere Detektoren, die solche Trennungen besser unterstützen.

6.8 Softdrinkadditive

Substanz		pK
Thioharnstoff	<chem>NC(=S)N</chem>	
Koffein	<chem>CN1C=NC2=C1C(=O)N(C)C2=O</chem>	5,5 - 6,5
Saccharin	<chem>O=C1NC(=O)c2ccccc12</chem>	2,0
Benzoessäure	<chem>O=C(O)c1ccccc1</chem>	4,20
Vitamin C	<chem>OC1C(O)C(O)C(=O)O1</chem>	4,17 11,57

Tabelle 5.3.4-1: Substanzen, die als Softdrinkadditive Verwendung finden Die Mischung der Softdrinkadditive ist in 10 mL Wasser / Acetonitril = 50 / 50 (v/v) gelöst. Saccharin, Benzoessäure und Vitamin C werden in zwei Peaks eluiert. Hier bietet sich ebenfalls ein Detektor an, der die Fraktionen weiter auflösen kann.

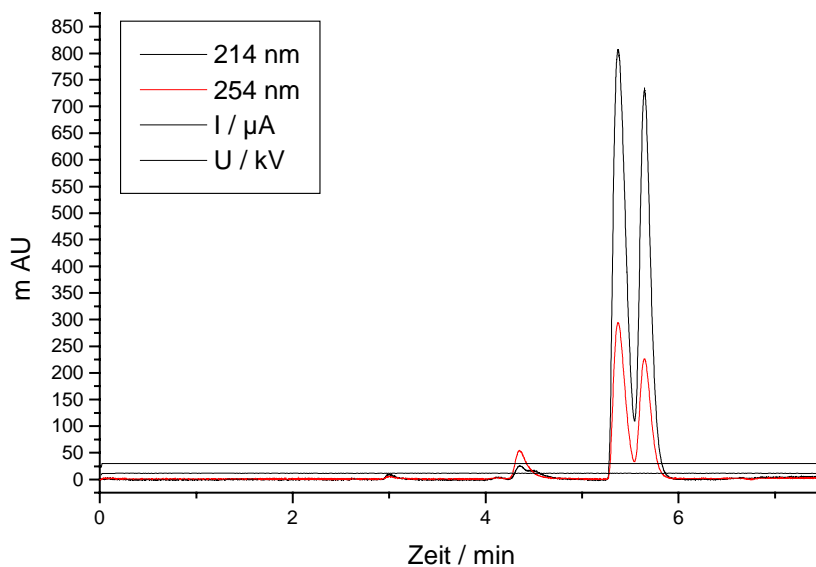


Abbildung 5.3.4-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: 50 mM Phosphatpuffer pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 214nm, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Vitamin C, Saccharin, Koffein, Benzoessäure

Puffer	mM	Probe	t ₀	Koffein	k	Vitamin C	k	Saccharin	k	Benzoessäure	k
Phosphat	20	64ph7039	2,98	5,72	0,92	4,43	0,49	5,44	0,82	6,67	1,25
Phosphat	2	64pH7054	2,9	6,51	1,24	4,77	0,65	5,92	1,04	7,37	1,54

Tabelle 5.3.4-2: Trennbedingungen für Softdrinkadditive
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: Phosphatpuffer pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Vitamin C, Saccharin, Koffein, Benzoessäure

6.9 Parabene

Parabene sind Hydroxybenzoessäureester und dienen oft als Konservierungsstoffe.

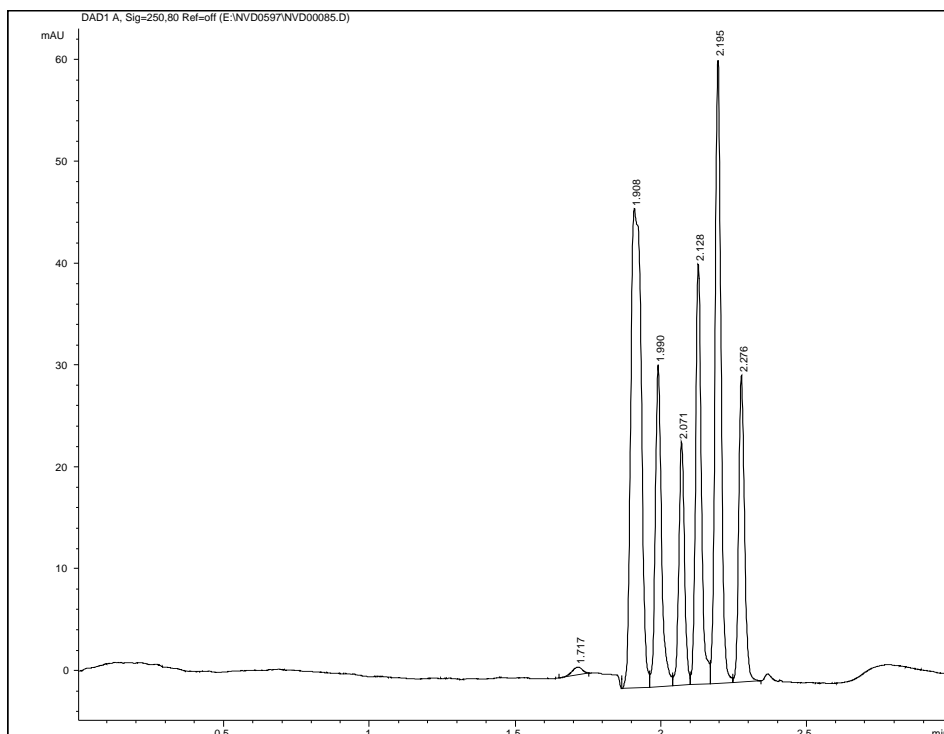


Abbildung 5.3.4-1: Trennung von Parabenen an unporösen 3,0 µm Teilchen
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS ODS 3.0µm # 2939; mobile Phase: Tris - HCl pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 250 nm; Elutionsfolge: Uracil, Phenol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Heptylparaben

Diese Trennung ist charakteristisch für unporöse Teilchen, weil die Retentionszeiten sehr gering sind und die Analyten sehr schnell hintereinander erscheinen. Diese Trennung ist in weniger als 2,5 Minuten erfolgt. Das Signal – Rausch - Verhältnis ist nahezu ideal. Durch den Zusatz von Additiven läßt sich diese Trennung etwas verlangsamen und die Analyten noch etwas weiter auseinanderziehen.

6.10 polare Mischung (Thioharnstoff, Phenol & Koffein)

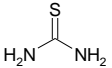
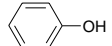
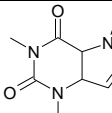
Substanz	
Thioharnstoff	
Phenol	
Koffein	

Tabelle 5.3.4-1: polare Testmischung

6.10.1 Kapillaren gepackt mit MICRA NPS 3µm ODS 2939

Bei der Charge 2939 handelt es sich um ein unporöses Kieselgel, das mit monomeren C-18-Silanen umgesetzt wurde. Die Ligandendichte soll bei nach Herstellerangaben etwa genauso groß sein, wie bei allen anderen Chargen. MICRA NPS C18 2939 soll eine hohe Silanolgruppendichte haben. Deswegen erwartet man hier einen relativ großen EOF.

ACN	t ₀	NTP _{Thioharnstoff}	t _{Phenol}	NTP _{Phenol}	K _{Phenol}	t _{Koffein}	NTP _{Koffein}	K _{Koffein}
%	min	/ Säule	min	/ Säule		min	/ Säule	
20	4,20	67.000	4,36	37.000	0,03	4,61	5.000	0,10
30	1,85	20.000	1,89	22.000	0,02	1,96	34.000	0,06
40	1,70	13.000	1,73	22.000	0,02	1,73		0,02
60	1,11	13.000	-	-	-	-	-	-

Tabelle 6.10.1-1: Einfluß des Anteils an organischem Lösemittels auf die Trennung polarer Substanzen
 Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS ODS 2939 # 15; mobile Phase: 1 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (ACN) (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Phenol, Koffein

Betrachtet man diese Tabelle, so stellt man fest, daß der Einfluß des Anteils an organischem Lösemittel für unporöse Packungsmaterialien sich ähnlich verhält wie für poröse Packungsmaterialien. Die Retentionszeiten für die Analyten werden, wie erwartet, mit zunehmenden Anteil an Acetonitril kleiner. Auffällig ist, daß sich die Testmischung nur bei einem geringen Anteil an organischen Lösemittels trennen läßt. Dies hängt mit der geringen Oberflächendichte an n-Octadecyl zusammen. Damit verlagert sich das Gleichgewicht auf die Seite der mobilen Phase. Zusätzlich lassen sich die unporösen Teilchen sehr schnell überladen.

$C_{\text{Tris HCL - Puffer}}$	t_0	$NTP_{\text{Thioharnstoff}}$	t_{Phenol}	NTP_{Phenol}	K_{Phenol}	t_{Koffein}	NTP_{Koffein}	K_{Koffein}
mM	min	/ Säule	min	/ Säule		min	/ Säule	
2	1,33	48.000	1,39	41.000	0,04			
3	1,37	45.000	1,44	40.000	0,05			
4	1,43	38.000	1,51	38.000	0,05			
5	1,43	41.000	1,50	38.000	0,05			

Tabelle 6.10.1-2: Einfluß der Pufferkonzentration auf die Retentionszeiten
Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS ODS 2939 # 13; mobile Phase: HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (ACN) = 20 / 80 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Phenol, Koffein

Der Einfluß der Pufferkonzentration spiegelt sich in den Retentionszeiten wider. Mit zunehmender Konzentration nehmen die Retentionszeiten zu. Das entspricht den Beobachtungen mit nicht retardierten Substanzen.

Bei 80% Acetonitril kann das Gemisch nicht mehr komplett getrennt werden, was in den vorangegangenen Tabellen deutlich zu sehen ist.

6.10.2 Kapillaren gepackt mit MICRA NPS 3µm ODS # 0257b

Bei der Charge 0257b handelt es sich um ein unporöses Kieselgel mit einer C18-Silanisierung. Die Ligandendichte entspricht nach Herstellerangaben der des Standardmaterials, nach seinen Angaben soll die Silanolgruppendichte geringer sein, als die der Charge 2939, damit erwartet man etwas größere Retentionszeiten für die Analyten.

ACN	U	#	Länge	t_0	$NTP_{\text{Thioharnstoff}}$	t_{Phenol}	NTP_{Phenol}	K_{Koffein}	t_{Phenol}	NTP_{Koffein}	K_{Koffein}
%	kV		cm	min	/ Säule	min	/ Säule		min	/ Säule	
70	20	9	26	4.54	8,000	4.84	57,000	0.07	4.85	22,000	0.07
70	30	9	26	3.04	7,000	3.23	17,000	0.06	3.30	164,000	0.09
80	30	11	25,5	3.68	35,000	3.71	25,000	0.01	3.82	21,000	0.04

Tabelle 6.10.2-1: Kapillare # : 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., gepackt mit MICRA NPS ODS 0257b; mobile Phase: 1 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (ACN) = 30 / 70 (v/v); Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Phenol, Koffein

Man sieht, daß bei dieser Charge selbst mit 70 und auch 80% Acetonitril die Testmischung getrennt werden kann, weil der Kohlenstoffgehalt größer ist. Die Retentionszeiten sind etwas höher als bei 2939 und damit liegt die Messung im Trend.

6.10.3 Kapillaren gepackt mit MICRA NPS 3,0 µm ODS 2917

Bei der Charge 2917 handelt es sich um ein unporöses Kieselgel, das mit C-18 Silanen umgesetzt wurde. MICRA NPS C18 2939 soll nach Angaben des Herstellers eine sehr geringe Silanoldichte haben, weil es Nachsilanisiert wurde. Wegen dieser Nachbehandlung erwartet man hier einen sehr geringen EOF.

t ₀	NTP _{Thioharnstoff}	t _{Phenol}	NTP _{Phenol}	K _{Phenol}	t _{Koffein}	NTP _{Koffein}	K _{Koffein}
min	/ Säule	min	/ Säule		min	/ Säule	
2,76	41,000	2,80	11,000	0,01	2,88	17,000	0,04

Tabelle 6.10.3-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25,8 cm gepackt mit MICRA NPS ODS 2917 # 4 3 µm; mobile Phase: 1 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (ACN) = 20 / 80 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Phenol, Koffein

Wie erwartet, ist der EOF bei dieser Charge sehr langsam. Damit kann gezeigt werden, daß der EOF mit der Silanolgruppendichte zusammenhängt. Durch den geringen EOF können alle drei Substanzen voneinander getrennt werden, weil mehr Zeit zur Verfügung steht, das Gleichgewicht zwischen stationärer Phase und mobiler Phase einzustellen.

6.10.4 Kapillaren gepackt mit Hypersil ODS 3 µm

U	t ₀	NTP _{Thioharnstoff}	t _{Phenol}	NTP _{Phenol}	K _{Phenol}	t _{Koffein}	NTP _{Koffein}	K _{Koffein}
kV	min	/ Säule	min	/ Säule		min	/ Säule	
10	11,31	21.000	11,73	20.000	0,04	13,04	64.000	0,15
20	5,33	22.000	5,54	20.000	0,04	6,16	24.000	0,15
25	5,06	15.000	5,25	68.000	0,04	5,84	80.000	0,15
30	4,98	18.000	5,13	13.000	0,03	5,69	17.000	0,14

Tabelle 6.10.4-1: Hypersil ODS; 80/20 = ACN/25 mM Tris pH 8 (v/v); 21 cm x 100 µm Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm; mobile Phase: 1 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (ACN) 20 / 80 (v/v); Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Phenol, Koffein

Auf den porösen Hypersil Materialien läßt sich die polare Mischung unproblematisch trennen. Die Retentionskoeffizienten bleiben bei unterschiedlichen Feldstärken konstant. Sie sind, wie erwartet, wesentlich größer als bei den unporösen Packungsmaterialien gleicher Größe!

6.10.5 Kapillaren gepackt mit MICRA NPS 1,5 µm ODS 2734

ACN	C _{Tris}	U	t ₀	NTP _{Thioharnstoff}	t _{Phenol}	NTP _{Phenol}	K _{Phenol}	t _{Koffein}	NTP _{Koffein}	K _{Koffein}
%	mM	kV	min	/ Säule	min	/ Säule		min	/ Säule	
20	20	25	9,11	48,000	9,95	55,000	0,09	11,66	80,000	0,28
20	20	30	6,80	42,000	7,47	7,000	0,10	8,30	87,000	0,22
40	3	20	6,19	43,000	6,30	19,000	0,02	6,70	40,000	0,08
40	3	25	5,12	62,000	5,21	16,000	0,02	5,52	24,000	0,08
40	3	30	3,79	63,000	3,86	16,000	0,02	4,08	33,000	0,08
40	15	5	27,30	78,000	29,12	167,000	0,07			
40	15	15	8,71	16,000	9,24	31,000	0,06	-	-	-
40	15	25	4,84	14,000	5,12	28,000	0,06	-	-	-
60	10	20	4,02	44,000	4,07	79,000	0,01	-	-	-
60	10	20	4,04	41,000	4,09	69,000	0,01	-	-	-

Tabelle 6.10.5-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 21,5 cm gepackt mit MICRA NPS ODS 2734 # 10, 1,5 µm; mobile Phase: Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (ACN) (v/v); Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Phenol, Koffein

Die Retentionskoeffizienten bleiben bei der jeweiligen Pufferkonzentration und entsprechendem Anteil an organischem Lösemittel bei variablem elektrischen Feld konstant. Die Retentionszeiten nehmen bei höheren Pufferkonzentrationen zu. Bei höherem Anteil an organischem Lösemittel werden die Retentionszeiten kleiner. Diese Beobachtungen spiegelt die Erfahrung von unretardierten Substanzen wider.

U	t ₀	NTP _{Thioharnstoff}	t _{Phenol}	NTP _{Phenol}	K _{Phenol}	t _{Koffein}	NTP _{Koffein}	K _{Koffein}
kV	min	/ Säule	min	/ Säule		min	/ Säule	
kV	RT /min	NTP / Säule	RT /min	NTP / Säule	k	RT /min	NTP / Säule	k
20	2.97	90,000	3.03	60,000	0.02	3.11	89,000	0.05
30	1.92	101,000	1.96	66,000	0.02	2.02	102,000	0.05
30	1.94	99,000	1.98	66,000	0.02	2.04	102,000	0.05
30	2.00	95,000	2.04	63,000	0.02	2.09	96,000	0.05
30	2.04	95,000	2.08	63,000	0.02	2.14	95,000	0.05

Tabelle 6.10.5-2: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 26 cm gepackt mit MICRA NPS ODS 2734 # 13 1,5 µm; mobile Phase: 1 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (ACN) (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Phenol, Koffein

Diese Tabelle soll demonstrieren, daß eine einzelne Kapillare in sich sehr reproduzierbar arbeitet. Die Retentionskoeffizienten stimmen miteinander überein und die Retentionszeiten liegen sehr nahe beieinander.

6.10.6 Kapillaren gepackt mit MICRA NPS 1,5 µm ODS 2930

Spannung	t ₀	NTP _{Thioharnstoff}
kV	min	/ Säule
10	5,06	66.000
15	3,55	32.000
20	3,12	34.000
30	1,95	35.000

Tabelle 6.10.6-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 23 cm gepackt mit MICRA NPS ODS 2930 # 25, 1,5 µm; mobile Phase: 1 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (ACN) = 20 / 80 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Phenol, Koffein

Aus dieser Tabelle läßt sich herauslesen, daß bei 80% Acetonitril die Testmischung nicht mehr getrennt wird, daß allerdings die EOF-Geschwindigkeit recht hoch ist. Der Totzeitmarker erscheint in weniger als zwei Minuten bei 30 kV.

6.10.7 Zusammenfassung der Ergebnisse

Vergleicht man bei der polaren Mischung die Ergebnisse der Kapillaren gepackt mit Teilchen gleicher Größe, so verhalten sie sich adäquat zur Theorie. Die Trennung mit unporösen Teilchen ist „schneller“ als die an porösen. Das liegt daran, daß die porösen Teilchen eine wesentlich größere Oberfläche besitzen, die auch bei der Silanisierung zur Verfügung steht. Damit besitzen die porösen Teilchen einen wesentlich größeren Kohlenstoffgehalt und damit Wechselwirken die Analyten stärker mit der stationären Phase und die Retentionszeit nimmt zu.

Bei den unporösen Teilchen läßt sich die Beladung der Oberfläche mit C18-Alkylketten bzw. die Silanolgruppendichte sehr schön an den Retentionszeiten und den Retentionskoeffizienten ablesen. Die Retentionszeiten der 1,5 µm Teilchen sind nicht schneller als die der 3,0 µm Teilchen, und sie besitzen zusätzlich noch eine kleinere Bodenhöhe, die bei den hohen Flüssen erreicht wird.

6.11 Steroide nach Kraak

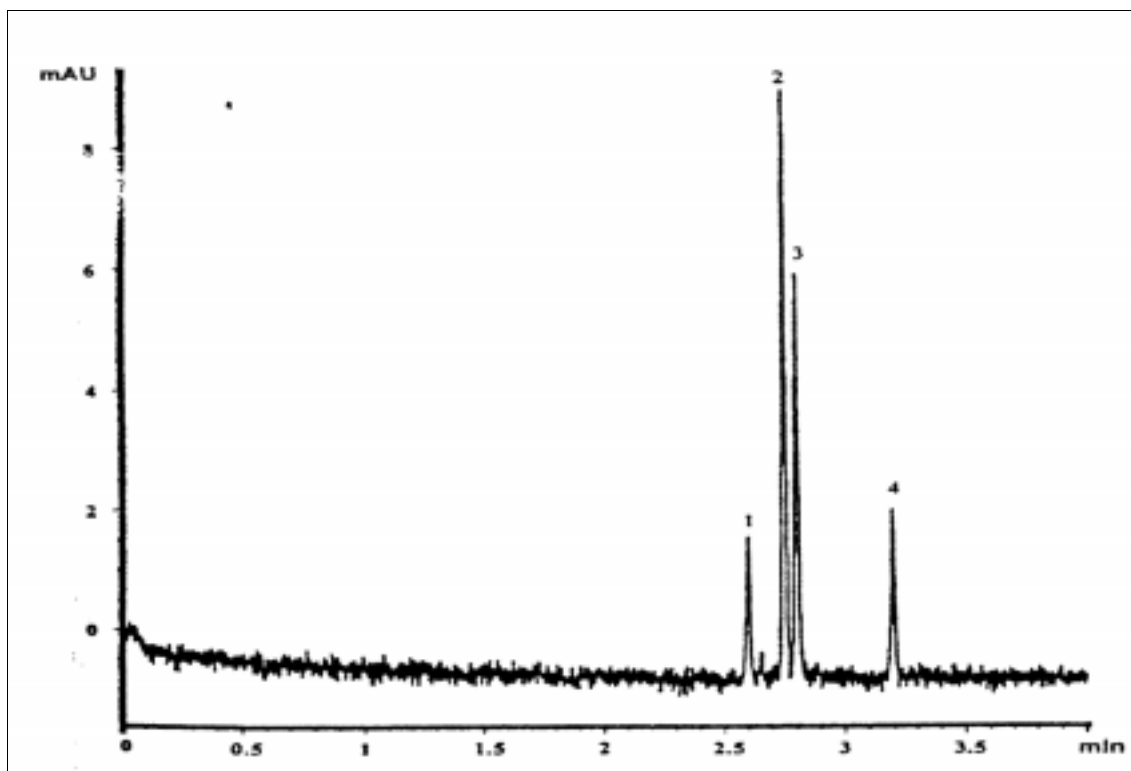


Abbildung 6.10.7-1: Trennung von Steroiden mit 1,5 μm NPS^[33]; Kapillare: 100 μm I.D., 32 cm gepackt mit Chromsphere ODS 1,5 μm , mobile Phase: Wasser / Acetonitril = 40 / 60 (v/v) + 5 mM SDS + 1,6 mM Natriumtetraborat; Spannung: 20 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: 1 = Hydrocortison, 2 = Testosteron, 3 = 17- μ -Methyltestosteron 4 = Progesteron

Mit der Trennung der Steroide in weniger als drei Minuten haben Kraak und Poppe^[33] gezeigt, welches Potential in den unporösen Teilchen steckt. Durch die Additive haben sie die Trennung optimiert.

6.12 Xanthine 1

Substanz		pK	Einwaage / mg
Thioharnstoff	<chem>NC(=S)N</chem>		10
Saccharin	<chem>O=C1NC(=O)c2ccccc12S(=O)(=O)N</chem>	2,0	19,7
Guanin	<chem>NC1=NC2=C(N1)N=CN=C2=O</chem>	3,3 9,2 12,3	21,7
Purin	<chem>C1=NC2=C(N1)N=CN=C2</chem>		10
Harnsäure	<chem>O=C1NC(=O)NC2=C1N=CN2</chem>		19,6
Adenin	<chem>NC1=NC=NC2=C1N=CN2</chem>	5,5 - 7,5	21,9

Tabelle 6.10.7-1: Bestandteile der Testmischung Xanthine 1

Die Xanthine sind in 10 mL Acetonitril gelöst. Wie erwartet, zeigen die Peaks „Tailing“, weil Basen dazu neigen, mit den freien Silanolgruppen in Wechselwirkung zu treten.

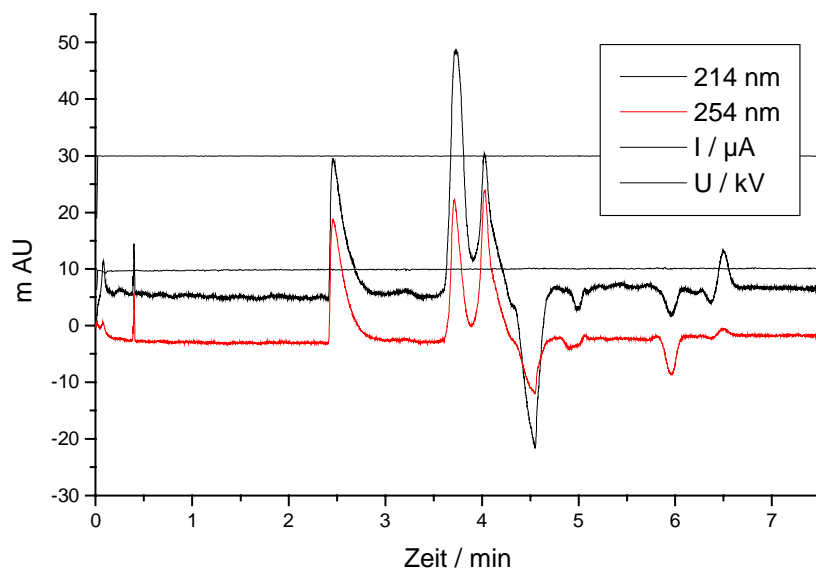


Abbildung 6.10.7-1: Trennung von Xanthinen mit der Kapillar – Elektrochromatographie
 Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm ; mobile Phase: 50 mM Phosphat-Puffer pH 7 / Acetonitril 40 / 60 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Saccharin, Guanin, Purin, Harnsäure, Adenin.

6.13 Xanthine 2

Substanz		pK	Einwaage / mg
Thioharnstoff	<chem>NC(=S)N</chem>		10
Koffein	<chem>CN1C=NC2=C1C(=O)N(C)C2=O</chem>	5,5 - 6,5	22,8
Saccharin	<chem>O=C1NC(=O)c2ccccc2S1(=O)=O</chem>	2,0	24,5
Theophyllin	<chem>CN1C=NC2=C1C(=O)N(C)C2=O</chem>	8,77 13,5 11,5	21,2
Theobromin	<chem>CN1C=NC2=C1C(=O)N(C)C2=O</chem>	≈ 10	22,3
Harnsäure	<chem>C1=NC2=C(N1)C(=O)N=CN2C(=O)O</chem>		17,6

Tabelle 6.10.7-1: Testmischung Xanthine 2

Die Analyten sind in 10 ml Acetonitril gelöst. Die Substanzen werden annähernd getrennt, obwohl es sich um Isomere handelt, die sich nur in der Position der Methylgruppen unterscheiden. Die Trennung erfolgt in weniger als 7 min. Auch hier würde ein Detektor, der die Trennung stärker auflöst weiterhelfen.

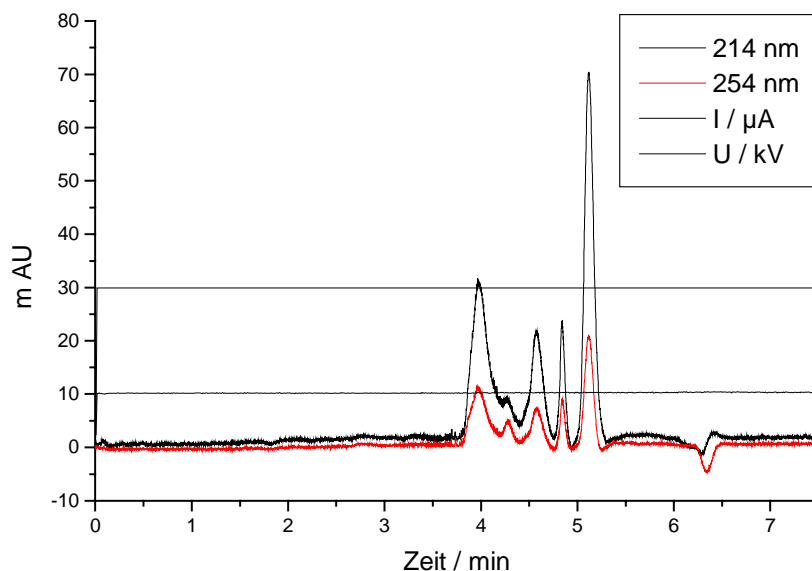


Abbildung 6.10.7-1: Trennung von Xanthinen mit der Kapillar – Elektrochromatographie
 Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm ; mobile Phase: 50 mM Phosphat-Puffer pH 7 / Acetonitril 40 / 60 (v/v); Spannung: 30 kV; Detektion: UV, 254 nm; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Saccharin, Koffein, Theophyllin, Theobromin, Harnsäure

6.14 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Kapillar - Elektrochromatographie eignet sich sowohl zum Trennen von unpolaren als auch von polaren und ionischen Verbindungen.

Die unpolaren Analyten sind unproblematisch, sie lassen sich scharf voneinander trennen. Am Beispiel von den Alkylbenzolen und der EPA - Mischung konnte gezeigt werden, daß die unpolaren Analyten nach ihrer Molmasse eluiert werden.

Als Beispiel für eine polare Mischung wurden Thioharnstoff, Phenol und Koffein gewählt. Thioharnstoff dient als unretardierte Substanz und markiert das Totvolumen, Phenol ist leicht polar und leicht sauer und Koffein ist stark polar. Dieses Testgemisch wurde in Kapillaren injiziert, die mit porösen und unporösen Kieselgelen gepackt sind. Die Einflüsse des Anteils an organischem Lösemittel in dem Fließmittelgemisch verhalten sich bei beiden Packungsmaterialien ähnlich, je größer der Anteil ist desto schneller und desto unselektiver werden die Analyten eluiert. Bei den Kapillaren mit den unporösen Packungsmaterialien muß der Anteil an organischem Fließmittel wesentlich kleiner sein, um die Analyten trennen zu können. Die Trennung auf den Kapillaren mit den unporösen Kieselgelen erfolgt ca. doppelt so schnell, wie auf denen mit porösen Packungsmaterialien unter gleichen Bedingungen. Das liegt an dem geringen Kohlenstoffgehalt und dem damit Verbundenen Gleichgewicht, das sich schneller einstellt. Vergleicht man die Trennung mit Kapillaren, die mit 1,5 µm unporösem Kieselgel gepackt ist, so stellt man fest, daß diese Trennung dreimal so schnell erfolgt wie die auf einer Kapillare mit einem porösen 3 µm Kieselgel. Hier geht neben dem geringen Kohlenstoffgehalt noch der kleinere Teilchendurchmesser ein.

Die basischen Analyte werden mit dem EOF in Richtung Detektor beschleunigt, damit reduziert sich ihre Analysezeit. Die unretardierten basischen Analyte können eher detektiert werden als der Totzeitmarker. Am Beispiel eines Testgemisches für Sprengstoffe und ihre Zersetzungsprodukte konnte gezeigt werden, daß die Effizienz dieser Analysemethode sehr hoch ist. Die Analyte sind Derivate und Zersetzungsprodukte von TNT. Als funktionelle Zentren treten Nitro- und Aminogruppen auf. Diese Gemisch wurde bei pH 8 getrennt, weil die funktionellen Gruppen dort keine zusätzlichen Ladungen tragen. Am Beispiel der Anilinderivate kann gezeigt werden, daß dieses Testgemisch von der Kapillar Elektrochromatographie mit einem Standard-Puffer-Gemisch getrennt werden kann. Durch den Zusatz von einem Micellenbildner (SDS) wird die Trennung im Vergleich zum reinen Fließmittelgemisch verlangsamt, es ergibt sich keine wesentliche Verbesserung der Trennung. Mit Triethylamin (TEA) als Additiv zum Puffer kann die Analysenzeit verkürzt und verbessert werden. TEA ist bei einem pH-Wert von 2,6 protoniert und führt damit zu einer Erhöhung des EOF. Die Wechselwirkungen der basischen Analyten mit der stationären Phase ist vermindert, weil die Analyten bei diesem pH ebenfalls protoniert sind und von dem Triethylamoniumionen aus der stationären Phase verdrängt werden. Mit der Testmischung

der Xanthine stößt man an die Grenzen der Kapillar – Elektrochromatographie. Einerseits zeigt das Puringerüst Wechselwirkungen mit den C18-Silanen andererseits befinden sich N-Atome im Ring, die eine hohe Affinität zu den freien Silanolgruppen des Kieselgels haben. Damit beobachtet man starkes Tailing bei der Trennung dieser Analyten.

Als Beispiel für eine Mischung von sauren Analyten, wurden Benzoessäurederivate getrennt. Diese Analyten lassen sich bei einem Lösemittelgemisch von Phosphat Puffer / Acetonitril bei 60- und 80-Volumenprozent Acetonitril trennen. Gibt man zu dem Fließmittel SDS als Additiv, so kann die Analysenzeit um ein Drittel werden, ohne die Selektivität zu beeinflussen. Durch die Micellenbildung wird die Wechselwirkung mit der stationären Phase herabgesetzt und damit die Analysenzeit verkürzt. Gibt man Triethylamin als Additiv zum Fließmittel dazu, so bildet sich ein Ionenpaar aus den Analyten und dem Additiv. Die Analyten können sauber getrennt werden, allerdings steigt die Analysenzeit auf das Eineinhalbfache des Fließmittelgemisches ohne Additiv.

Auch Zwitterionen lassen sich mit der CEC trennen, wie am Beispiel der Aminosäuren gezeigt werden kann. Bei pH 7 sind alle Säuregruppen deprotoniert, und die Seitengruppen sind zum Teil noch geladen, damit lassen sich die Aminosäuren nach der Ladung und der Größe trennen.

7. Druckunterstützte CEC / spannungsunterstützte μ -HPLC.

7.1 Aufbau des Systems

Das zur Verfügung stehende Gerät läßt sich in mehreren Modi betreiben, es ist ein kommerzielles Kapillar Elektrophorese Gerät (HP CE^{3D}), das durch den Gasdruck, den man an die Puffervorratsgefäße anlegen kann, für die reine CEC hervorragend geeignet ist. In Verbindung mit einer HPLC – Anlage (HP 1100) kann es als Detektor für die μ -HPLC dienen. Durch die Kombination der HPLC und der CEC, kann das Gerät als druckunterstützte CEC bzw. als spannungsunterstützte μ -HPLC verwendet werden.

Die HPLC - Anlage benutzt man, um den hydrodynamischen Fluß zu erzeugen und die Analyten zu injizieren. Der Fluß über die gepackte Kapillare wird durch einen HPLC - T - Adapter reduziert. An das Titan T-Stück sind die „fused silica“ - Kapillaren mit totvolumenfreien Verbindungsstücken befestigt. Die 17,5 cm lange Kapillare (75 μ m iD), die von Autosampler kommt, trifft auf die Öffnung der gepackten Kapillare. Beide Kapillarenden müssen dafür ganz gerade geschnitten sein, damit keine Verwirbelungen auftreten. Senkrecht dazu zweigt eine 3 m lange Kapillare (75 μ m) ab, über die der Großteil des Flusses abgeleitet wird und die den nötigen Gegendruck aufbaut. Am anderen Ende der gepackten Kapillare befindet sich eine Z - Zelle, deren zweiter Ausgang durch eine 75 μ m Kapillare mit einem Puffergefäß verbunden ist.

Wird die Anlage als μ -HPLC betrieben, dann dient die gesamte Kapillar Elektrophorese nur als Detektor. Bei der spannungsunterstützten μ -HPLC legt man zusätzlich zu dem hydrodynamischen Fluß ein elektrisches Feld an. Die Hochspannung legt man bei der reinen CEC an die Puffergefäße an, da die Elektronik des Autosamplers beschädigt wird, wenn man ihn als Elektrode benutzt, erdet man das T-Stück und legt eine Hochspannung an die Elektrode an, die in das Ausgangspuffergefäß eintaucht.

Der effektive Fluß durch die Kapillare läßt sich mit einer Stoppuhr messen, wenn man hinter der Z-Zelle eine Luftblase beobachtet, die eine Strecke definierter Länge zurücklegt. Der Fluß wird für die ungepackten Kapillare bestimmt, die hinter der Detektionszelle ist. Das Volumen bestimmt man aus der Kreisfläche (75 μ m ID) und der Länge der gemessenen Strecke. Der gleiche Fluß muß auch die gepackte Kapillare passiert haben, nur das man dort das Totvolumen nicht kennt. Damit ergeben sich folgende Werte:

Packungsbett [cm]	Zeit [min]	Strecke [cm]	eff. Fluß [pl/min]
25	1,49	10	266
20	1,19	10	372
15	1,40	12,5	394

Tabelle 6.10.7-1: effektiver Fluß durch die gepackte Kapillare
Kapillare: 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., vollständig gepackt mit Hypersil ODS 3 μ m;
mobile Phase: 20 mM Phosphat-Puffer pH 6,8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v).

Erwartungsgemäß nimmt der effektive Fluß durch die Kapillare mit abnehmender Länge des Packungsbettes zu, was hier auch der Fall ist. Mit 200 bis 400 pL / min ist der effektive Fluß sehr gering.

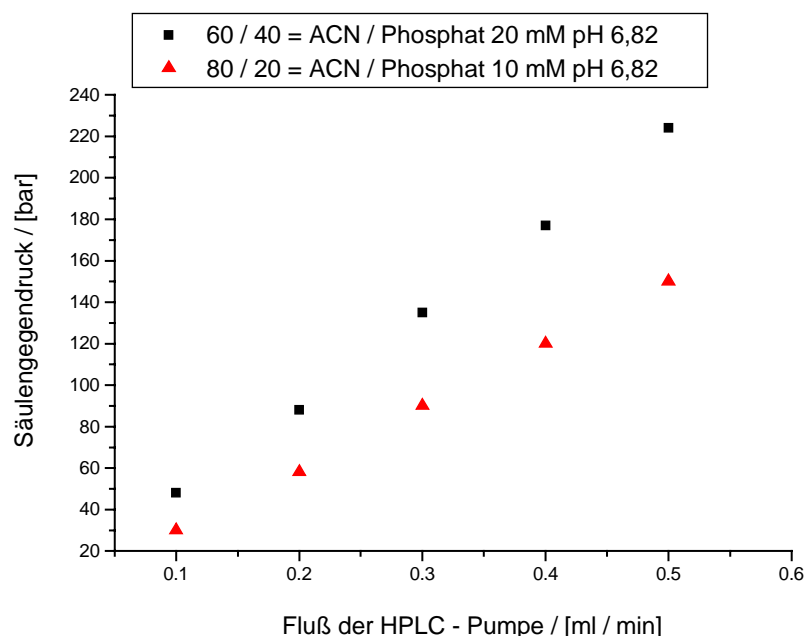


Abbildung 6.10.7-1: Kapillargegendruck gegen den Fluß der μ -HPLC
Kapillare: 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., vollständig gepackt mit Hypersil ODS 3 μ m;
mobile Phase: Phosphat-Puffer pH 6,8 / Acetonitril (v/v).

Nach dem Gesetz von HAGEN POISEUILLE ^[12] erwartet man einen linearen Zusammenhang zwischen dem Fluß und dem Säulengegendruck. Das läßt sich sehr schön anhand der Graphik bestätigen. Acetonitril besitzt eine größere Viskosität als Phosphatpuffer, deswegen

ist die Steigung der Geraden bei Verwendung von 60-Vol% Acetonitril größer, als die des Eluenten mit 80-Vol% Anteil. Dies ist als erstes Indiz für ein funktionsfähiges System zu werten.

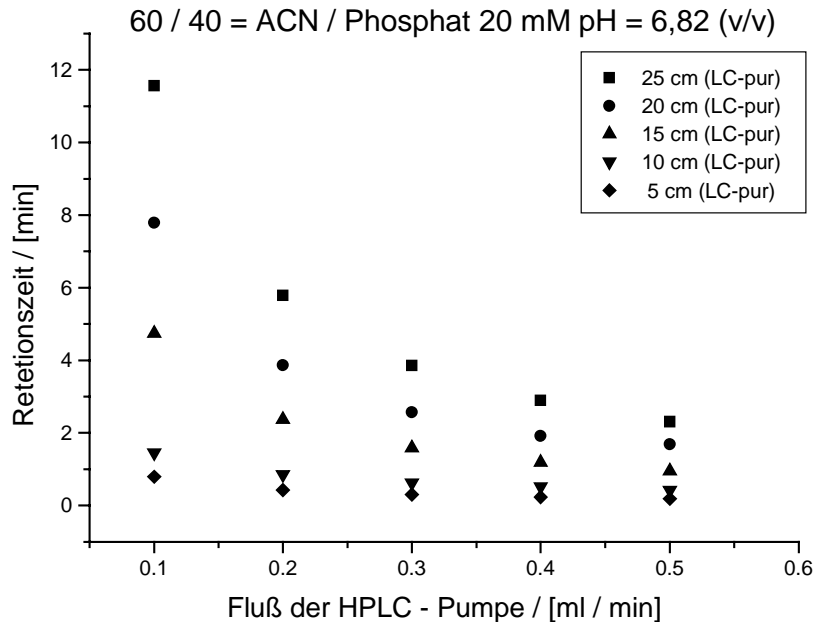


Abbildung 6.10.7-2: Auftragung der Retentionszeit gegen den Fluß in der μ -HPLC
Kapillare: 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., vollständig gepackt mit Hypersil ODS 3 μ m;
mobile Phase: 20 mM Phosphat-Puffer pH 6,8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v).

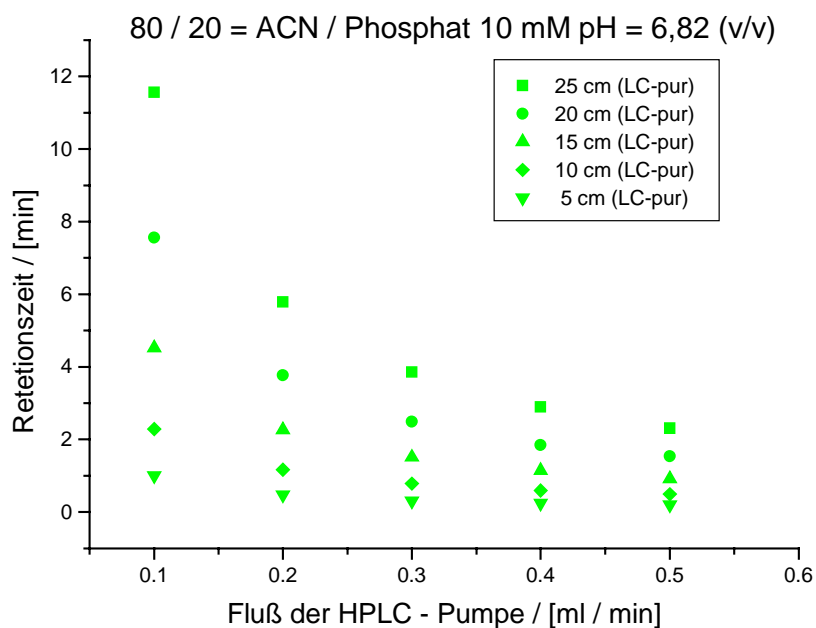


Abbildung 6.10.7-3: Auftragung der Retentionszeit gegen den Fluß in der μ -HPLC; Kapillare: 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., vollständig gepackt mit Hypersil ODS 3 μ m;
mobile Phase: 10 mM Phosphat-Puffer pH 6,8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v).

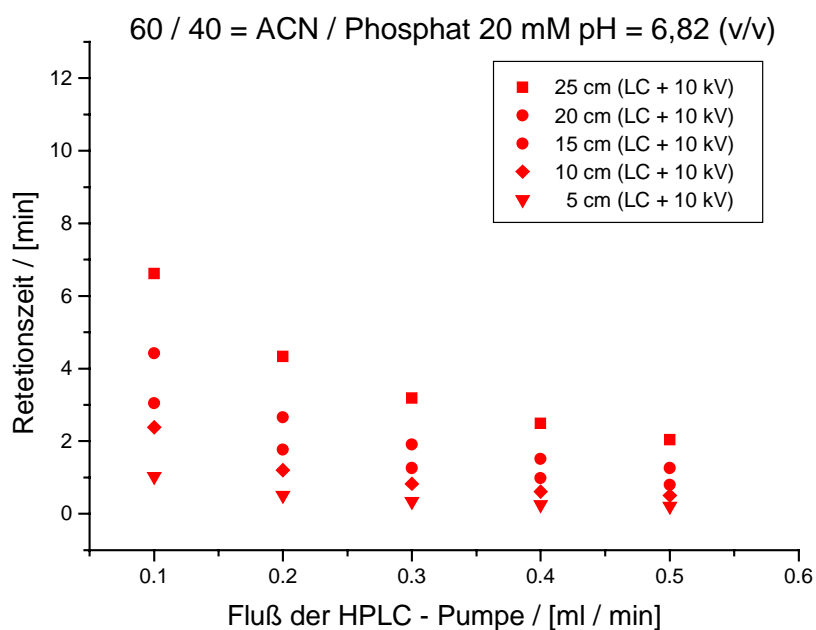


Abbildung 6.10.7-4: Auftragung der Retentionszeit gegen den Fluß in der spannungsunterstützten μ -HPLC; Kapillare: 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., vollständig gepackt mit Hypersil ODS 3 μ m; mobile Phase: 20 mM Phosphat-Puffer pH 6,8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v).

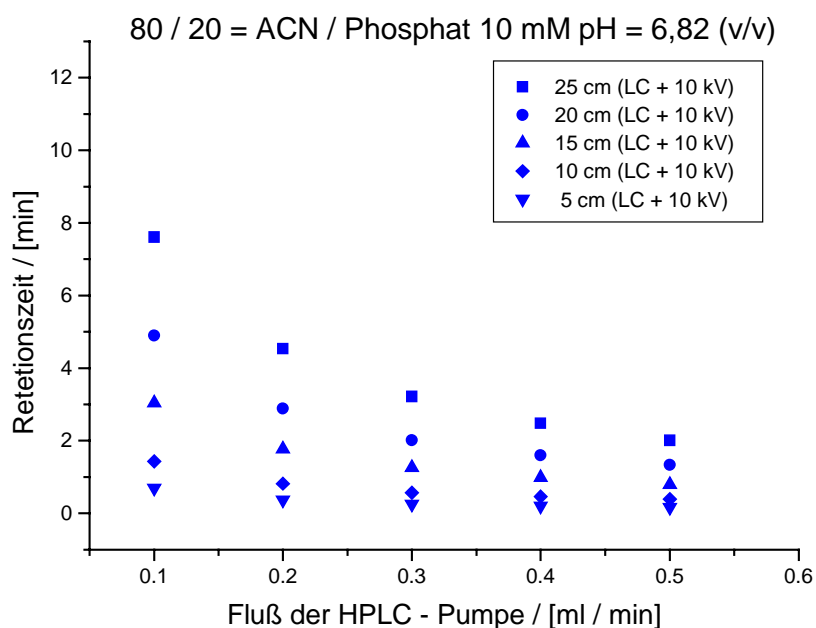


Abbildung 6.10.7-5: Auftragung der Retentionszeit gegen den Fluß in der spannungsunterstützten μ -HPLC; Kapillare: 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., vollständig gepackt mit Hypersil ODS 3 μ m; mobile Phase: 10 mM Phosphat-Puffer pH 6,8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v).

Wie erwartet fallen die Kurven exponentiell mit zunehmender Flußgeschwindigkeit und abnehmender Kapillarlänge ab. Das gilt für alle gemessenen Kurven., ob es sich um reine μ -HPLC handelt oder um die elektrisch unterstützte μ -HPLC. Wegen der höheren Viskosität von Acetonitril im Vergleich zum Phosphat – Puffer sind die Retentionszeiten für 80-Vol% Acetonitril - Gehalt etwas größer. Bei den Kurven kann man feststellen, daß durch Anlegen eines elektrischen Feldes die Retentionszeiten wesentlich kleiner werden. Diese Beobachtung ist erwünscht, weil damit gezeigt werden kann, daß EOF und hydrodynamischer Fluß einander unterstützen können.

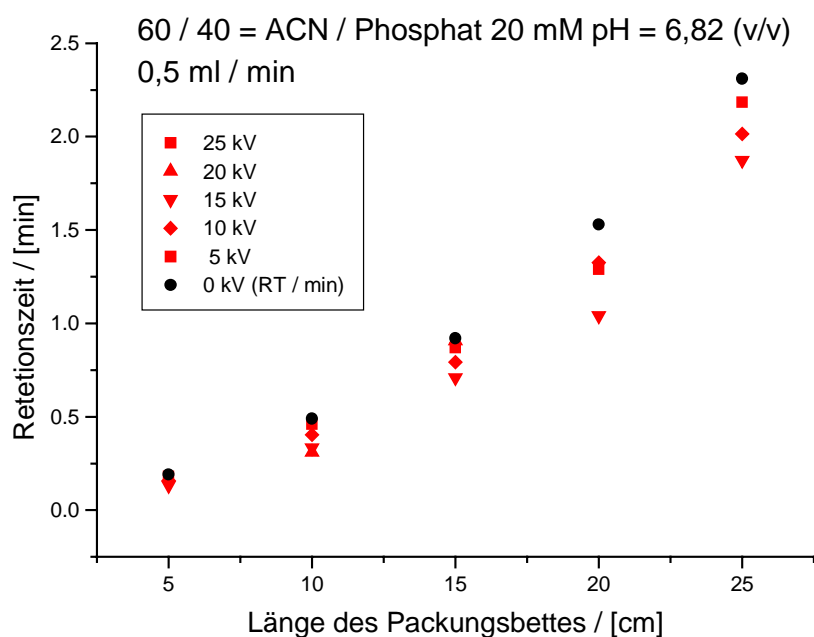


Abbildung 6.10.7-6: Auftragung der Retentionszeit gegen die gepackten Länge der Kapillare in der μ -HPLC und der elektrisch unterstützten μ -HPLC
Kapillare: 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., vollständig gepackt mit Hypersil ODS 3 μ m;
mobile Phase: 20 mM Phosphat-Puffer pH 6,8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v).

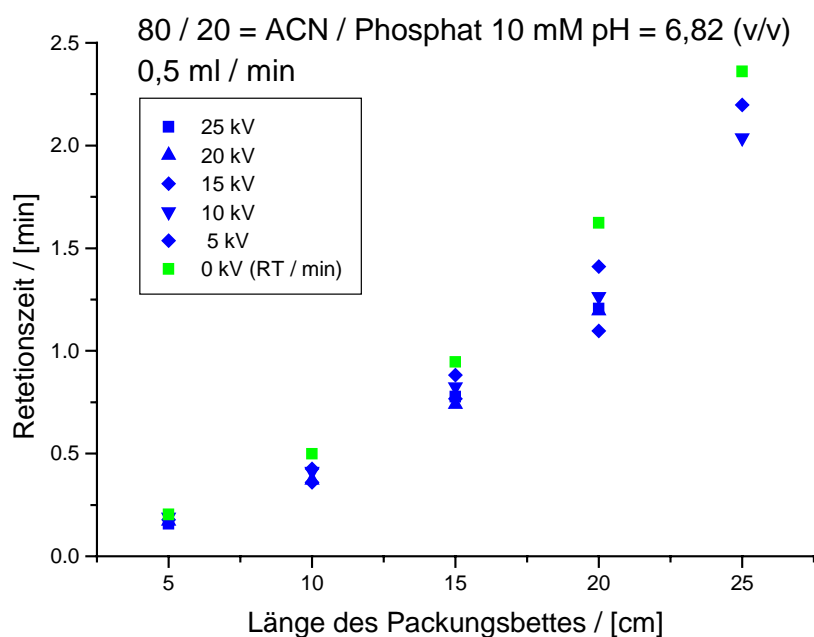


Abbildung 6.10.7-7: Auftragung der Retentionszeit gegen die gepackten Länge der Kapillare in der μ -HPLC und der elektrisch unterstützten μ -HPLC
Kapillare: 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., vollständig gepackt mit Hypersil ODS 3 μ m;
mobile Phase: 10 mM Phosphat-Puffer pH 6,8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v).

Betrachtet man die Auftragung der Kapillarlänge gegen die Retentionszeit, so ist der lineare Zusammenhang deutlich zu sehen. Es ist offensichtlich, daß ohne elektrisches Feld die Retentionszeiten am größten sind und damit der elektroosmotische Fluß (EOF) additiv zur hydrodynamischen Mobilität wirkt.

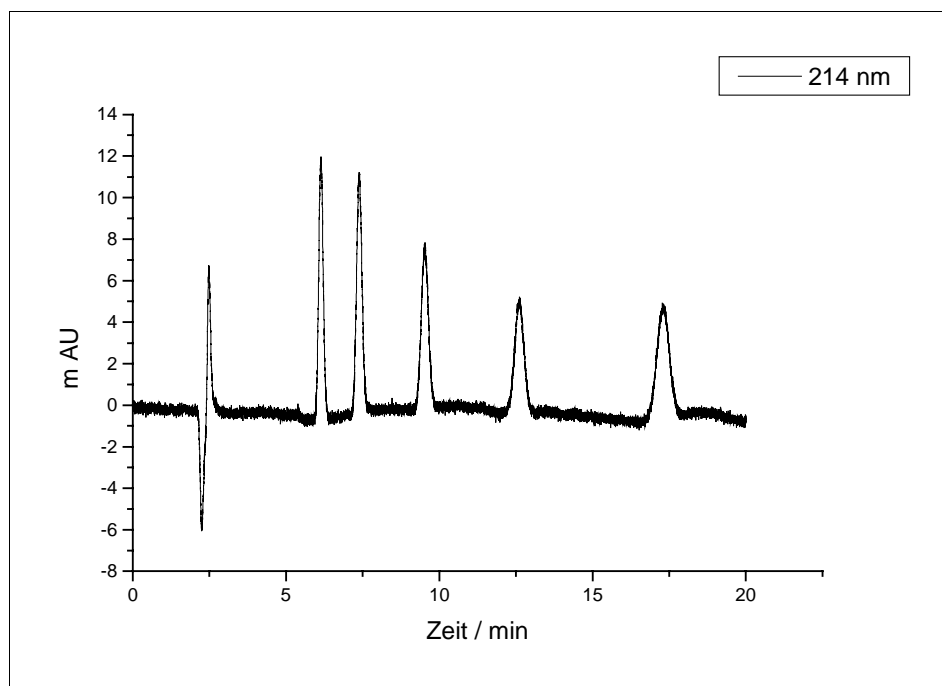


Abbildung 6.10.7-8: Trennung von Alkylbenzolen mit der μ -HPLC

Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μ m; mobile Phase: 20 mM Phosphat-Puffer pH 6,8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Fluß 0,5 ml / min; Split: Titan T-Stück, Kapillare 300 cm Gesamtlänge, 360 μ m AD 75 μ m ID, leer; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Toluol, Ethylbenzol, Propylbenzol, Butylbenzol, Pentylbenzol

Innerhalb von 18 Minuten lassen sich alle Alkylbenzole in der Kapillarflüssigchromatographie sauber voneinander trennen. Die Peaks sind sehr symmetrisch und das Signal-Rausch-Verhältnis ist sehr gut. Legt man zusätzlich zu dem hydrodynamischen Fluß von 0,5 ml / min eine Spannung von 20 kV an, so reduziert sich die Gesamtanalysenzeit um 5 Minuten.

U	t_0	t_{Toluol}	k_{Toluol}	$t_{\text{Ethylbenzol}}$	$k_{\text{Ethylbenzol}}$	$t_{\text{Propylbenzol}}$	$k_{\text{Propylbenzol}}$	$t_{\text{Butylbenzol}}$	$k_{\text{Butylbenzol}}$	$t_{\text{Pentylbenzol}}$	$k_{\text{Pentylbenzol}}$
kV	min	min		min		min		min		min	
0	2,68	6,40	1,39	7,67	1,87	9,83	2,67	12,90	3,82	17,56	5,56
20	2,11	4,67	1,22	5,56	1,64	7,07	2,36	9,22	3,38	12,45	4,91

Tabelle 6.10.7-2: Trennbedingungen von Alkylbenzolen mit der spannungsunterstützten μ -HPLC
 Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μ m I.D., 360 μ m A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μ m; mobile Phase: 4 mM Phosphat-Puffer pH 6,8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Fluß 0,5 ml / min, Druck 200 bar; Split: Titan T-Stück, Kapillare 300 cm Gesamtlänge, 360 μ m AD 75 μ m ID, leer; Elutionsfolge: Thioharnstoff, Toluol, Ethylbenzol, Propylbenzol, Butylbenzol, Pentylbenzol

Bei der Totzeit unterscheiden sich beide Systeme nur um eine halbe Minute. Bei den retardierten Substanzen ergibt sich eine Differenz von 5 min. Das läßt sich gut an den Retentionskoeffizienten ablesen, die bei der μ -HPLC immer größer sind als für spannungsunterstützte μ -HPLC. Damit lassen sich die retardierten Substanzen im Hybridsystem positiv beeinflussen und der hydrodynamische Fluß läßt sich mit dem EOF kombinieren.

7.2 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die spannungsunterstützte μ -HPLC eignet sich hervorragend, um die Funktionsweise der Kapillar - Elektrochromatographie zu verstehen:

- Die μ -HPLC arbeitet bei langsamen Flußgeschwindigkeiten im ungünstigen Bereich der H vs u Kurve. Dort überwiegt der Einfluß der Eddy Diffusion und des kinetischen Massenaustausches.
- Es besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der Totzeit und der Länge der gepackten Kapillare, was man nach HAGEN POISEUILLE erwartet.
- Der elektroosmotische und der hydrodynamische Fluß lassen sich unproblematisch miteinander addieren, womit die Trennungen beschleunigt werden können.

Zusammenfassend läßt sich spannungsunterstützte μ -HPLC als eine Anlage beschreiben, die nicht unter optimalen Bedingungen arbeitet, weil zu viele Kompromisse gemacht werden, um alle Komponenten miteinander verbinden zu können. Die Verbindung von Autosampler bis zum T - Stück ist mit 17,5 cm schon zu lang. Näher bekommt man die Geräte allerdings nicht aneinander gestellt. Bei einem neuen Aufbau wäre es sinnvoll, eine Spritzenpumpe zu verwenden, die den entsprechend kleinen Fluß ohne Split erzeugen kann. In Kombination mit einem totvolumenarmen Injektionsventil, an das die gepackte Kapillare direkt angeschlossen werden kann, läßt sich die Effizienz der Anlage steigern. Hinzu kommt die Tatsache, daß der Verbrauch des Puffergemisches, durch den Split, in der Größenordnung einer normalen HPLC - Anlage ist und damit den großen Vorteil einer Kapillar - Elektrochromatographie ad absurdum führt. Die Kapillar - Elektrochromatographie hat in der spannungsunterstützte μ -HPLC den Nachteil, daß auf die Kapillarenden kein externer Stickstoffdruck ausgeübt werden kann, der das Ausgasen innerhalb der Kapillare verhindern könnte. Damit lassen sich nicht so gute Ergebnisse erreichen, wie im reinen CEC Modus, weil die Gasblasen den EOF verringern.

Bei einem optimaleren System lassen sich unproblematisch die Vorteile beider Methoden vereinen, die hohe Auflösung der Kapillar Elektrochromatographie kombiniert mit dem weiten Bereich der Fließmittelzusammensetzung der HPLC. Das Nonplusultra dieser Kombination ist die Gradienten CEC, auf die in dieser Arbeit nicht näher eingegangen wurde, das dieses spannungsunterstützte μ -HPLC System zuviel Totvolumen aufweist.

8. Anhang & Tabellen

8.1 Weiterführende Modelle zur Theorie

8.1.1 Das Modell von GOUY – CHAPMAN

Eine ebene Fläche trägt eine negative Ladung und besitzt eine gleichmäßige Ladungsverteilung. Diese Fläche ist in Kontakt mit einer Flüssigkeit und bildet an der Oberfläche das Potential Ψ_0 aus. Die Anzahl der Teilchen an der Oberfläche ist n_0 . – Die Energie im elektrischen Feld beträgt $z * e * \Psi$, damit ergibt sich: ^[40,41]

$$n^+ = n_0 * e^{\frac{z e \Psi}{k T}}$$

$$n^- = n_0 * e^{-\frac{z e \Psi}{k T}}$$

Formel 8.1-1

Diese BOLTZMANNVERTEILUNG berücksichtigt folgende Punkte noch nicht:

1. Positiv geladene Teilchen werden von der Oberfläche angezogen, negativ geladene abgestoßen.
2. Das System ist elektrisch neutral, deswegen gilt allgemein, aber nicht an der Oberfläche:
 $n^+ = n^-$
3. Nahe der Oberfläche wird ein Überschuss an positiven gegenüber negativen Teilchen sein, dadurch entsteht eine „vernetzte Ladung“. Die komplette Netzladung der Lösung wird durch die Netzladung der Oberfläche neutralisiert.
4. Das lokale Potential wird durch die lokale Ladungsdichte erzeugt.

Die **Netzladungsdichte** ρ an jedem Punkt ist gegeben durch:

$$\rho = z * e * (n^+ - n^-) = -2 * n_0 * z * e * \sinh \frac{z * e * \Psi}{k * T}$$

Formel 8.1-2

Das Integral von Null bis Unendlich liefert die komplette Überschussladung in der Lösung pro Flächeneinheit. Dieser Wert hat den gleichen Betrag, aber die entgegengesetzte Ladung wie die **Oberflächenladungsdichte** σ :

$$\sigma = -\int \rho \, dx$$

Formel 8.1-3

Man stelle sich zwei geladene Schichten vor, die eine auf der Oberfläche, die andere sich in einer diffusen Schicht in der Lösung ausbildend. Die POISSON'sche Gleichung beschreibt den Zusammenhang zwischen der Divergenz des Gradienten des elektrischen Feldes an einem bestimmten Punkt und der Ladungsdichte:

$$\nabla^2 \Psi = -\frac{4 * \pi * \rho}{\epsilon}$$

Formel 8.1-4

Der LAPLACE Operator ∇^2 ist definiert als $\left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2}\right)$ und ϵ ist die **Dielektrizitätskonstante** des Mediums. Nach der DEBYE – HÜCKEL – Theorie kann man die Formel 8.1-2 in Formel 8.1-4 einsetzen:

$$\nabla^2 \Psi = \frac{8 * \pi * n_o * z * e}{\epsilon} * \sinh \frac{z * e * \Psi}{k * T}$$

Formel 8.1-5

Ist $z * e * \Psi$ im Vergleich zu $k * T$ klein, dann läßt sich der **sinh()** als Reihe entwickeln. Verwendet man nur den ersten Term verwendet, ergibt sich:

$$\nabla^2 \Psi = \frac{8 * \pi * n_o * z^2 * e^2 * \Psi}{\epsilon * k * T} = \kappa^2 * \Psi$$

Formel 8.1-6

Sind Ionen verschiedener Ladung beteiligt, so gilt:

$$\kappa^2 = \frac{4 * \pi * e^2}{\epsilon * k * T} \sum_i n_i * z_i^2$$

Formel 8.1-7

Die Lösung von Formel 8.1-6 für das i-te Ion beschreibt, wie das Potential mit der Entfernung abnimmt:

$$\Psi_i(r) = \frac{z_i * e}{\epsilon * r} e^{-\kappa * r}$$

Formel 8.1-8

Nach dem Modell von GOUY und CHAPMAN bildet sich über einer geladenen Fläche eine Doppelschicht aus. Den Abstand der Doppelschicht ^[42], $\rho = 1/\kappa$, bezeichnet man als DEBYE-Länge. Für einen 0,01 M einbindigen Elektrolyten bei 25 °C ergibt sich eine DEBYE-Länge von $\rho = 1/\kappa = 30 \text{ \AA}$

Man braucht $\nabla^2 \Psi$ nicht in alle Raumrichtungen zu entwickeln, weil sich das Potential, wie bei einem Plattenkondensator, nur im Abstand zur Oberfläche ändert.

$$\Psi = \Psi_o * e^{-\kappa * x}$$

Formel 8.1-9

Für den Fall, daß $ze \Psi_o / kT \ll 1$ ist, ergibt sich ein Oberflächenpotential von $\Psi_o \ll 25 \text{ mV}$. Das gilt z.B für einfach geladene Ionen bei Raumtemperatur.

Für $ze \Psi_o / kT \gg 1$ und $x \gg 1/\kappa$ reduziert sich Formel 8.1-9 zu:

$$\Psi = \frac{4 * k * T}{z * e} * e^{-\kappa * x}$$

Formel 8.1-10

Es fällt das Potential mit steigender Pufferkonzentration und mit steigendem Abstand.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß an der Oberfläche das feste Potential $\Psi_o = 4 * k * T / z * e$ gilt und das Potential nach Formel 8.1-8 in der diffusen Schicht abfällt.

Das Oberflächenpotential beträgt für monovalente Ionen bei Raumtemperatur $\Psi_o = 100 \text{ mV}$.

Aus Formel 8.1-7 ergibt sich:

$$\sigma = \sqrt{\frac{2 * n_o * \epsilon * e^2}{\pi * k * T}} * \sinh \frac{z e \Psi_o}{2 k T}$$

Formel 8.1-11

Bei kleinen Werten von $\frac{z e \Psi_o}{k T}$ vereinfacht sich die Formel zu:

$$\sigma = \frac{\epsilon * \kappa}{4 * \pi} * \Psi_o$$

Formel 8.1-12

8.2 Charakterisierungsmethoden & verwendete Materialien

8.2.1 Zetapotentialmessungen

Die ESA Messungen wurden mit dem Gerät MBS-8000 von Matec gemessen, Dr. S. Marmé Sachtleben Chemie, Duisburg^[43]

Die Messungen nach der Laser-Doppler-Anemometrie wurden an einem Malvern Zetasizer 3000 HS von Dr. Nitsche durchgeführt, Malvern Instruments, Kirschau.

8.2.2 Rasterelektronenmikroskopie

Die im Laufe dieser Arbeit gemessenen Rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden am Institut für Pathologie der Universitätsklinik Mainz an einem REM DSM 962 (Zeiss, Jena) durchgeführt. Die Proben wurden auf einen Stahlträger aufgebracht und anschließend mit Gold besputtert (Baltec SCD 050, Sputter Coater) Die Messungen wurden von B. Bidlingmaier, Dr. F. Bormeier, Dr. G. Büchel, Dr. U. Deforth, und Dr. K. Schumacher durchgeführt, denen dafür herzlich gedankt sei.

8.2.3 Kapillarelektrophorese und spannungsunterstützte μ -HPLC

HP CE^{3D}, HP 1100 Gradienten HPLC – System (Entgasungsstation, Gradientenpumpe, Autosampler), HP Chemstation, Agilent Technologie, Waldbronn

Die Kapillarelektrophorese hat die Druckunterstützung eingebaut, damit sie in der Kapillar Elektrochromatographie benutzt werden kann.

8.2.4 Packapparatur

Kompressor der Fa. Nova Swiss, Neuisenburg (Modell LL 3988A) mit Manometer.

Wasserbad von 50 l (Eigenbau Werkstatt Anorganische Chemie & Analytische Chemie)

Thermostaten der Fa. Julabo, Seelbach, (Modell C-5b)

Druckbetriebene Doppelkolbenpumpe KA0290; Knauer, Berlin

Splicer; Siemens S 48, Frankfurt

8.2.5 Verwendete stationäre Phasen und Chemikalien

Hypersil ODS 3 μm , MZ Analysentechnik, Mainz

MICRA ODS 1,5 μm & 3 μm – Materialien wurden freundlicherweise von Dr. T.J. Barder (Eichrom Technologies Inc, Darien, IL, USA) als Forschungsmuster zur Verfügung gestellt.

X-TEC S3 Materialien wurden freundlicherweise von Prof. P. Myers (Tec Consulting Ltd, Bromborough, Wirral UK) als Forschungsmuster zur Verfügung gestellt.

fused silica Kapillaren: CS Chromatographieservice, Langerwehe

Acetonitril: Gradient Grade von E. Merck KgaA, Darmstadt

HPLC Wasser: Milli-Q-Anlage, Milli – Pore, Eschborn

Analyten: Sigma – Aldrich – Fluka, Deisendorf

Tris – Puffer (Tris-(2-Amino-2(hydroxymethyl)-1,3-propandiol)), E. Merck KgaA, Darmstadt

Phosphatpuffer (Kaliumhydrogenphosphat / Kaliumdihydrogenphosphat / Phosphorsäure)

Der Multikomponentenstandard (Sprengstoffmischung) wurde freundlicherweise von dem Hessischen Landesamt für Umweltschutz und Geologie zur Verfügung gestellt.

8.2.6 Verwendete Puffersysteme

Zur Herstellung des Tris HCl Puffers wird die gewünschte Menge Tris-(2-Amino-2(hydroxymethyl)-1,3-propandiol) eingewogen, in HPLC – Wasser gelöst und mit 0,1 M HCl auf den entsprechenden pH eingestellt.

Zur Herstellung des Phosphatpuffers wird das zu dem pH – Wert passende Puffergleichgewicht ausgerechnet und eingewogen. Die Feineinstellung erfolgt mit 0,1 M NaOH bzw 0,1 M HCl.

8.3 Tabellen zur Charakterisierung der Packung & der Packmaterialien

8.3.1 Elektrophoret. Mobilität nach der Laser Doppler Anemometrie

Zeta [mV]	Mobilität [µm cm/V sec]	pH	Leitfähigkeit [S]	Zeta Wand [mV]
-54,2	-4,26	9,73	0,18	-69,9
-58,5	-4,59	8,9	0,16	-64,6
-60,1	-4,71	7,9	0,17	-62,0
-47,8	-3,75	7,57	0,16	-67,7
-57	-4,47	7,37	0,18	-58,9
-49,3	-3,88	7,03	0,17	-68,3
-45,3	-3,56	6,73	0,18	-65,0
-41,9	-3,29	6,04	0,18	-63,3
-62,4	-4,89	5,30	0,19	-25,7
-37,8	-2,97	4,84	0,19	-35,5
-30,7	-2,41	4,39	0,19	-36,5
-27,4	-2,15	3,98	0,21	-35,6
-21	-1,65	3,61	0,24	-29,9
-17,7	-1,39	3,24	0,32	-21,6
-8	-0,63	2,87	0,48	-27,7

Tabelle 8.3.1-1: Hypersil 120 ODS 3 µm Charge 4355; 3,0 µm Kieselgel mit C18 Gruppen

Zeta [mV]	Mobilität [µm cm/V sec]	pH	Leitfähigkeit [S]	Zeta Wand [mV]
-34,3	-2,69	7,99	0,17	-44,7
-33,9	-2,66	7,26	0,17	-43,9
-31,4	-2,47	6,98	0,17	-43,7
-33,8	-2,66	6,72	0,17	-41,7
-31,4	-2,47	6,3	0,17	-40,4
-31,7	-2,49	5,91	0,17	-37
-34	-2,67	5,48	0,17	-31,6
-30,1	-2,37	5,07	0,18	-33,1
-27,7	-2,17	4,48	0,18	-27,2
-30,8	-2,41	4,01	0,19	-18,1
-31,1	-2,45	3,62	0,23	-10,1
-31,1	-2,44	3,19	0,35	-7,27
-29,2	-2,3	2,78	0,66	-3,53
-31,7	-2,49	2,37	1,53	-0,56
-30,5	-2,4	1,91	4,1	-3,67

Tabelle 8.3.1-3: S3-SCX 3 µm Kieselgel mit Propylsulfonsäure

Zeta [mV]	Mobilität [µm cm/V sec]	pH	Leitfähigkeit [S]	Zeta Wand [mV]
-38,5	-3,02	6,18	0,17	-51,2
-27,9	-2,19	5,85	0,17	-43,7
-22,3	-1752	5,57	0,17	-40
-12,27	-0,96	5,25	0,17	-39,8
-7,37	-0,58	4,93	0,17	-32,4
-0,55	-0,04	4,58	0,17	-30,4
-0,61	-0,05	4,25	0,18	-24,4
1,76	0,14	3,96	0,2	-21
1,59	0,13	3,69	0,23	-14,69
2,19	0,17	3,41	0,28	-9,46
1,87	0,15	3,12	0,39	-3,67
3,97	0,31	2,84	0,61	-0,29
2,8	0,22	2,56	1,08	4,13
2,83	0,22	2,25	2,06	5,9
1,99	0,16	1,99	3,96	6,74

Tabelle 8.3.1-2: MICRA RP18 1,5 µm; Batch 0196/95a; 1,5 µm Kieselgel mit C18 Gruppen (unporös)

Zeta [mV]	Mobilität [µm cm/V sec]	pH	Leitfähigkeit [S]	Zeta Wand [mV]
-38	-2,98	7,91	0,15	-72,3
-38,2	-3,00	7,3	0,16	-68,9
-38,8	-3,05	7,08	0,16	-64,8
-37,5	-2,94	6,68	0,16	-60
-34	-2,67	6,36	0,16	-60,4
-34,3	-2,69	5,9	0,16	-56,5
-35	-2,75	5,49	0,16	-50,6
-34	-2,67	5,01	0,16	-46,8
-31,6	-2,48	4,52	0,17	-36,2
-29,8	-2,34	4,04	0,18	-31,8
-26	-2,04	3,61	0,22	-27,4
-31,4	-2,47	3,2	0,33	-13,91
-29,1	-2,29	2,77	0,64	-10,31
-27,3	-2,15	2,35	1,53	-4,24
-25,1	-1,97	1,86	4,07	-2,16

Tabelle 8.3.1-4: S3-C6/SCX; mit C6 Gruppen und Propylsulfonsäure

Zeta	Mobilität	pH	Leitfähigkeit	Zeta Wand
[mV]	[$\mu\text{m cm/V sec}$]		[S]	[mV]
26,0	2,04	7,94	0,19	-38,4
24,5	1,92	7,36	0,18	-31,2
25,1	1,97	7,11	0,18	-31,3
24,7	1,94	6,68	0,18	-28,8
22,8	1,79	6,39	0,18	-24,3
23,4	1,84	6,00	0,18	-20,4
22,8	1,79	5,51	0,18	-16,9
21,9	1,72	5,1	0,19	-12,22
22,9	1,8	4,52	0,19	-18,3
23,8	1,87	4,01	0,20	-1,71
18,8	1,48	3,62	0,26	2,54
19,1	1,5	3,18	0,37	11,57
22,8	1,79	2,77	0,7	10,83
23,3	1,83	2,37	1,61	11,25
25,0	1,96	1,89	4,31	12,79

Tabelle 8.3.1-5: S3-C18 / SCX; mit C18 Gruppen und Propylsulfonsäure

Zeta	Mobilität	pH	Leitfähigkeit	Zeta Wand
[mV]	[$\mu\text{m cm/V sec}$]		[S]	[mV]
32,2	2,52	7,78	0,17	-60,9
27,5	2,16	7,34	0,17	-55,9
25,9	2,03	7,04	0,17	-53,5
31,9	2,5	6,68	0,17	-52,1
27,7	2,17	6,37	0,17	-45,8
27	2,12	5,96	0,18	-38,9
26,8	2,1	5,48	0,17	-29,6
24,9	1,96	4,99	0,18	-25
23,9	1,88	4,46	0,18	-11,13
26,1	2,05	3,98	0,2	-35
23,9	1,87	3,57	0,25	-1,54
23,9	1,87	3,17	0,37	3,18
24,5	1,92	2,75	0,73	0,51
23,1	1,81	2,33	1,71	13,26
25	1,96	1,79	4,65	14,16

Tabelle 8.3.1-7: S3-C6 / SAX; mit C6-Gruppen und quarternärem Ammonium

Zeta	Mobilität	pH	Leitfähigkeit	Zeta Wand
[mV]	[$\mu\text{m cm/V sec}$]		[S]	[mV]
26	2,04	7,94	0,19	-38,4
24,5	1,92	7,36	0,18	-31,2
25,1	1,97	7,11	0,18	-31,3
24,7	1,94	6,68	0,18	-28,8
22,8	1,79	6,39	0,18	-24,3
23,4	1,84	6	0,18	-20,4
22,8	1,79	5,51	0,18	-16,9
21,9	1,72	5,1	0,19	-12,22
22,9	1,8	4,52	0,19	-18,3
23,8	1,87	4,01	0,2	-1,71
18,8	1,48	3,62	0,26	2,54
19,1	1,5	3,18	0,37	11,57
22,8	1,79	2,77	0,7	10,83
23,3	1,83	2,37	1,61	11,25
25	1,96	1,89	4,31	12,79

Tabelle 8.3.1-6: S3-SAX; mit quarternärem Ammonium

8.4 Tabellen zur Charakterisierung gepackter Kapillaren mittels CEC

8.4.1 Poröse Kieselgele

8.4.1.2 Hypersil ODS 3 µm

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	2,94	32,18	0,13	15935	63740	15,69
5	15151,52	2,64	30,17	0,14	15430	61720	16,2
10	30303,03	5,21	13,91	0,3	25111	100444	9,96
10	30303,03	5,15	13,76	0,3	23232	92928	10,76
15	45454,55	7,92	9,34	0,45	24649	98596	10,14
15	45454,55	8,1	9,56	0,44	24926	99704	10,03
20	60606,06	9,58	6,85	0,61	21786	87144	11,48
20	60606,06	8,58	6,59	0,63	22194	88776	11,26
25	75757,58	8,46	4,64	0,9	15917	63668	15,71
25	75757,58	8	4,57	0,91	17300	69200	14,45
30	90909,09	6,82	3,04	1,37	9900	39600	25,25

Tabelle 8.4.1-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 2 mM TrisHCl pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	S _{214 nm}	NTP _{214nm}	NTP _{214 nm}	H _{214 nm}	S _{254 nm}	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V/m	µA	min	mm / sec		pro Säule	pro m	µm		pro Säule	pro m	µm
5	15151	2,95	20,52	0,2	0,89	17348	69392	14,41	0,89	17346	69384	14,41
10	30303	5,57	9,98	0,42	0,92	24538	98152	10,19	0,92	17857	71428	14
10	30303	5,9	10,17	0,41	0,94	23350	93400	10,71	0,92	13204	52816	18,93
15	45454	9,62	6,6	0,63	0,84	22574	90296	11,07	0,83	20857	83428	11,99
15	45454	--	6,7	0,62	0,88	23652	94608	10,57	0,87	22184	88736	11,27
20	60606	12,2	5,66	0,74	2	19660	78640	12,72	1,69	18987	75948	13,17
20	60606	--	4,97	0,84	0,75	15191	60764	16,46	0,73	15190	60760	16,46
30	90909	16,38	6,26	0,67	1,02	27330	109320	9,15	0,89	28381	113524	8,81

Tabelle 8.4.1-2: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 10 mM TrisHCl pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	S _{214 nm}	NTP _{214nm}	NTP _{214 nm}	H _{214 nm}	S _{254 nm}	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V/m	µA	min	mm / sec		pro Säule	pro m	µm		pro Säule	pro m	µm
5	15151	0,58	16,02	0,26	0,74	17197	68788	14,54	0,73	15881	63524	15,74
10	30303	1,26	7,85	0,53	0,55	21568	86272	11,59	0,54	21007	84028	11,9
15	45454	1,77	5	0,83	0,62	20362	81448	12,28	0,59	16197	64788	15,43
20	60606	2,31	3,58	1,16	0,65	17250	69000	14,49	0,61	13207	52828	18,93
25	75757	2,97	2,8	1,49	0,64	16041	64164	15,59	0,63	12585	50340	19,86

Tabelle 8.4.1-3: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 10 mM TrisHCl pH 9 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
5	15151,52	5,31	29,35	0,14	16518	66072	15,14
10	30303,03	14,33	13,14	0,32	27963	111852	8,94
15	45454,55	11,52	14,93	0,28	22049	88196	11,34

Tabelle 8.4.1-4: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 20 mM Phosphat pH 2,6 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
5	15151,52	5,14	22,23	0,19	21226	84904	11,78
10	30303,03	10,74	6	0,69	3371	13484	74,16
15	45454,55	18,92	8,9	0,47	51316	205264	4,87
15	45454,55		9,71	0,43	126789	507156	1,97

Tabelle 8.4.1-5: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 2 mM Tris HCl Puffer pH 5 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
10	30303,03	12,12	11,28	0,37	36802	147208	6,79
15	45454,55	18,95	6,8	0,61	43649	174596	5,73
20	60606,06	26,59	4,92	0,85	44277	177108	5,65
25	75757,58	35,56	3,74	1,11	48355	193420	5,17
30	90909,09	46,36	2,93	1,42	47446	189784	5,27

Tabelle 8.4.1-6: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 20 mM Tris HCl Puffer pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
5	15151,52	0,76	15,64	0,27	21827	87308	11,45
10	30303,03	1,53	7,82	0,53	20857	83428	11,99
15	45454,55	2,28	5,07	0,82	17267	69068	14,48
20	60606,06	2,88	3,64	1,15	15337	61348	16,3
25	75757,58	3,51	2,8	1,49	14348	57392	17,42
30	90909,09	4,12	2,22	1,87	13516	54064	18,5

Tabelle 8.4.1-7: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 20 mM Tris HCl Puffer pH 9 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
10	30303,03	6,08	16,01	0,26	20080	80320	12,45
15	45454,55	7,97	9,49	0,44	32378	129512	7,72
20	60606,06	10,35	6,62	0,63	36443	145772	6,86
25	75757,58	11,86	4,94	0,84	37503	150012	6,67
30	90909,09	10,56	3,62	1,15	34638	138552	7,22

Tabelle 8.4.1-8: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 5 mM Tris HCl Puffer pH 5 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{214 nm}	NTP _{214 nm}	H _{214 nm}	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm	pro Säule	pro m	μm
5	15151	0.4	15.17	0.27	14995	59980	16.67	14095	56380	17.74
10	30303	0.9	9.02	0.46	20096	80384	12.44	19823	79292	12.61
15	45454	1.35	4.71	0.89	19185	76740	13.03	16037	64148	15.59
20	60606	1.8	3.35	1.24	18318	73272	13.65	17314	69256	14.44
25	75757	2.32	2.52	1.66	16710	66840	14.96	16709	66836	14.96
30	90909	2.88	1.97	2.11	14369	57476	17.4	13770	55080	18.16

Tabelle 8.4.1-9: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 10 mM Tris HCl Puffer pH 9 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
5	15151,52	0,39	15,32	0,27	14946	59784	16,73
10	30303,03	0,91	7,48	0,56	22126	88504	11,3
15	45454,55	1,37	4,79	0,87	18694	74776	13,37
20	60606,06	1,86	3,41	1,22	17440	69760	14,33
25	75757,58	2,35	2,59	1,61	15857	63428	15,77
30	90909,09	2,81	2,03	2,05	14309	57236	17,47

Tabelle 8.4.1-10: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 5 mM Tris HCl Puffer pH 9 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{214 nm}	NTP _{214 nm}	H _{214 nm}	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm	pro Säule	pro m	μm
5	15151,52	0,4	15,17	0,27	14995	59980	16,67	14095	56380	17,74
10	30303,03	0,9	9,02	0,46	20096	80384	12,44	19823	79292	12,61
15	45454,55	1,35	4,71	0,89	19185	76740	13,03	16037	64148	15,59
20	60606,06	1,8	3,35	1,24	18318	73272	13,65	17314	69256	14,44
25	75757,58	2,32	2,52	1,66	16710	66840	14,96	16709	66836	14,96
30	90909,09	2,88	1,97	2,11	14369	57476	17,4	13770	55080	18,16

Tabelle 8.4.1-11: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 10 mM Tris HCl Puffer pH 9 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
15	45454,55	2,53	5,53	0,75	21314	85256	11,73
20	60606,06	3,42	4	1,04	20966	83864	11,92
25	75757,58	4,44	3,11	1,34	18831	75324	13,28
30	90909,09	5,43	2,5	1,67	19917	79668	12,55

Tabelle 8.4.1-12: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 10 mM Phosphat Puffer pH 2,6 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	1,94	21,52	0,19	8555	34220	29,22
10	30303,03	4,47	10,93	0,38	13987	55948	17,87
15	45454,55	6,56	7,17	0,58	16067	64268	15,56
20	60606,06	8,41	5,33	0,78	15715	62860	15,91
25	75757,58	10,63	4,51	0,92	19559	78236	12,78
30	90909,09	11,96	3,77	1,11	19095	76380	13,09
30	90909,09	11,45	2,93	1,42	21100	84400	11,85

Tabelle 8.4.1-13: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 5 mM Phosphat Puffer pH 7 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

8.4.1.3 Xtec S 3 C18

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	2,79	17,65	0,24	10262	41048	24,36
10	30303,03	5,72	8,74	0,48	12931	51724	19,33
20	60606,06	19,3	7,64	0,55	34038	136152	7,34

Tabelle 8.4.1-14: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Xtec S3 C18, mobile Phase: 10 mM Tris HCl Puffer pH 7 / Acetonitril = 60 / 40 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	5,68	26,62	0,16	17034	68136	14,68
10	30303,03	11,96	13,72	0,3	37172	148688	6,73
15	45454,55	18,52	8,98	0,46	37472	149888	6,67
20	60606,06	26,01	6,72	0,62	36017	144068	6,94
25	75757,58	33,87	5,43	0,77	26604	106416	9,40
30	90909,09	37,15	4,90	0,85	15843	63372	15,78

Tabelle 8.4.1-15: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Xtec S3 C18, mobile Phase: 10 mM Tris HCl Puffer pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	4,53	41,35	0,1	11295	45180	22,13
15	45454,55	15,35	12,63	0,33	21016	84064	11,9
20	60606,06	22,06	8,14	0,51	28548	114192	8,76
25	75757,58	30,35	6,02	0,69	30119	120476	8,3
30	90909,09	38,2	4,98	0,84	22839	91356	10,95

Tabelle 8.4.1-16: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Xtec S3 C18, mobile Phase: 20 mM Phosphat Puffer pH 5 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	2,95	46,27	0,09	34364	29,1	
10	30303,03	6,5	18,94	0,22	77252	12,94	
15	45454,55	9,44	16,26	0,26	71744	13,94	
20	60606,06	12,82	12,15	0,34	94688	10,56	
25	75757,58	16,58	9,52	0,44	74488	13,42	
30	90909,09	20,26	7,81	0,53	69768	14,33	

Tabelle 8.4.1-17: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Xtec S3 C18, mobile Phase: 15 mM Phosphat Puffer pH 5 / Acetonitril = 30 / 70 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	2,42	20,43	0,2	14447	57788	17,3
10	30303,03	5,15	9,33	0,45	18450	73800	13,55

Tabelle 8.4.1-18: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Xtec S3 C18, mobile Phase: 25 mM Tris HCl Puffer pH 7 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

8.4.2 Unporöse RP - Kieselgele

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
10	30303,03	3,21	8,23	0,51	27558	110232	9,07
20	60606,06	6,38	4,02	1,04	42608	170432	5,87
30	90909,09	9,63	2,6	1,6	30637	122548	8,16
20	60606,06	8,88	4,78	0,87	19348	77392	12,92
25	75757,58	11,01	3,69	1,13	16540	66160	15,11
30	90909,09	13,22	3,02	1,38	19542	78168	12,79

Tabelle 8.4.2-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18, mobile Phase: 10 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	1,02	15,12	0,28	4902	19608	51
15	45454,55	2,89	4,85	0,86	5667	22668	44,12
20	60606,06	3,7	3,46	1,2	7893	31572	31,67
30	90909,09	5,64	2,27	1,83	5086	20344	49,15
30	90909,09	4,65	3,2	1,3	5241	20964	47,7

Tabelle 8.4.2-2: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18, mobile Phase: 5 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

8.4.2.4 MICRA 3,0 µm

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
25	75757,58	6,57	0,63	12000	48000	20,83
30	90909,09	5,1	0,82	14000	56000	17,86

Tabelle 8.4.2-3: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: 20 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 80 / 20 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	10,16	0,41	11000	44000	22,73
10	30303,03	5,28	0,79	15000	60000	16,67
15	45454,55	3,5	1,19	14000	56000	17,86
20	60606,06	2,58	1,61	90000	360000	2,78
30	90909,09	1,7	2,45	13000	52000	19,23

Tabelle 8.4.2-4: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: 3 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 60 / 40 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
25	75757,58	6,01	0,69	7000	28000	35,71
30	90909,09	4,65	0,9	6000	24000	41,67

Tabelle 8.4.2-5: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: 15 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 60 / 40 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	6,95	0,6	19000	76000	13,16
10	30303,03	3,45	1,21	21000	84000	11,9
30	90909,09	1,11	3,75	13000	52000	19,23

Tabelle 8.4.2-6: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: 2 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
20	60606,06	4,78	0,87	19000	76000	13,16
25	75757,58	3,69	1,13	17000	68000	14,71
30	90909,09	3,02	1,38	20000	80000	12,5

Tabelle 8.4.2-7: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: 10 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
20	60606,06	2,77	1,5	37000	148000	6,76
30	90909,09	1,85	2,25	20000	80000	12,5

Tabelle 8.4.2-8: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: 1,5 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 30 / 70 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
20	60606,06	2,11	1,97	58000	232000	4,31
30	90909,09	2,32	1,8	63000	252000	3,97

Tabelle 8.4.2-9: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: 1 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
25	75757,58	3,66	1,14	21000	84000	11,9
30	90909,09	2,39	1,74	23000	92000	10,87

Tabelle 8.4.2-10: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: 5 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

t _R	u	C _{Puffer}	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
min	mm / sec	mM	pro Säule	pro m	µm
2,32	1,8	1	63000	252000	3,97
1,33	3,13	2	48000	192000	5,21
1,37	3,04	3	45000	180000	5,56
1,43	2,91	4	38000	152000	6,58
1,43	2,91	5	41000	164000	6,1

Tabelle 8.4.2-11: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Spannung 30 kV; Analyt: Thioharnstoff

t _R	u	C _{Puffer}	ACN	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
min	mm / sec	mM	%	pro Säule	pro m	µm
4,2	0,99	4	20	67000	268000	3,73
1,85	2,25	3,5	30	20000	80000	12,5
1,7	2,45	3	40	13000	52000	19,23
1,11	3,75	2	60	13000	52000	19,23
2,32	1,8	1	80	63000	252000	3,97

Tabelle 8.4.2-12: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (v/v); Spannung 30 kV; Analyt: Thioharnstoff

t_R	u	C_{Puffer}	ACN	$NTP_{254 \text{ nm}}$	$NTP_{254 \text{ nm}}$	$H_{254 \text{ nm}}$
min	mm / sec	mM	%	pro Säule	pro m	μm
2,11	1,97	1	80	58000	232000	4,31
2,77	1,5	3,5	30	37000	148000	6,76
2,58	1,61	3	40	90000	360000	2,78

Tabelle 8.4.2-13: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (v/v); Spannung 20 kV; Analyt: Thioharnstoff

t_R	u	C_{Puffer}	ACN	$NTP_{254 \text{ nm}}$	$NTP_{254 \text{ nm}}$	$H_{254 \text{ nm}}$
min	mm / sec	mM	%	pro Säule	pro m	μm
6,57	0,63	20	20	12000	48000	20,83
6,01	0,69	15	40	7000	28000	35,71
3,69	1,13	10	60	17000	68000	14,71
3,66	1,14	5	80	21000	84000	11,9

Tabelle 8.4.2-14: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (v/v); Spannung 25 kV; Analyt: Thioharnstoff

t_R	u	C_{Puffer}	ACN	$NTP_{254 \text{ nm}}$	$NTP_{254 \text{ nm}}$	$H_{254 \text{ nm}}$	t_R
min	mm / sec	mM	%	pro Säule	pro m	μm	min
5,1	0,82	20	20	20	14000	56000	17,86
4,65	0,9	15	15	40	6000	24000	41,67
3,02	1,38	10	10	60	20000	80000	12,5
2,39	1,74	5	5	80	23000	92000	10,87

Tabelle 8.4.2-15: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2939, mobile Phase: Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Spannung 30 kV; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t_R	u	$NTP_{254 \text{ nm}}$	$NTP_{254 \text{ nm}}$	$H_{254 \text{ nm}}$
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
10	30303,03	6,99	13,02	0,32	19401	77604	12,89
20	60606,06	14,78	6,62	0,63	9989	39956	25,03
30	90909,09	24,87	4,47	0,93	1960	7840	127,55

Tabelle 8.4.2-16: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 0257b, mobile Phase: 10 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t_R	u	$NTP_{254 \text{ nm}}$	$NTP_{254 \text{ nm}}$	$H_{254 \text{ nm}}$
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
20	60606,06	4,56	0,91	41000	164000	6,1
30	90909,09	2,96	1,41	45000	180000	5,56

Tabelle 8.4.2-17: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 0257b, mobile Phase: 1,5 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 30 / 70 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	9,06	0,46	30000	120000	8,33
15	45454,55	3	1,39	51000	204000	4,9
25	75757,58	1,8	2,31	55000	220000	4,55
30	90909,09	1,52	2,74	58000	232000	4,31

Tabelle 8.4.2-18: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 0257b, mobile Phase: 1 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
10	30303,03	3,72	10,3	0,4	15728	62912	15,9
20	60606,06	7,75	5,29	0,79	29481	117924	8,48
30	90909,09	12,36	3,66	1,14	30940	123760	8,08

Tabelle 8.4.2-19: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 0257b, mobile Phase: 5 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
20	60606,06	5,52	3,66	1,14	21218	84872	11,78
30	90909,09	8,34	2,39	1,74	22492	89968	11,12

Tabelle 8.4.2-20: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2917, mobile Phase: 5 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

8.4.2.5 unporöse Kieselgele MICRA ODS 1,5 µm

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
25	75757,58	5,12	0,81	62000	248000	4,03
30	90909,09	4,14	1,01	15000	60000	16,67

Tabelle 8.4.2-21: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2734, mobile Phase: 4 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 80 / 20 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
15	45454,55	11,29	10,01	0,42	25794	103176	9,69
20	60606,06	15,22	7,22	0,58	28404	113616	8,8
25	75757,58	19,54	5,5	0,76	21252	85008	11,76
30	90909,09	24,13	4,38	0,95	29186	116744	8,57

Tabelle 8.4.2-22: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2734, mobile Phase: 20 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 80 / 20 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
25	75757,58	9,11	0,46	48000	192000	5,21
30	90909,09	6,8	0,61	42000	168000	5,95

Tabelle 8.4.2-23: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2734, mobile Phase: 20 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 80 / 20 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	27,3	0,15	78000	312000	3,21
20	60606,06	6,19	0,67	43000	172000	5,81
30	90909,09	3,79	1,1	63000	252000	3,97

Tabelle 8.4.2-24: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2734, mobile Phase: 3 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 60 / 40 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
10	30303,03	2,93	7,95	0,52	11991	47964	20,85
15	45454,55	10,12	9,24	0,45	30692	122768	8,15
20	60606,06	13,64	6,7	0,62	40574	162296	6,16
30	90909,09	17,5	5,13	0,81	27396	109584	9,13
30	90909,09	21,8	4,09	1,02	29237	116948	8,55

Tabelle 8.4.2-25: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2734, mobile Phase: 15 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 60 / 40 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
14	42424,24	9,26	0,45	336000	1,344E6	0,74
15	45454,55	8,71	0,48	16000	64000	15,63
20	60606,06	6,35	0,66	206000	824000	1,21
20	60606,06	6,19	0,67	43000	172000	5,81
25	75757,58	4,93	0,85	185000	740000	1,35
30	90909,09	3,79	1,1	63000	252000	3,97

Tabelle 8.4.2-26: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2734, mobile Phase: 15 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
10	30303,03	8,23	0,51	27000	108000	9,26
20	60606,06	4,02	1,04	44000	176000	5,68
30	90909,09	2,6	1,6	40000	160000	6,25
5	15151,52	20,76	0,2	42500	170000	5,88

Tabelle 8.4.2-27: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2734, mobile Phase: 10 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

U	E	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
10	30303,03	11,31	0,37	21000	84000	11,9
20	60606,06	5,36	0,78	21000	84000	11,9
20	60606,06	2,47	1,69	108000	432000	2,31
25	75757,58	5,06	0,82	15000	60000	16,67
30	90909,09	4,98	0,84	18000	72000	13,89
30	90909,09	1,92	2,17	101000	404000	2,48

Tabelle 8.4.2-28: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2734, mobile Phase: 1 mM Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

t _R	u	C _{Puffer}	ACN	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
min	mm / sec	mM	%	pro Säule	pro m	µm
2,47	1,69	1	80	108000	432000	2,31
2,64	1,58	1	80	44000	176000	5,68
2,1	1,98	5	80	124000	496000	2,02
4,02	1,04	10	60	44000	176000	5,68
4,79	0,87	10	60	11000	44000	22,73
6,19	0,67	15	40	43000	172000	5,81
6,35	0,66	15	40	206000	824000	1,21

Tabelle 8.4.2-29: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2734, mobile Phase: Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (v/v); Spannung 20 kV; Analyt: Thioharnstoff

t _R	u	C _{Puffer}	ACN	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
min	mm / sec	mM	%	pro Säule	pro m	µm
1,92	2,17	1	80	101000	404000	2,48
1,16	3,59	1	80	48000	192000	5,21
4,14	1,01	4	20	15000	60000	16,67
2,39	1,74	5	80	109000	436000	2,29
2,6	1,6	10	60	40000	160000	6,25
3,79	1,1	15	40	63000	252000	3,97
6,8	0,61	20	20	42000	168000	5,95

Tabelle 8.4.2-30: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit MICRA NPS C18 2734, mobile Phase: Tris HCl Puffer pH 8 / Acetonitril (v/v); Spannung 30 kV; Analyt: Thioharnstoff

8.4.3 Einfluß von Ionenpaarreagentien auf elektroendosmotischen Fluß und theoretische Bodenhöhe

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	0,85	19,23	0,22	16967	67868	14,73
10	30303,03	1,7	9,52	0,44	28578	114312	8,75
10	30303,03	1,64	9,83	0,42	32479	129916	7,7
15	45454,55	2,85	6,34	0,66	32024	128096	7,81
20	60606,06	4,04	4,7	0,89	33923	135692	7,37
25	75757,58	5,34	3,7	1,13	33543	134172	7,45
30	90909,09	6,82	3,02	1,38	32877	131508	7,6

Tabelle 8.4.3-1: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 0,1 mM Phosphat Puffer pH 2,6 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v) + 6,7 mM HFBA; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	0,89	19,88	0,21	16284	65136	15,35
10	30303,03	1,61	10,59	0,39	1970	7880	126,9
15	45454,55	2,92	6,51	0,64	29544	118176	8,46
20	60606,06	4,1	4,83	0,86	30563	122252	8,18
25	75757,58	5,56	3,8	1,1	29089	116356	8,59
30	90909,09	7,19	3,1	1,34	29539	118156	8,46

Tabelle 8.4.3-2: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 0,1 mM Phosphat Puffer pH 2,6 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v) + 6,7 mM HFBA; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	1,34	43,93	0,09	14683	58732	17,03
10	30303,03	3,2	14,43	0,29	25933	103732	9,64
15	45454,55	5,32	9,7	0,43	27215	108860	9,19
20	60606,06	7,37	7,25	0,57	36664	146656	6,82
25	75757,58	9,8	5,76	0,72	46465	185860	5,38

Tabelle 8.4.3-3: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 5 mM Phosphat Puffer pH 5 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v) + 5,2 mM TFA; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	µA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	µm
5	15151,52	3,17	24,65	0,17	14512	58048	17,23
10	30303,03	6,74	12,64	0,33	23472	93888	10,65

Tabelle 8.4.3-4: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 µm I.D., 360 µm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 µm, mobile Phase: 5 mM Tris HCl Puffer pH 7 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v) + 5,2 mM TFA; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{214 nm}	NTP _{214 nm}	H _{214 nm}	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm	pro Säule	pro m	μm
5	15151,52	2,67	30,4	0,14	11429	45716	21,87	12531	50124	19,95
10	30303,03	5,47	15,41	0,27	14707	58828	17	15048	60192	16,61
15	45454,55	8,83	10,02	0,42	29395	117580	8,5	32058	128232	7,8
20	60606,06	12,48	7,79	0,54	29525	118100	8,47	39975	159900	6,25
25	75757,58	16,74	5,93	0,7	31073	124292	8,05	33863	135452	7,38
30	90909,09	21,38	4,74	0,88	26637	106548	9,39	31007	124028	8,06

Tabelle 8.4.3-5: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 0,1 mM Phosphat Puffer pH 2,6 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v) + 5,2 mM TFA; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
5	15151,52	0,99	26,68	0,16	10263	41052	24,36
10	30303,03	1,87	13,2	0,32	16865	67460	14,82
15	45454,55	3,09	8,56	0,49	24019	96076	10,41
20	60606,06	4,41	6,38	0,65	27319	109276	9,15
25	75757,58	5,93	5,16	0,81	23532	94128	10,62
30	90909,09	7,81	4,22	0,99	27430	109720	9,11

Tabelle 8.4.3-6: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 0,1 mM Phosphat Puffer pH 2,6 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v) + 4,5 mM TFA; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
10	30303,03	5,19	12,72	0,33	15244	60976	16,4
10	30303,03	4,07	16,34	0,25	10157	40628	24,61
15	45454,55	5,32	12,97	0,32	9536	38144	26,22
20	60606,06	6,71	11,02	0,38	11754	47016	21,27
25	75757,58	8,33	9,11	0,46	9721	38884	25,72
30	90909,09	10,04	7,63	0,55	20378	81512	12,27

Tabelle 8.4.3-7: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 0,1 mM Phosphat Puffer pH 2,6 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v) + 5,6 mM SDS; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	C _{Puffer}	C _{Puffer}	pH	ACN	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	mM	mM		%	pro Säule	pro m	μm
5	15151,52	3,02	28,95	0,14	50	10	7	60	12279	49116	20,36
5	15151,52	2,39	39,64	0,11	50	10	7	60	9733	38932	25,69
10	30303,03	5,71	18,72	0,22	50	10	7	--	26466	105864	9,45

Tabelle 8.4.3-8: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 10 mM Tris HCl Puffer pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v) + 5,6 mM SDS; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	C _{Puffer}	C _{Puffer}	pH	ACN	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	mM	mM		%	pro Säule	pro m	μm
5	15151.52	6	26.55	0.16	50	10	5	60	10613	42452	23.56
15	45454.55	18.41	8.57	0.49	50	10	5	60	15584	62336	16.04
20	60606.06	24.54	6.33	0.66	50	10	5	60	12180	48720	20.53
30	90909.09	29.21	5.03	0.83	50	10	5	60	25760	103040	9.7

Tabelle 8.4.3-9: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 10 mM Tris HCl Puffer pH 5 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v) + 5,6 mM SDS; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
10	30303,03	2,22	11,42	0,36	12294	49176	20,34
15	45454,55	3,98	7,17	0,58	15620	62480	16,01
20	60606,06	5,9	4,75	0,88	29650	118600	8,43
25	75757,58	7,38	3,71	1,12	27742	110968	9,01
30	90909,09	8,74	3,03	1,37	30549	122196	8,18

Tabelle 8.4.3-10: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 0,1 mM Phosphat Puffer pH 2,6 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v) + 2,8 mM SDS; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
5	15151,52	0,96	18,66	0,22	20520	82080	12,18
10	30303,03	1,99	9,4	0,44	21769	87076	11,48
15	45454,55	3,19	6,59	0,63	25351	101404	9,86
20	60606,06	4,54	4,41	0,94	15220	60880	16,43
25	75757,58	5,75	4,05	1,03	19000	76000	13,16

Tabelle 8.4.3-11: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 0,1 mM Phosphat Puffer pH 2,6 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v) + 6,7 mM TEA; Analyt: Thioharnstoff

U	E	I	t _R	u	NTP _{254 nm}	NTP _{254 nm}	H _{254 nm}
kV	V / m	μA	min	mm / sec	pro Säule	pro m	μm
5	15151,52	0,95	15,96	0,26	18881	75524	13,24
10	30303,03	1,81	7,73	0,54	29093	116372	8,59
15	45454,55	2,9	5,15	0,81	24484	97936	10,21
20	60606,06	4,06	3,77	1,11	21829	87316	11,45
25	75757,58	5,32	2,92	1,42	21003	84012	11,9
30	90909,09	6,62	2,51	1,66	20128	80512	12,42

Tabelle 8.4.3-12: Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., 25 cm gepackt mit Hypersil ODS 3 μm, mobile Phase: 0,1 mM Phosphat Puffer pH 2,6 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v) + 3,4 mM TEA; Analyt: Thioharnstoff

8.5 Tabellen zur spannungsunterstützten μ -HPLC

Packungsbett	$t_{25\text{ kV}}$	$t_{20\text{ kV}}$	$t_{15\text{ kV}}$	$t_{10\text{ kV}}$	$t_{5\text{ kV}}$	$t_{0\text{ kV}}$
Länge / cm	min	min	min	min	min	min
25	--	--	1,87	2,01	2,18	2,31
20	--	--	1,04	1,33	1,29	1,53
15	--	0,91	0,71	0,79	0,87	0,92
10	--	0,31	0,33	0,4	0,46	0,49
5	--	--	0,13	0,16	0,18	0,19

Tabelle 8.4.3-1: Retentionszeiten von Thioharnstoff bei unterschiedlichen Feldstärken in der μ -HPLC Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., komplett gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: 20 mM Phosphat Puffer pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Fluß 0,5 ml / min Analyt: Thioharnstoff

Packungsbett	$t_{25\text{ kV}}$	$t_{20\text{ kV}}$	$t_{15\text{ kV}}$	$t_{10\text{ kV}}$	$t_{5\text{ kV}}$	$t_{0\text{ kV}}$
Länge / cm	min	min	min	min	min	min
25	--	--	--	2,04	2,2	2,36
20	1,21	1,2	1,1	1,26	1,41	1,62
15	0,78	0,74	0,77	0,82	0,88	0,95
10	--	0,37	0,36	0,41	0,42	0,5
5	0,16	0,17	0,18	0,19	0,19	0,2

Tabelle 8.4.3-2: Retentionszeiten von Thioharnstoff bei unterschiedlichen Feldstärken in der μ -HPLC Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., komplett gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: 10 mM Phosphat Puffer pH 7 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Fluß 0,5 ml / min Analyt: Thioharnstoff

Packungsbett		25 cm		20 cm		15 cm		10 cm		5 cm	
Fluß	ΔP	$t_{\text{LC pur}}$	$t_{\text{LC} + 10\text{ kV}}$	$t_{\text{LC pur}}$	$t_{\text{LC} + 10\text{ kV}}$	$t_{\text{LC pur}}$	$t_{\text{LC} + 10\text{ kV}}$	$t_{\text{LC pur}}$	$t_{\text{LC} + 10\text{ kV}}$	$t_{\text{LC pur}}$	$t_{\text{LC} + 10\text{ kV}}$
mL / min	bar	min	min	min	min	min	min	min	min	min	min
0,5	224	2,31	2,01	1,53	1,33	0,92	0,79	0,49	0,39	0,19	0,16
0,4	177	2,89	2,48	1,84	1,6	1,14	0,98	0,59	0,46	0,23	0,19
0,3	135	3,86	3,22	2,49	2,02	1,51	1,26	0,78	0,57	0,3	0,25
0,2	88	5,78	4,53	3,77	2,88	2,26	1,77	1,17	0,82	0,47	0,36
0,1	48	11,57	7,61	7,56	4,9	4,52	3,04	2,28	1,43	0,99	0,68

Tabelle 8.4.3-3: Retentionszeiten von Thioharnstoff bei unterschiedlichen Flüssen in der μ -HPLC Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., komplett gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: 20 mM Phosphat Puffer pH 7 / Acetonitril = 40 / 60 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

Packungsbett		25 cm		20 cm		15 cm		10 cm		5 cm	
Fluß	ΔP	$t_{\text{LC pur}}$	$t_{\text{LC} + 10\text{ kV}}$	$t_{\text{LC pur}}$	$t_{\text{LC} + 10\text{ kV}}$	$t_{\text{LC pur}}$	$t_{\text{LC} + 10\text{ kV}}$	$t_{\text{LC pur}}$	$t_{\text{LC} + 10\text{ kV}}$	$t_{\text{LC pur}}$	$t_{\text{LC} + 10\text{ kV}}$
mL / min	bar	min	min	min	min	min	min	min	min	min	min
0,5	150	2,36	2,04	1,68	1,26	0,95	0,82	0,42	0,5	0,19	0,2
0,4	120	2,94	2,49	1,92	1,51	1,18	1	0,51	0,61	0,23	0,25
0,3	90	3,93	3,18	2,57	1,91	1,58	1,27	0,62	0,82	0,3	0,33
0,2	58	5,88	4,33	3,87	2,66	2,37	1,74	0,84	1,2	0,43	0,5
0,1	30	11,78	6,62	7,79	4,42	4,74	2,77	1,44	2,39	0,8	1,03

Tabelle 8.4.3-4: Retentionszeiten von Thioharnstoff bei unterschiedlichen Flüssen in der μ -HPLC Kapillare: 34 cm Gesamtlänge, 100 μm I.D., 360 μm A.D., komplett gepackt mit Hypersil ODS 3 μm , mobile Phase: 10 mM Phosphat Puffer pH 7 / Acetonitril = 20 / 80 (v/v); Analyt: Thioharnstoff

Lebenslauf & Publikationen

PERSÖNLICHE ANGABEN

Norwin von Döhren

- | | |
|------------------------|------------|
| ■ Familienstand: | ledig |
| ■ Staatsangehörigkeit: | Deutsch |
| ■ Geburtsdatum: | 31.01.1968 |
| ■ Geburtsort: | Mainz |



AUSBILDUNG:

Datum		Tätigkeit
von	bis	
1974	1978	Grundschule (Carl-Zuckmayer-Schulzentrum), Mainz
1979	1980	Staatliches Gymnasium Mainz Gonsenheim
1980	1988	Willigis-Gymnasium (Fremdsprachen Englisch, Latein), Mainz
1988		Abitur
01.10.1988	31.12.1989	Grundwehrdienst bei der Marine
01.10.1989	1.10.1996	Chemiestudium an der J.-Gutenberg-Universität, Mainz
01.10.1996		Abgabe der Diplomarbeit: "Verwendung von überkritischem Kohlendioxid zum Packen von analytischen HPLC-Säulen"; Test mit HPLC und SFC
01.10.1996		Beginn der Promotion bei Herrn Prof. Dr. Unger, Mainz
01.10.2000		Varian Chrompack, Middelburg, Holland

LISTE DER WISSENSCHAFTLICHEN VERÖFFENTLICHUNGEN:

<p>”Verwendung von überkritischem Kohlendioxid zum Packen von analytischen HPLC-Säulen” Diplomarbeit Universität Mainz, Oktober 1996</p>
<p>”The use of 1.5 and 3.0 µm MICRA ODS packing in Electrochromatography” N. v. Döhren, K. K. Unger, T. J. Barder; Poster HPLC 1997, Birmingham</p>
<p>”MCM-41 und MCM-48 in der SFC” K. Schumacher, M. Grün, N. v. Döhren, K. K. Unger; Poster 2. Anwendertreffen SFC – SFE – XSE - SPME, Siegen, 1997</p>
<p>”Comparative study on the column performance of microparticulate 5-µm C₁₈-bonded and monolithic C₁₈-bonded reversed-phase columns in high-performance liquid chromatography” B. Bidlingmaier, K. K. Unger, N. v. Doehren, Journal of Chromatography A, 832 (1999) 11 – 16</p>
<p>”Mixed mode phases via dynamical coatings of 3 µm ODS materials by use of ionpairing additives” N. v. Döhren, K. K. Unger; Poster HPLC 1999, Granada</p>
<p>”Controlled porosity silica supports made by agglomeration of micron size silica beads to porous silica spheres” B. Bidlingmaier, G. Büchel, K. Schumacher, N. v. Döhren, M. Grün and K. K. Unger, Poster COPS V, 1999 Heidelberg</p>
<p>„New Stationary Phases in CEC“ N. von Doehren, M. Grün, D. Kuma, K.K. Unger, Poster CEC'99 „3rd International Symposium on Capillary Electrochromatography“ 1999 San Francisco, California, USA</p>
<p>„Mixed Mode Phases via Dynamical Coatings of RP-Material by Use of Buffer Additives” N. v. Döhren, K. K. Unger ; Poster Analytica Conference 2000, München</p>
<p>„Towards the ultimate minimum particle diameter of silica packings in capillary electrochromatography.“ S. Luedtke, T. Adam, N. v. Doehren, K. Unger, J. Chromatogr. In print</p>

9. Literatur

- ¹ H. Engelhardt, W. Beck, Th. Schmitt; Kapillarelektrophorese, Vieweg, Braunschweig, 1994
- ² N v Schmoluchowski; 1903; Bull. Int. Acad. Polon. Sci., Classe Sci. Math. Nat. Nat.: 184 ff
- ³ H. S. Harned and B.B. Owen, 1950; The Physical Chemistry of Electrolyte Solutions, Reinhold, New York
- ⁴ O.Stern, 1924; Z.Elektrochem., 30, 508
- ⁵ A. L. Loeb, J. Th. G. Overbeek, P. H. Wiersema; 1961; The Electrical Double Layer Around a Spherical Particle; MIT Press, Cambridge, MA
- ⁶ J. Th. G. Overbeek, B.H. Bijsterbosch; Electrochemical Separation Methods; P.G. Righetti, C.J. van Oss, J.W. Vanderhoff; Elsevier / North Holland Biomedical Press, New York, 1979
- ⁷ AI Liapis; 1993; Affinity adsorption separations in high performance liquid chromatography systems: The effects of pore-size distribution and fractal pores on column performance.; Math. Modelling and Sci. Computing 1; 397-414
- ⁸ AI Liapis, Y Xu, OK Crosser, A Tongta; 1995; Perfusion chromatography: the effects of intraparticle convective velocity and microsphere size on column performance.; J. Chromatogr. A 702; 45-57
- ⁹ GA Heeter, AI Liapis; 1995; Perfusion chromatography: performance of periodic countercurrent column operation and its comparison with fixed bed operation; J.Chromatogr.A 711; 3-21
- ¹⁰ GA Heeter, AI Liapis; 1996; Effect of structural and kinetic parameters on the performance of chromatographic columns packed with perfusive and purely diffusive adsorbent particles; J.Chromatogr.A 743; 3-14
- ¹¹ Y Xu, AI Liapis; 1996; Modelling and analysis of the elution stage of perfusion chromatography: effects of intraparticle convective velocity and microsphere size on system performance, J.Chromatogr.A 724: 13-25
- ¹² Kuchling, Taschenbuch der Physik, Verlag Harry Deutsch, Thun und Frankfurt / Main, 12. Auflage S 167
- ¹³ M Dittmann; G Rozing; 1996; J. Chromatogr. A; 744; S 63 - 74
- ¹⁴ T Adam; 1998; Dissertation Johannes Gutenberg Universität Mainz
- ¹⁵ C Horvath; H J Lin; 1976; J Chromatogr; 126; S 401
- ¹⁶ C Horvath; H J Lin; 1978; J Chromatogr; 149; S 43
- ¹⁷ M Dittmann; G Rozing; 1995; LC*GC; 13; S 800
- ¹⁸ JH Knox, HP Scott; 1984; Theoretical models for size exclusion chromatography and calculation of pore size distribution from size exclusion chromatography data.; J. Chromatogr. 316; 311-332
- ¹⁹ FAL Dullien; 1992; Porous media: Fluid Transport and Pore Structure; Academic Press, New York, New York, USA
- ²⁰ JJ Meyers, AI Liapis; 1998; Network modeling of the intraparticle convection and diffusion of molecules in porous particles packed in a chromatographic column; J. Chromatogr. A 827; 197-213
- ²¹ JJ Meyers, AI Liapis; 1999; Network modeling of the convective flow and diffusion of molecules adsorbing in monoliths and in porous particles packed in a chromatographic column; J. Chromatogr. A (in press)
- ²² M.J.E. Goly in Gas Chromatography (Symp. 1957), (Eds.: V.J. Coates, H.J. Noebels, I.S. Fagerson), Academic Press Inc., New York, London, 1958, p.1
- ²³ M.J.E. Goly in Gas Chromatography 1958 (Ed.: D.H. Desty), Butterworths Sc. Publ., London 1958, p. 36
- ²⁴ P Debye; 1933; J. Chem. Phys. 1, 13 ff
- ²⁵ LR White; 1987; Trans. Faraday Soc. XXX
- ²⁶ RW O'Brien; 1986; J. Fluid Mechanics; 190, 71
- ²⁷ US Patent 1985; # 4, 497, 207
- ²⁸ P.G. Dietrich, K.H. Lerche, J. Reusch, R. Nitzsche; 1997; Chromatographia Vol. 44, No 7/8; 362 - 366
- ²⁹ GJ Eppert; 1996; Flüssigchromatographie; Vieweg Wiesbaden
- ³⁰ JJ Kirkland; 1971; J. Chromatogr. Sci. 10; 593 ff
- ³¹ J Asshauer, I Halász; 1974; J. Chromatogr. Sci. 12, 139 ff
- ³² JJ Kirkland; 1971; J. Chromatogr. Sci. 9 206 ff
- ³³ J. C. Kraak, H. Poppe, 1997, Chromatographia Vol. 46, No 3/4, Aug.
- ³⁴ N Smith, MB Evans; 1999; J. Chromatogr. A 832; S 41 - 54
- ³⁵ J Knox, I Grant; 1987; Chromatographia 24; S. 135
- ³⁶ J Knox; 1988; Chromatographia 26; S. 329
- ³⁷ J Knox, I Grant; 1991; Chromatographia 32, No 7/8; S 317
- ³⁸ J Knox; 1994; J. Chromatogr. A 680; S 3
- ³⁹ C Yan, 1997, LC-GC Int. - March
- ⁴⁰ Arthur W. Adamson; 1990; Physical Chemistry of Surfaces; John Wiley & Sons New York
- ⁴¹ AI Liapis, BA Gimes; 2000; Modeling the velocity field of the electroosmotic flow in charged capillaries and in capillary columns packed with charged particles; J. Chromatogr. ? in press
- ⁴² H. S. Harned and B.B. Owen, 1950; The Physical Chemistry of Electrolyte Solutions, Reinhold, New York
- ⁴³ US Patent 1985; #4, 497, 207