



Karlsruhe Institute of Technology

Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

Institut für Technische Chemie und Polymerchemie

Lehrstuhl Polymere Materialien, Prof. Dr. M. Wilhelm

Entwicklung eines chemisch sensitiven Detektors für die Gelpermeationschromatographie auf Basis von Infrarotspektroskopie

Zur Erlangung des akademischen Grades eines
DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN

(Dr. rer. nat.)

Fakultät für Chemie und Biowissenschaften

Karlsruher Institut für Technologie (KIT) - Universitätsbereich

genehmigte

DISSERTATION

von

Timo Florian Beskers

aus

Karlsruhe

Dekan: Prof. Dr. Peter Roesky

Referent: Prof. Dr. Manfred Wilhelm

Korreferent: Prof. Dr. Christopher Barner-Kowollik

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Juli 2014

Diese Arbeit wurde in der Zeit vom 1. September 2010 bis zum 3. Juni 2014 am Institut für Technische Chemie und Polymerchemie des Karlsruher Instituts für Technologie unter Anleitung von Prof. Dr. Manfred Wilhelm durchgeführt. Sie baut auf der ihr vorangegangenen Diplomarbeit auf.^[47] In dieser Zeit wurden zum gleichen Thema mehrere, von mir verfasste Artikel in Fachzeitschriften publiziert,^[134,137,145] welche die gleichen Sachverhalte und z.T. auch die gleichen Experimente und Ergebnisse wie diese Arbeit wiedergeben. Zudem wurden weitere Veröffentlichungen mit Experimenten unterstützt.^[148,151–155,158–160] Ähnlichkeiten in den Ergebnissen, Darstellungen und Formulierungen dieser Arbeit mit den vorgenannten sind daher möglich, ohne dass entsprechende Stellen direkt übernommen wurden.

Hiermit versichere ich, dass ich die von mir vorgelegte Arbeit selbstständig verfasst habe, dass ich die verwendeten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit, die anderen Werken im Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, entsprechend kenntlich gemacht habe.

Karlsruhe, den 3. Juni 2014

„Kommen Sie nur, Mylord Bischof, ich will Ihnen den Weg zum Himmel zeigen ...“

Friedrich Wilhelm Herschel, 1786

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Motivation	4
2. Theoretische Grundlagen	7
2.1. Signale und Rauschen	7
2.2. Grundlagen der Chromatographie	11
2.2.1. Trennprinzip der Gelpermeationschromatographie (GPC) . . .	13
2.2.2. GPC-Detektoren	16
2.2.3. Molmassenverteilung und Bandenverbreiterung in der GPC . .	22
2.3. Grundlagen der Infrarotspektroskopie (IR)	28
2.3.1. Besonderheiten der Fourier-Transformations-IR-Spektroskopie	29
2.3.2. Linienbreiten und spektrale Auflösung	31
2.3.3. Abgeschwächte Totalreflexion (ATR)	33
2.4. Quantenkaskadenlaser als Strahlungsquellen der Spektroskopie	35
2.4.1. Grundlagen Quantenkaskadenlaser (QCL)	36
2.4.2. Anwendungen von EC-QCLs bei flüssigen Proben	38
3. Existierende Kopplungen	39
3.1. GPC-Massenspektrometrie	40
3.2. GPC-Kernresonanzspektroskopie (NMR)	41
3.2.1. GPC-NMR im Hochfeld	42
3.2.2. GPC-Niederfeld-NMR	42
3.3. GPC-IR-Kopplungen	43
3.3.1. Offline-GPC-FTIR-Kopplung mit Verdampfung des Lösungsmittels	43
3.3.2. Hochtemperatur-GPC-IR-Kopplung	44
3.4. Adsorptionschromatographie-IR-Kopplungen	45
3.5. Adsorptionschromatographie mit QCL-Detektion	45

4. Methodenentwicklung	47
4.1. Optimierung des FTIR Spektrometers	49
4.1.1. Detektoren	50
4.1.2. Strahlengang	51
4.1.3. Schnelle Spektrenaufnahme	51
4.1.4. Apodisierung	53
4.2. Entwicklung von Flusszellen für die GPC-IR-Kopplung	54
4.2.1. ATR mit einer Reflexion	55
4.2.2. ATR mit mehreren Reflexionen	56
4.2.3. Transmissionszelle	57
4.2.4. Vergleich der selbst gebauten Zellen	61
4.3. Entwicklung der mathematischen Lösungsmittelunterdrückung	67
4.3.1. Lösungsmittelsubtraktion	69
4.3.2. Driftkorrektur	69
4.3.3. Rauschreduktion	70
4.3.4. Artefakte, Anleitung zur Interpretation	72
4.4. Optimierung der GPC	76
4.4.1. Flussraten	77
4.4.2. Säulendimensionen	80
4.4.3. Überladung	82
4.5. Evaluierung des QCL Spektrometers	85
4.5.1. Aufbau des EC-QCL Spektrometers	86
4.5.2. Optimierung der Messparameter	88
4.5.3. S/N Vergleich mit FTIR, Scan Mode, SW Mode	89
5. Exemplarische Anwendungen	91
5.1. GPC-FTIR	91
5.1.1. Substanzidentifikation	92
5.1.2. Verteilung der chemischen Zusammensetzung	96
5.1.3. Isorefraktive GPC-Proben	100
5.1.4. Selektivitätslimit	101
5.1.5. Sensitivitätslimit	103
5.2. Adsorptionschromatographie mit QCL-Detektion	104
5.2.1. Quantifizierung	106
5.2.2. Identifizierung	108
5.3. GPC mit QCL-Detektion	110
6. Zusammenfassung und Ausblick	113

Inhaltsverzeichnis

Anhang	119
A. Anhang	120
A.1. Fotos	120
A.2. Liste mit OPUS Messparametern	122
A.3. Technische Zeichnungen der Flusszellen	123
A.4. Quellcode der TIMO-Software	134
Abkürzungen, Symbole und Konstanten	139
Abbildungsverzeichnis	143
Tabellenverzeichnis	145
Literatur	146
Danksagungen	156

1

Einleitung und Motivation

Polymere Materialien sind z.B. in Form von Cellulose oder Wolle seit Anbeginn der Menschheit bekannt und werden in vielfältiger Weise genutzt. Die ersten künstlich hergestellten Polymere waren Polyvinylchlorid (PVC) Anfang des 19. Jahrhunderts und Bakelit seit 1910.^[1] Erst mit den Arbeiten und Ideen von Staudinger, der bereits zwischen 1907 und 1912 als Professor an der Universität Karlsruhe auf dem Gebiet der Polymere forschte, bildete sich ab 1920 eine Vorstellung von Polymeren als lange Molekülketten, die aus vielen regelmäßig wiederkehrenden Monomereinheiten aufgebaut sind.^[2-5] Mit der Entwicklung von Katalysatoren zur Polyethylenherstellung (PE) von Ziegler und Natta^[6-8] wurden Polymere ab Mitte des 20. Jahrhunderts in großem Maßstab verfügbar und vollsynthetische Kunststoffe begannen ihren Siegeszug. Eine Welt ohne künstliche Polymere ist aus heutiger Sicht nur schwer vorstellbar, da die Eigenschaften dieser leichten und kostengünstigen Materialien so vielfältig variiert und auf den Einsatzzweck und dessen Anforderungen angepasst werden können. Besonders bedeutend ist ihre Formbarkeit.^[9]

Massenkunststoffe wie PE, Polypropylen (PP), PVC, oder Polystyrol (PS) sind Homopolymere, d.h. ihre Bausteine, die Monomere, sind alle identisch. Bei der Herstellung kann die Länge der Ketten variiert werden, was die Materialeigenschaften wesentlich beeinflusst. Zusätzlich existieren neben rein linearen Polymeren auch verzweigte, die viele verschiedene Topologien wie z.B. Stern-Form oder Kamm-Form annehmen können. In modernen Materialien werden zudem unterschiedliche Polymere

1. Einleitung und Motivation

häufig zu einem Blend vermischt. Eine weitere Möglichkeit die Materialeigenschaft durch Veränderung der Moleküle zu beeinflussen ist die Herstellung von Copolymeren. Dabei werden zwei oder mehr unterschiedliche Monomere in den Polymerketten verbaut. Sie sind kovalent miteinander verbunden und es sind viele Anordnungen z.B. in Blöcken, alternierend oder statistisch möglich.

Fasst man all diese Möglichkeiten zusammen, so ergeben sich drei wesentliche Eigenschaften, die ein Polymermolekül charakterisieren: Die Größe, die chemische Zusammensetzung und die Topologie. Dies wird in Abb.1.1 veranschaulicht. Bei der Herstellung von Polymeren kann keine der drei Eigenschaften bisher genau definiert werden und bei synthetischen Polymeren unterliegen daher alle einer Verteilung.

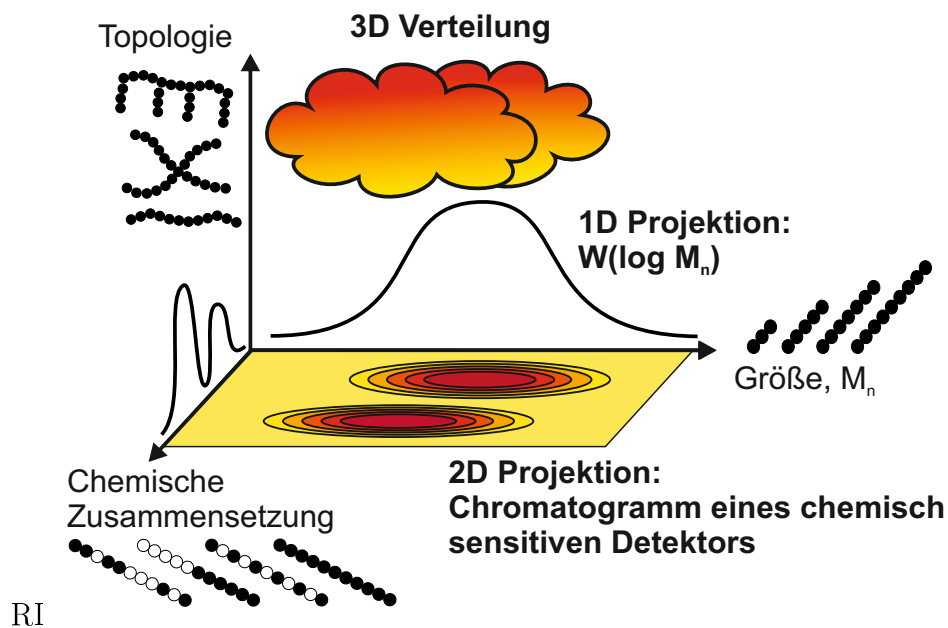


Abbildung 1.1.: Die drei wichtigsten molekularen Eigenschaften von Polymeren sind ihre Größe, die chemische Zusammensetzung und ihre Topologie.

Während die Bestimmung der Topologie auf Grund des geringen relativen Verzweigungsgrads meist sehr schwierig ist, existieren für die Achsen der Größe und der chemischen Zusammensetzung analytische Standardverfahren. Die Zusammensetzung wird dabei über Spektroskopie (meist Kernresonanzspektroskopie, NMR oder Infrarotspektroskopie, IR) bestimmt. Die Größe der Moleküle kann als Mittelwert über z.B. Lichtstreuung, Osmometrie oder spektroskopische Endgruppenanalytik bestimmt werden, wobei unterschiedliche Mittelwerte (vgl. Kap. 2.2.3) aus den verschiedenen Methoden erhalten werden, die in Kombination auch Aussagen über die Größenverteilung erlauben. Die Verteilung des Molekulargewichts wird prinzipiell mit Gelpermeationschromatographie (GPC) zugänglich. Alternative Verfahren wie fraktionierte Fällung sind wesentlich aufwändiger.

1. Einleitung und Motivation

Um nicht nur die eindimensionalen Projektionen der dreidimensionalen Verteilung (Abb. 1.1), sondern die 2D-Projektion, d.h. die molekulargewichtsabhängige chemische Zusammensetzung zu erhalten ist die Kopplung von Chromatographie und Spektroskopie nötig. Für die GPC stehen zwar verschiedene Detektoren zur Verfügung, jedoch ist keiner der Standard-Detektoren ausreichend chemisch sensitiv (s. Kap. 2.2.2). Während ein Standard-Detektor nur den Messwert einer einzelnen Größe, z.B. Brechungsindex, ausgibt, liefert die Spektroskopie nicht nur viele Datenpunkte für unterschiedliche Frequenzen zeitgleich und entspricht damit vielen gleichzeitig eingesetzten Detektoren, sondern das Spektrum erlaubt auch Aussagen über die chemische Beschaffenheit. Daher wurden schon einige Kopplungen zwischen Gelpermeationschromatographie und Spektroskopie realisiert (s. Kap. 3). Um jedoch als chemisch sensitiver Standard-Detektor in der Routineanalytik eingesetzt zu werden sind diese oft zu teuer (z.B. Hochfeld-NMR-Spektrometer, s. Kap. 3.2), zu aufwändig (z.B. zweistufige Verfahren mit Lösungsmittelverdampfung, s. Kap. 3.3.1) oder zu stark auf bestimmte Fragestellungen limitiert (z.B. Hochtemperatur-GPC, s. Kap. 3.3.2).

Daher sollte in dieser Arbeit eine weitere Kopplungsmethode aus GPC und Infrarotspektroskopie realisiert werden, die aus kommerziell verfügbaren Geräten besteht, welche bezüglich aller Parameter vollständig optimiert wurden (Kap. 4.1 und Kap. 4.4). Der Detektor sollte darüber hinaus online arbeiten, was den Bau geeigneter Flusszellen erforderlich machte (Kap. 4.2). Die Methode sollte zu einem späteren Zeitpunkt prinzipiell ohne tiefer gehende Kenntnisse über Spektroskopie bedienbar sein. Die eigentliche Herausforderung war es, die Sensitivität der Methode so weit zu optimieren, dass das Lösungsmittel mathematisch, mit einer neu entwickelten Methode unterdrückt werden konnte (Kap. 4.3).

Um mit einer Verstärkung der Strahlungsintensität der Lichtquelle in der Spektroskopie die Sensitivität nochmals zu erhöhen, wurden andere, stärkere Lichtquellen gesucht. Mit den sog. Quantenkaskadenlasern – genauer EC-QCLs (s. Kap. 2.4) – wurden Strahlungsquellen gefunden, die potentiell die Anforderungen erfüllen. In ersten Versuchen diese mit Chromatographie zu koppeln sollten deren Einsatzmöglichkeiten evaluiert werden (Kap. 4.5, 5.2 und 5.3).

Für einen solchen, chemisch sensitiven Detektor gibt es viele Einsatzmöglichkeiten in der Polymeranalytik. An einigen Beispielen wird dies im Kapitel 5 beleuchtet.

2

Theoretische Grundlagen

2.1. Signale und Rauschen

Fast alle Messwerte werden heutzutage bevorzugt digital, d.h. mit Computern erfasst. Dazu wird die zu bestimmende Messgröße, sei es z.B. das Infrarotlicht im Spektrometer oder auch der Brechungsindex in einem Brechungsindexdetektor der Gelpermeationschromatographie, im besten Fall in ein elektrisches Signal gewandelt. Die Methoden dafür sind sehr unterschiedlich, je nach zu messender Größe. Am Ende liegt oft eine elektrische Spannung vor, die über einen Analog-Digital-Wandler (ADC, für engl. „analog digital converter“) digitalisiert wird. Veränderungen dieser Spannung werden als Signale detektiert. Dabei muss berücksichtigt werden, wie exakt eine solche Messung sein kann und wie groß eine Veränderung mindestens sein muss, um tatsächlich als Signal zu gelten.^[10]

Jede Messung wird von Rauschen begleitet. Rauschen ist per Definition die zufällige Fluktuation im Signal, die unterschiedliche Ursachen haben kann. So können z.B. Schwankungen im Luftdruck oder der Temperatur einen Einfluss haben. Aber auch Unstetigkeiten sowie die Grundfrequenz von 50 Hz im europäischen, elektrischen Netzstrom finden sich oft als ungewollte Artefakte in Messsignalen wieder. Aufgrund der thermischen Energie bewegen sich Elektronen in elektrischen Leitern und verursachen so Rauschen. Personen die sich im Labor bewegen und damit Erschütterungen hervorrufen sind ebenfalls eine Quelle für Rauschen. Dies sind nur

2. Theoretische Grundlagen

einige der unzähligen Ursachen für Rauschen, die niemals alle beseitigt werden können. Durch diverse Maßnahmen wie z.B. einen vibrationsarmen Messaufbau kann Rauschen häufig substantiell reduziert werden. In der Datenverarbeitung kann man durch Filterung und/oder Glättung das Signal verbessern. Grundsätzlich ist Rauschen ungewollt und statistisch. Es muss von systematischen ungewollten und störenden Signalen sowie Artefakten unterschieden werden. Das Rauschen N wird meist als die Standardabweichung σ mehrerer Messungen definiert:

$$N = \sigma = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (S_i - \bar{S})^2} \quad (2.1)$$

wobei n die Anzahl der Messungen, S_i die Signale der einzelnen Messungen und \bar{S} der Mittelwert der Signalintensitäten ist.

Da mehrere Messungen nur zur Bestimmung des Rauschen einen hohen Zeitaufwand bedeuten, wird in der Praxis oft ein Kompromiss bei der Bestimmung des Rauschens eingegangen. In der Spektroskopie wird häufig ein signalfreier Bereich des Spektrums genutzt und die Fluktuation im Nullsignal als Rauschen berechnet. Dies hat erhebliche Nachteile, da erstens die Annahme der Bereich sei frei von Signalen falsch sein kann, wenn z.B. geringe Verunreinigungen Signale verursachen. Zwischen zufälligem und systematischen Signalen kann in einer einzelnen Messung nie zweifelsfrei unterschieden werden. Zweitens kann das Rauschen frequenzabhängig sein. Dies trifft in der Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie (FTIR) aufgrund der Charakteristik des Einkanalpektrums immer zu.^[11] Man bestimmt in der Frequenzrichtung daher einen Rauschwert, der das tatsächliche Rauschen gar nicht wiedergibt. Der Wert skaliert meist dennoch linear mit dem tatsächlichen Wert und so sind Vergleiche und Optimierungen möglich. Im Falle der FTIR ist das Rauschen wegen der Datenverarbeitung zusätzlich von der Signalintensität abhängig.^[12] In der Chromatographie gelten diese drei Punkte zwar grundsätzlich ebenso, allerdings kann ein Bereich – z.B. zu Beginn des Chromatogramms – mit sehr viel höherer Wahrscheinlichkeit als signalfrei angenommen werden. Da eine Messung in der Chromatographie häufig auch länger dauert (typischerweise zwischen 10 min und 60 min), ist ein solcher Kompromiss eher zu rechtfertigen.

In der Spektroskopie kann als ein Mittelweg zwischen der Messung vieler Spektren und nur einem Spektrum das Rauschen auch noch auf folgende Weise bestimmt werden. Man nutzt zwei Messungen derselben Probe – meist direkt hintereinander gemessen – und bildet die Differenz, diese gibt theoretisch nur statistische Fluktuationen wieder, berücksichtigt aber nicht die Frequenz- bzw. Intensitätsabhängigkeit.

2. Theoretische Grundlagen

Rauschwerte korrekt zu bestimmen bedeutet fast immer einen erhöhten Aufwand und daher werden sie in der Praxis meist ungenau bestimmt. Da das Rauschen auch von vielen Faktoren abhängt, die man nicht beeinflussen kann und deren Einfluss man auch nicht kennt – z.B. die Jahreszeit – können Rauschwerte immer nur dann sinnvoll verglichen werden, wenn viele Parameter unverändert bleiben, die Messungen also möglichst identisch durchgeführt werden. Für solch direkte Vergleiche genügt auch ein nach der eigentlichen Definition ungenau bestimmter Rauschwert.

Ein Rauschwert alleine ist nicht aussagekräftig. Nur im Verhältnis mit der Signalintensität ergibt sich eine sinnvolle Messgröße, das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (S/N). Das S/N gibt quasi die Unsicherheit oder den Messfehler in der Signalintensität wieder. Daher wird allgemein in der Spektroskopie und ebenso in der Chromatographie ein Grenzwert von $S/N \geq 3$ für den Nachweis einer Substanz festgelegt, der auch engl. als „limit of detection“ (LOD) bezeichnet wird.^[13] Signale werden üblicherweise erst ab einem Grenzwert von $S/N \geq 10$ quantifiziert, was einer Unsicherheit von 10 % entspricht. Dies wird engl. als „limit of quantification“ (LOQ) bezeichnet.^[14]

Das S/N kann verbessert werden, indem mehrere Messungen aufaddiert oder gemittelt werden.^[10] Der Grund ist, dass beim Aufaddieren das Signal stärker wächst als das Rauschen. Addiert man n Messungen so gilt für das Signal S :

$$S = \sum_{i=1}^n S_i \quad (2.2)$$

Da die Signalintensitäten der Einzelmessungen S_i in der Theorie alle gleich sind, gilt:

$$S = n \cdot S_i \quad (2.3)$$

Das Signal skaliert folglich linear mit der Anzahl der Messungen. Das statistische Rauschen, welches als Standardabweichung (s. Gl. 2.1) berechnet wird, skaliert hingegen nur mit der Quadratwurzel der Anzahl der aufaddierten Messungen.^[10]

$$N = \sqrt{n} \cdot N_i \quad (2.4)$$

Für das S/N folgt dann:

$$\frac{S}{N} = \frac{n \cdot S_i}{\sqrt{n} \cdot N_i} = \sqrt{n} \left(\frac{S}{N} \right)_i \quad (2.5)$$

Die Messzeit für eine Messung t_i kann als konstant angenommen werden, daher ist

2. Theoretische Grundlagen

die Gesamtmesszeit t proportional zur Anzahl der Spektren.

$$t \propto n \tag{2.6}$$

Aus Gl. 2.5 und Gl. 2.6 folgt, dass bei mehreren Messungen das S/N mit der Wurzel der Messzeit skaliert oder:

$$\frac{S/N}{\sqrt{t}} = \text{const.} \tag{2.7}$$

Dieser Wert, das $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ ist konstant für eine bestimmte Messapparatur mit definierten Einstellungen bzw. Parametern. Für zeitaufgelöste Messungen – wie bei der Kopplung von Chromatographie und Spektroskopie – sollte dieser Wert als Messgröße für die Optimierung der Parameterkonfigurationen herangezogen werden. Ist das $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ z.B. für die Spektroskopie maximal, so kann die chromatographische, d.h. zeitliche Auflösung zu Gunsten des S/N reduziert werden. Der Nutzer kann so seinen Fokus je nach Fragestellung, mehr auf die Auflösung der Chromatographie (vgl. auch Kap. 2.1) oder mehr auf die Sensitivität der Spektren legen.

Betrachtet man die Sensitivität einer Messung als die Auflösung auf der Intensitäts- oder Y-Achse, so muss davon getrennt die Auflösung auf der X-Achse, sei es Frequenz, Zeit oder jede andere Größe, betrachtet werden. Diese nennt man meist Selektivität, da hier verschiedene Signale voneinander unterschieden werden. Die Parameter, die die Selektivität beeinflussen sind je nach Messmethode unterschiedlich. Für die FTIR Spektroskopie und die GPC soll daher in den folgenden Kapiteln nochmals auf die Selektivität bzw. die Einflüsse auf die Signal- oder Bandenverbreiterung eingegangen werden (s. Kap. 2.3.2 und Kap. 2.2.3). Wenn eine hohe Selektivität der Methode gefordert ist, so ist das Ziel meist einen Basislinientrennung der Signale. Dies ist natürlich nur möglich, wenn die Ursache der Signalverbreiterung in der Messmethode liegt. Oft genug überlappen Signale auf Grund intrinsischer Ursachen und sind dann nicht aufzulösen. Für die Adsorptionsflüssigchromatographie steht mit der Möglichkeit verschiedene Lösungsmittel in sog. Gradienten zu mischen ein sehr leistungsfähiges Mittel zur Verfügung, mit welchem die Selektivität beeinflusst, auf die individuelle Fragestellung angepasst und damit meist bis zur Basislinientrennung verbessert werden kann. Im Falle der GPC ist aber auch die Form der Signale entscheidend, daher ist die chromatographische Auflösung von besonderer Bedeutung. Im Kapitel 2.2.3 wird ausführlicher beschrieben, welche Faktoren die Bandenverbreiterung in der GPC beeinflussen und welche Auswirkungen auf die Messwerte sich daraus ergeben.

2.2. Grundlagen der Chromatographie

Die Chromatographie ist eine Methode zur Trennung von Stoffen oder Stoffgemischen nach verschiedenen Eigenschaften.^[15] Allen Arten von Chromatographie ist dabei gemein, dass das zu trennende Stoffgemisch in der sog. mobilen Phase – meist einer Flüssigkeit oder einem Gas – gelöst oder verteilt ist und an der stationären Phase – meist einem Feststoff oder einem Gel – vorbeigeführt wird. Dabei wechselwirken die Stoffe unterschiedlich stark mit der stationären Phase und werden dem entsprechend unterschiedlich lange zurückgehalten. Man unterscheidet viele Arten der Chromatographie z.B. nach Art der mobilen und der stationären Phase (Gas- und Flüssigchromatographie) oder nach Art der Wechselwirkung (z.B. Adsorptionschromatographie und Größenausschlusschromatographie). Abb. 2.1 zeigt die Zusammenhänge der für diese Arbeit wichtigen Chromatographiearten.

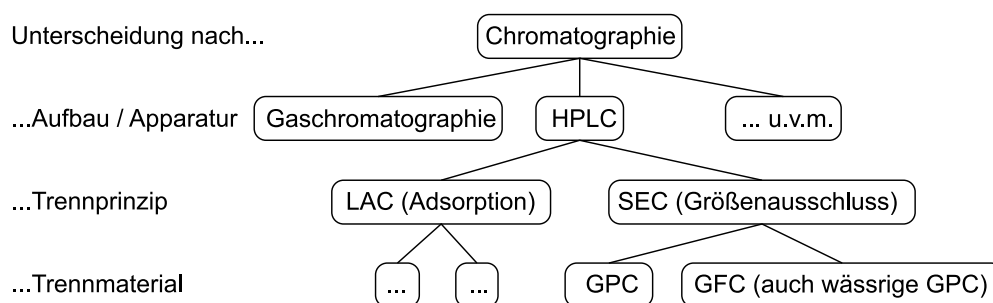


Abbildung 2.1.: Übersicht über die Zusammenhänge der für diese Arbeit wichtigen Chromatographiearten (vgl. auch die Definitionen in Kap. 2.2.1). Wie im deutschen Sprachraum üblich, werden in dieser Arbeit SEC und GPC meist synonym gebraucht und sind vor allem von der LAC zu unterscheiden.

Besonders die Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC für engl. „high pressure liquid chromatography“ oder auch „high performance liquid chromatography“) wird häufig verwendet. Der generelle Aufbau einer solchen HPLC-Anlage ist in Abb. 2.2 dargestellt und besteht immer aus einem Lösungsmittelvorrat, von welchem aus das als Eluent bezeichnete Lösungsmittel mittels einer Pumpe durch die Trennsäule und die anschließenden Detektoren gepumpt wird. Alle Bauteile werden mit dünnen Schläuchen aus chemisch inertem Material (z.B. PTFE oder PEEK) oder Edelstahlkapillaren verbunden. HPLC-Pumpen müssen nicht nur einen hohen Druck (ca. 50 bar bis 200 bar) erzeugen können, sondern auch einen sehr gleichmäßigen Volumenstrom bei möglichst geringen Druckschwankungen liefern. Daher werden sog. Kurzhub-Kolbenpumpen eingesetzt. Nach der Pumpe folgt eine Injektionseinheit mit einer entsprechenden Probenschleife, die über das Volumen die Probenmenge festlegt, die in das System eingebracht wird. Häufig ist an den Injektor ein Proben-

2. Theoretische Grundlagen

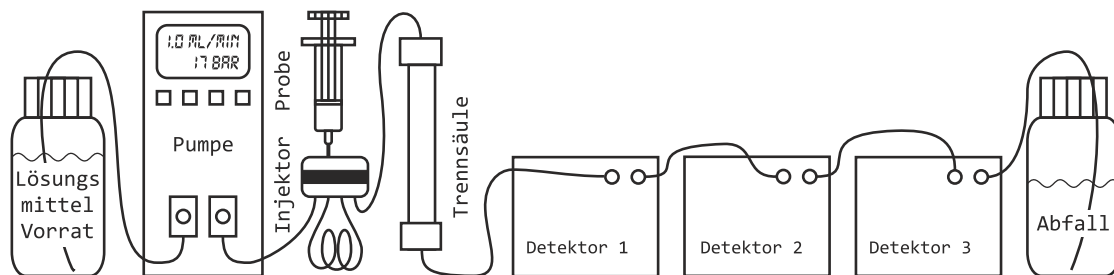


Abbildung 2.2.: Aufbau einer Hochdruckflüssigchromatographieanlage (HPLC) mit Lösungsmittelvorrat, Kurzhub-Kolbenpumpe, Probeninjektionseinheit, Trennsäule sowie ein oder mehreren Detektoren. Die Bauteile sind mit dünnen Schläuchen oder Kapillaren verbunden.

geber (hier nicht gezeigt) angebracht, der vollautomatisierte Messungen ermöglicht. Die injizierte Probelösung durchläuft anschließend die Trennsäule, welche mit verschiedensten Trennmaterialien und in verschiedenen Dimensionierungen erhältlich sind. Häufig wird zur besseren Trennung eine Kombination aus mehreren Säulen eingesetzt. Zusätzlich ist die Verwendung einer Vorsäule üblich, deren Hauptzweck der Schutz der übrigen Säulen vor Verunreinigungen ist. Durch die Wechselwirkung mit dem Trennmaterial in dieser Säule (für GPC s. auch Kap. 2.2.1) eluieren die verschiedenen Substanzen nun zu unterschiedlichen Zeiten und werden von einem oder mehreren Detektoren registriert. Für die HPLC gibt es sehr viele Detektoren, von denen nur wenige sinnvoll als GPC-Detektoren eingesetzt werden können (s. Kap. 2.2.2). Je nach Detektionsprinzip haben die Detektoren besondere Anforderungen und können ggf. auch nur parallel statt wie in Abb. 2.2 gezeigt seriell angeschlossen werden. Sofern die Probe nur zu Analysezwecken aufgetrennt wurde wird der Eluent nach Durchlauf aller Detektoren meist in einem Abfallgefäß gesammelt. Die Probe kann bei Einsatz größer dimensionierter Säulen auch fraktioniert oder bei wertvollen Proben aufgefangen werden.

HPLC wird im Allgemeinen als Adsorptionschromatographie (LAC von engl. „liquid adsorption chromatographie“) betrieben. LAC unterscheidet sich im Trennmechanismus grundlegend von der SEC und damit auch von der GPC (s. Kap. 2.2.1 und Abb. 2.1). Bei LAC findet zwischen den Probemolekülen und dem Säulenmaterial eine anziehende, enthalpische Wechselwirkung statt, welche die Moleküle bremst. Die Trennung erfolgt daher nach „chemischer Eigenenschaft“. Für eine Vorhersage der Elutionsreihenfolge kann die Polarität herangezogen werden, um das Verteilungsgleichgewicht zwischen mobiler und stationärer Phase abzuschätzen. Wenn zusätzlich Lösungsmittelgemische eingesetzt werden, deren Mischungsverhältnis sich im Laufe der Messung ändert – man spricht von Gradientenelution – kann die LAC sehr schwierige Trennungen ermöglichen, die Vorhersage wird aber ungleich kom-

2. Theoretische Grundlagen

plizierter. Die Methodenentwicklung in der LAC beruht zu einem großen Teil auf Versuch und Irrtum.

Im Gegensatz dazu wird die GPC fast ausschließlich isokratisch betrieben, d.h. ohne Lösungsmitteländerung während der Messung. Die Moleküle sollten dem Prinzip entsprechend nicht enthalpisch mit dem Säulenmaterial wechselwirken und werden daher auch nicht zurückgehalten, sondern durchlaufen die Säule schneller als das sie umgebende Lösungsmittel. Die Auftrennung erfolgt nach dem hydrodynamischen Volumen V_h und wird im folgenden Kapitel genauer beschrieben. Da das hydrodynamische Volumen mit der Molekülgröße skaliert, ist die GPC eine wichtige Analysemethode für Polymere und Makromoleküle, deren Eigenschaften wesentlich von der Größe und der Größenverteilung abhängen.

2.2.1. Trennprinzip der Gelpermeationschromatographie (GPC)

Das Trennmaterial in GPC-Säulen ist ein poröses (Gel-)Material. Die Porengröße entspricht in etwa der Molekülgröße. Kleinere Moleküle können auf ihrem Weg durch die Säule in diese Poren hinein diffundieren, während größere Moleküle nicht oder nicht vollständig in die Poren passen. Größeren Molekülen steht daher in der gesamten Säule weniger Platz zur Verfügung wie kleineren Molekülen, sie eluieren daher früher. Dies wird in Abbildung 2.3 illustriert.

Die GPC wird daher zur Beschreibung des Trennprinzips folgerichtig als Größenausschlusschromatographie bezeichnet. Im Englischen ist der entsprechende Begriff „size exclusion chromatography (SEC)“ wesentlich weiter verbreitet. Im Deutschen wird aus historischen Gründen häufiger von Gelpermeationschromatographie (GPC) gesprochen. Manchmal ist damit nur GPC in organischen Lösemittel gemeint und wird von Gelfiltrationschromatographie (GFC) in wässrige Eluenten unterschieden.^[16]

Die Trennsäule der GPC hat einen Trennbereich mit definiertem Anfang und Ende. Zuerst eluieren große Moleküle, die vollständig aus allen Poren ausgeschlossen werden. Überschreiten die Moleküle diese charakteristische Größe findet keine Auftrennung mehr statt. Das entsprechende Elutionsvolumen wird mit V_0 bezeichnet. Die kleinsten Moleküle dringen vollständig in alle Poren ein und eluieren daher als letztes. Da die Lösungsmittelmoleküle mit zu den kleinsten Molekülen gehören, wird das Elutionsvolumen hier analog zur allen anderen Chromatographien als Totvolumen V_t bezeichnet. Zwischen V_0 und V_t eluieren die Moleküle, die unterschiedlich tief in die Poren und in unterschiedlich viele Poren eindringen können und daher aufgetrennt werden. Der hydrodynamische Radius ist proportional zum Logarithmus des

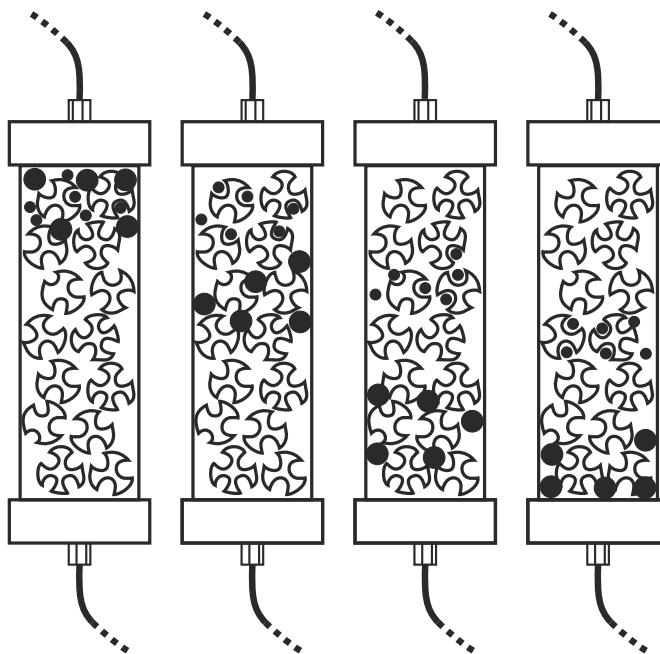


Abbildung 2.3.: Trennprinzip der GPC schematisch dargestellt am Beispiel eines Gemischs aus zwei Sorten unterschiedlich großer Teilchen (schwarze Kreise), die das poröse Trennmateriale unterschiedlich schnell durchlaufen.

Molekulargewichts, sodass sich für idealisierte Poren eine theoretische Kalibrierkurve ergibt, wie sie in Abbildung 2.4 ergibt.^[17] Da die Poren nicht alle gleich groß sind und ebenfalls einer Verteilung unterliegen, „schmieren“ die scharfen Kanten der Kalibrierkurve aus, sodass sich eine stetig differenzierbare Kurve ergibt. In der Praxis wird diese durch ein Polynom dritten, fünften oder siebten Grades dargestellt werden (abhängig auch von der Anzahl an Stützstellen).^[18] Eine Kalibrierung der GPC Säule wird meist mit engverteilten und gut charakterisierten Kalibrierstandards des selben Polymers wie das untersuchte vorgenommen, sofern diese erhältlich sind. Besonders wenn neuartige Polymere synthetisiert und charakterisiert werden, sind passende Kalibrierstandards häufig nicht verfügbar. Daher findet man in der Literatur auch Messwerte die nur bezogen auf die Kalibrierung mit einem gängigen Polymer, z.B. Polystyrol (PS), angegeben werden. Engverteilte Standards werden meist über anionische Polymerisation hergestellt, eine Kalibrierung mit breiten Kalibrierproben ist ebenfalls möglich.^[19] Darüber hinaus kann mit einem Viskositätsdetektor universell kalibriert werden oder mit einem statischen Lichtstreuendetektor direkt online die absolute Masse bestimmt werden (s. Kap. 2.2.2).

In der Chromatographie verteilen sich die Analytmoleküle zwischen stationärer und mobiler Phase und werden dadurch aufgetrennt. Diese Verteilung unterliegt einem Gleichgewicht mit der Gleichgewichtskonstante K , welche über die absolute Temperatur T und die ideale Gaskonstante R mit der freien Gibbs'schen Enthalpie

2. Theoretische Grundlagen

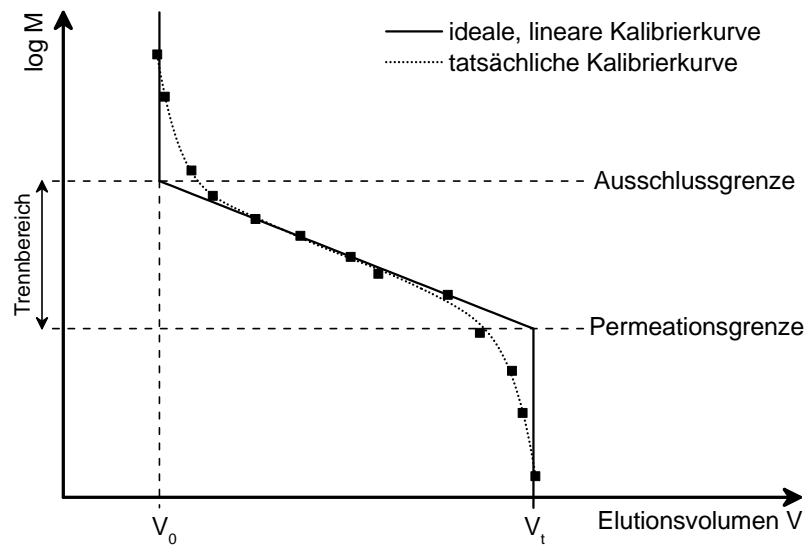


Abbildung 2.4.: Idealisierte und tatsächliche Kalibrierkurve einer GPC-Säule. Moleküle, die auf Grund ihres hydrodynamischen Volumens zwischen V_0 und V_t eluieren, haben ein Molekulargewicht M , welches im Trennbereich der Säule liegt.

ΔG° und damit mit der Standardenthalpie ΔH° und der Standardentropie ΔS° verknüpft:

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (2.8)$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad (2.9)$$

Bei der LAC und auch der Gaschromatographie spielt idealerweise nur der Enthalpieterm eine Rolle. Bei der GPC ist es umgekehrt und nur der Entropieterm ist von Bedeutung. Damit lässt sich der Ausdruck für K wie folgt vereinfachen.

$$K \approx \exp \left\{ \frac{\Delta S^\circ}{R} \right\} \quad (2.10)$$

Die Entropie S ist ein Maß für die Unordnung oder genauer gesagt für die Anzahl möglicher Zustände. Da kleinere Moleküle mehr verschiedene Positionen und Konformationen einnehmen können als größere Moleküle, nimmt die Entropie für sie einen höheren Wert an. Daher sind die Verteilungsgleichgewichte unterschiedlich, was die Auftrennung in der Säule erklärt.^[16] Die Auftrennung in der GPC sollte dementsprechend temperaturunabhängig zu sein. Der Einfluss der Temperatur ist tatsächlich gering, nur indirekt wirkt die Temperatur über eine veränderte Viskosität und einen geringen Einfluss auf das hydrodynamische Volumen auf die GPC-Trennung.

2.2.2. GPC-Detektoren

Jeder Chromatographiedetektor kann im Prinzip als gekoppelte Messmethode betrachtet werden. Die Unterscheidung unterliegt historischen und konventionellen Bedingungen. Messgeräte, die häufig zur Detektion in der HPLC eingesetzt werden (und daher kommerziell angepasst für diesen Zweck erhältlich sind), als solche etabliert sind oder nur die Konzentration messen, werden als Detektoren bezeichnet. Beispiele dafür sind Brechungsindex-Messgeräte oder auch UV-VIS-Photometer mit fester (ggf. auch wählbarer) Wellenlänge. Geräte die auch ohne eine GPC-Trennung zu Analysezwecken genutzt werden, wie z.B. Spektrometer, werden eher als Kopplung bezeichnet und im Kapitel 3 besprochen. Dazwischen gibt es auch Messtechniken, die sowohl als Detektoren und zum Teil auch als Kopplungen bezeichnet werden, darunter fallen z.B. Lichtstremessungen und Viskositätsmessungen (vgl. Kap. 2.2.2).

Für die HPLC gibt es sehr viele Detektoren, die je nach Trennproblem eingesetzt werden. Viele dieser Detektoren sind für die GPC nicht sinnvoll, wie z.B. Fluoreszenzdetektoren, Verdampfungs-Lichtstreu-Detektoren oder Leitfähigkeitsdetektoren.^[15] Für die GPC sind vor allem vier Detektoren wichtig. Als Konzentrationsdetektoren sind der Differenzielle-Brechungsindex- (DRI) und der UV-VIS-Detektor im Einsatz, daneben findet man häufig statische Lichtstreuendetektoren (LSD, engl. „light scattering detector“) und Viskosimeter als sog. molmassensensitiven Detektoren. Die Konzentrationsdetektoren sind die Basis jeder GPC-Messung, da sie die Konzentration der gelösten Stoffe als Funktion des Elutionsvolumens messen und so das Chromatogramm aufzeichnen. Zur Auswertung der Signale der molmassensensitiven Detektoren benötigt man die Information über die Konzentration aus DRI- oder UV-Detektor. Der Zweck der molmassensensitiven Detektoren ist quasi die Online-Kalibrierung der GPC. Die vergleichsweise große Unsicherheit bei der Bestimmung der Molmasse über eine Kalibrierung mit Kalibrierstandards ist ein Nachteil innerhalb der GPC. Durch Kopplung mit LSD oder Viskosimeter kann die Größe der Moleküle online bestimmt und die Unsicherheit damit verkleinert werden. Allen typischen GPC Detektoren ist jedoch gemein, dass sie keine Informationen über die chemische Zusammensetzung der Probe liefern. Der UV-VIS-Detektor ist hier theoretisch eine Ausnahme, in der Praxis sind die UV-VIS-Spektren von Polymeren aber nicht spezifisch genug für eine qualitative Unterscheidung verschiedener Polymere. Tabelle 2.1 listet die vier gängigen GPC-Detektoren nochmals auf.

2. Theoretische Grundlagen

Detektor	Messprinzip	Information
DRI	Δn	mittlere Elektronendichte
UV-VIS	meist $\pi \rightarrow \pi^*$	best. funktionelle Gruppen
Lichtstreuendetektor	$\Delta R_\theta \propto Kc\overline{M}_w$	abs. Molekulargewicht
Viskositätsdetektor	$\Delta P = \eta \frac{8Fl}{\pi r^4}$	hydrodynamisches Volumen

Tabelle 2.1.: Übersicht über die GPC-Detektoren.

Konzentrationsdetektoren: Differentieller Brechungsindexdetektor und UV-VIS-Detektor

In einem Brechungsindexdetektor wird eine Mess- und eine Referenzzelle von einem Lichtstrahl durchstrahlt, welcher je nach Brechungsindex der Lösungen unterschiedlich stark gebrochen wird. Die Ablenkung wird mit Photodioden registriert. Für den genauen geometrischen Aufbau gibt es verschiedene gebräuchliche Möglichkeiten. Eine zehnfach höhere Sensitivität wird erreicht, wenn der Lichtstrahl eines Lasers mit einem Strahlteiler geteilt, getrennt durch Mess- und Referenzzelle geführt und vor der Photodiode beide Teilstrahlen zur Interferenz gebracht werden. Der Brechungsindex kann so über die Intensität sehr genau bestimmt werden.^[15] Die Referenzzelle ist immer mit reinem Lösungsmittel gefüllt und kann normalerweise vor einer GPC-Messung vollautomatisch durch Umschalten diverser Ventile gespült werden. Der Brechungsindexdetektor misst damit immer nur den Brechungsindexunterschied zwischen reinem Lösungsmittel und der Lösung. Eluiert das Polymer ändert sich der Brechungsindex der Lösung und so kann das Polymer vom DRI registriert werden. Da der Brechungsindexdetektor nur Brechungsindex-Unterschiede oder -Änderungen misst, wird er korrekt als Differentieller Brechungsindexdetektor (DRI, von engl. „differential refractive index“) bezeichnet.

Der Brechungsindex n einer Lösung setzt sich aus dem Brechungsindex n_0 des Lösungsmittels und dem Brechungsindex n_i des gelösten Stoffes zusammen, abhängig von der Konzentration c in g/L des gelösten Stoffs. Der Brechungsindexunterschied Δn ist damit – unter Vernachlässigung des partiellen Molvolumens, also für verdünnte Lösungen – proportional der Konzentration:

$$n = n_0 + (n_i - n_0) \cdot c \quad (2.11)$$

$$\Delta n = n - n_0 = (n_i - n_0) \cdot c \quad (2.12)$$

Bis auf wenige Ausnahmen unterscheidet sich der Brechungsindex des Polymers von dem des Lösungsmittels. Daher ist der DRI sehr universell als GPC-Detektor ein-

2. Theoretische Grundlagen

setzbar. Eine solche Ausnahme aus Probe und Polymer – z.B. Polydimethylsiloxan in Tetrahydrofuran oder Polymilchsäure in Chloroform – nennt man isorefraktiv, sie können dennoch mit online gekoppelter FTIR-Spektroskopie detektiert werden (s. Kap. 5.1.3). In der LAC wird der DRI hingegen seltener eingesetzt, da die LAC selten isokratisch (d.h. mit nur einem Lösungsmittel) betrieben wird. Ein Lösungsmittelgradient kann in der Referenzzelle nicht abgebildet werden. Ein Lösungsmittelwechsel übersteigt in der Regel den dynamischen Bereich des Detektors und kann daher nicht kompensiert werden. Der Brechungsindexdetektor ist allgemein sehr empfindlich, meist unter $\Delta n = 10^{-7}$ RIU (Brechungsindexeinheiten, engl. „refractive index unit“).^[20] Damit können Nachweisgrenzen von bis zu 5×10^{-4} g/L erreicht werden.^[15] Der Brechungsindex ist stark von Temperatur und Druck abhängig, daher besitzen DRI-Detektoren eine temperierte Messzelle und sollen am Ende im chromatographischen System platziert werden, um Druckschwankungen zu vermeiden.

Der UV-VIS-Detektor basiert auf dem Prinzip der UV-VIS-Spektroskopie. Es wird die Absorption von elektromagnetischer Strahlung im ultravioletten (UV) und sichtbaren (VIS) Spektralbereich gemessen (z.B. 190 nm bis 950 nm). Mit diesen Wellenlängen können nur elektronische Übergänge zwischen Molekülorbitalen mit sehr ähnlicher Energie angeregt werden. Dies sind oft Valenzorbitale von bestimmten funktionellen Gruppen. Häufig sind dies konjugierte Doppelbindungen oder Doppelbindungen in Nachbarschaft zu Heteroatomen. Ausgedehnte aromatische Systeme absorbieren ebenfalls im UV-VIS-Bereich. Neben Carbonylgruppen sind hier noch Brom, Iod, Schwefel sowie Nitrogruppen zu nennen.^[21] Die verwendete Wellenlänge kann bei UV-VIS-Detektoren meist gewählt werden. Es existieren auch sog. Dioden-Array-Detektoren, die viele Wellenlängen zeitgleich detektieren und so ein Spektrum mit begrenzter Auflösung messen.^[22] UV-VIS-Detektoren zeichnen sich durch eine hohe Empfindlichkeit mit Nachweisgrenzen bis zu 5×10^{-7} g/L aus und haben zudem sehr kleine Messzellen ($\approx 10 \mu\text{L}$).^[15] Da viele der häufig verwendeten Polymere die oben genannten funktionellen Gruppen nicht haben (z.B. PE, PP, PVC und POM) und besonders da UV-VIS-Spektren nicht sehr spezifisch sind, ist die Anwendbarkeit von UV-VIS-Detektoren für die GPC eingeschränkt.

Molmassensensitive Detektoren: Lichtstredetektoren und Viskositätsdetektor

Streumethoden werden generell zur Strukturaufklärung genutzt. Zur Bestimmung der Größe von Polymeren in Lösung eignet sich Licht im sichtbaren Spektralbereich. Da die Molekülgröße eine wichtige Eigenschaft von Polymeren ist, wird Lichtstreuung generell zur Größenbestimmung in der Polymeranalytik verwendet.^[23] Da die

2. Theoretische Grundlagen

GPC eine große Unsicherheit bei der Bestimmung absoluter Molmassen hat, wird eine Kopplung mit Lichtstreuung verwendet, die eine vergleichsweise genaue Molmassenbestimmung erlaubt. In einem Lichtstreuendetektor bestrahlt ein Laser das Eluat und ein oder mehrere Photodioden registrieren das Streulicht in einem oder mehreren Streuwinkeln θ zum Primärstrahl. Werden mehrere Streuwinkel gleichzeitig untersucht spricht man von MALLS (engl. „multi angle laser light scattering“). Zur Auswertung nutzt man Näherungen, die von Zimm entwickelt wurden.^[24,25]

Das Verhältnis aus der Intensität des Streulichts I_S und des Primärstrahls I_0 wird dabei mit den gerätespezifischen Werten Streuvolumen V und Abstand zwischen Messzelle und Photodiode r in eine normierte Streuintensität, das sog. Rayleigh-Verhältnis $R(\theta)$, überführt:^[26]

$$R(\theta) = \frac{I_S}{I_0} \cdot \frac{r^2}{V(1 + \cos^2 \theta)} \quad (2.13)$$

Das Rayleigh-Verhältnis ändert sich zwischen reinem Lösungsmittel und Polymerlösung. Diese Änderung ΔR_θ kann über folgende Virialgleichung, die häufig nach dem zweiten Term abgebrochen wird, mit der Konzentration c und dem Molgewicht M_w verknüpft werden:^[26]

$$\frac{K \cdot c}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M_w P(\theta)} + 2A_2 c + 3A_3 c^2 + \dots \quad (2.14)$$

Dabei sind A_i die Virialkoeffizienten und $P(\theta)$ der Partikelstrefaktor (s. Gl. 2.16). Die systemeigene, optische Konstante K kann über folgende Gleichungen ausgedrückt werden:^[26]

$$K = \frac{4\pi^2 n_0^2 \left(\frac{dn}{dc}\right)^2}{\lambda_0^4 N_A} \quad (2.15)$$

Dabei ist n_0 der Brechungsindex des reinen Lösungsmittels und $\left(\frac{dn}{dc}\right)$ die Änderung des Brechungsindex mit der Konzentration des gelösten Polymeres (Brechungsindexinkrement). Die Wellenlänge des Lasers ist λ_0 und N_A ist die Avogadrozahl.

Der Partikelstrefaktor $P(\theta)$ (vgl. Gl. 2.14) kann über folgende Gleichung angenähert werden, wobei n der Brechungsindex der Lösung und $\langle r_g^2 \rangle$ der mittlere quadratische Gyrationradius des Polymeres und \vec{q} der Streuvektor ist:^[26]

$$\frac{1}{P(\theta)} = 1 + \frac{\vec{q}^2 \langle r_g^2 \rangle}{3} \quad (2.16)$$

$$\|\vec{q}\| = \frac{4\pi n}{\lambda_0} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (2.17)$$

2. Theoretische Grundlagen

Fasst man Gleichungen 2.14, 2.16 und 2.17 zusammen, so folgt nach der Näherung von Zimm^[24,25] für die Grenzfälle eines unendlich kleinen Winkels ($\theta \rightarrow 0$) und einer unendlich verdünnten Lösung ($c \rightarrow 0$):

$$\lim_{\theta \rightarrow 0} \frac{K \cdot c}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M_w} + 2A_2c + \dots \quad (2.18)$$

$$\lim_{c \rightarrow 0} \frac{K \cdot c}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M_w} + \frac{1}{M_w} \left(\frac{1}{3} \cdot \left(\frac{4\pi n}{\lambda_0} \right)^2 \cdot \sin^2 \left(\frac{\theta}{2} \right) \cdot \langle r_g^2 \rangle \right) \quad (2.19)$$

Diese nutzt man in der statischen Lichtstreuung zur Auswertung über eine sog. Zimm-Auftragung. Man misst eine Konzentrationsreihe bei unterschiedlichen Winkeln und trägt $\left(\frac{Kc}{R_\theta} \right)$ gegen $(\sin^2(\theta/2) + kc)$ auf, wobei k ein beliebiger Skalierungsfaktor ist. Extrapoliert man auf $c = 0$ und $\theta = 0$ so entspricht der Achsenabschnitt $(1/M_w)$ und aus den Steigungen ergeben sich der Gyrationradius $\langle r_g^2 \rangle$ sowie der Virialkoeffizient A_2 wie in Abb. 2.5 illustriert (vgl. auch Gl. 2.18 und Gl. 2.19).^[27]

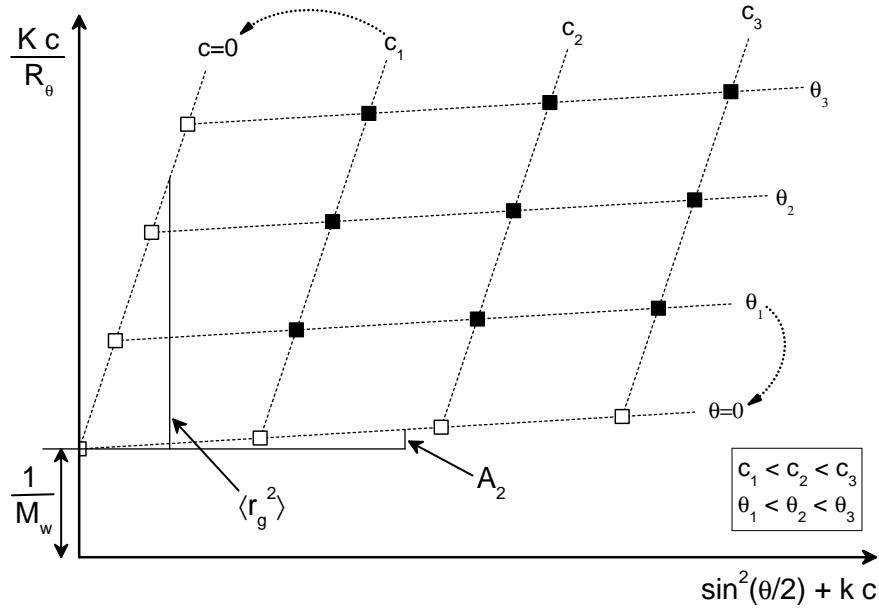


Abbildung 2.5.: Schematische Zimm-Auftragung: Für verschiedene Konzentrationen c und Winkel θ wird $\left(\frac{Kc}{R_\theta} \right)$ gegen $(\sin^2(\theta/2) + kc)$ aufgetragen. Werte für $\theta = 0$ und $c = 0$ werden extrapoliert und alle Werte durch Geraden verbunden. Aus deren Steigungen kann der zweite Virialkoeffizient A_2 und der mittlere Gyrationradius $\langle r_g^2 \rangle$ bestimmt werden. Aus dem Schnittpunkt mit der Achse ergibt sich das Molekulargewicht M_w (vgl. Gl. 2.18 und Gl. 2.19).

Bei der Online-Kopplung als GPC-Lichtstreuendetektor wird keine Konzentrationsreihe gemessen. Die sowieso geringe Konzentration in der GPC wird als nahe genug an $c = 0$ angenommen. Es müssen das Brechungsindexinkrement $\frac{dn}{dc}$ sowie der Bre-

2. Theoretische Grundlagen

chungsindex n des Lösungsmittels bekannt sein. Zusammen mit den Werten für die Konzentration, die normalerweise ein seriell verbundener DRI-Detektor liefert, kann so direkt das absolute Molekulargewicht der Polymere bestimmt werden. Eine Kalibrierung der GPC ist nicht erforderlich.

Da Streulicht besonders bei kleinen Molekulargewichten nicht sehr intensiv ist, ist auch der LSD nicht sehr sensitiv. Geringe Konzentrationen können daher zu stark verrauschten Messdaten führen.^[28,29]

Beim Viskositätsdetektor wird die Viskosität über den Druckabfall beim Durchfluss einer dünnen Kapillare gemessen. Verschiedene geometrische Aufbauten sind möglich.^[27] Der Druckabfall Δp ist über das *Hagen-Poiseuille'sche* Gesetz (Gl. 2.20) mit der Viskosität η proportional verknüpft, wobei sich die Flussrate $(dV/dt) = \dot{V}$ sowie die Länge l und der Radius r der Kapillare während der Chromatographie nicht ändern und als konstant betrachtet werden können. Der Druckabfall ist direkt proportional zur Viskosität und das Verhältnis zwischen Lösung und reinem Lösungsmittel (Δp_0 und η_0) entspricht der relativen Viskosität η_r :

$$\Delta p = \eta \frac{8l}{\pi r^4} \dot{V} \quad (2.20)$$

$$\Delta p \propto \eta \quad (2.21)$$

$$\frac{\Delta p}{\Delta p_0} = \frac{\eta}{\eta_0} = \eta_r \quad (2.22)$$

Als Grenzwert für unendliche Verdünnung erhält man daraus die intrinsische Viskosität $[\eta]$, die auch *Staudinger* Index oder Grenzviskosität genannt wird.

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_r - 1}{c} \right) \quad (2.23)$$

Betrachtet man die Polymermoleküle in Lösung als starre, harte Kugeln, so kann man über die Beziehung von *Einstein* einen Zusammenhang zwischen dem Volumenanteil der Kugeln Φ und der Viskosität herstellen.^[30,31]

$$\eta = \eta_0(1 + 2,5\Phi) \Rightarrow \eta_r - 1 = 2,5\Phi \quad (2.24)$$

Um das Volumen bzw. den Radius r einer solchen Kugel mit dem Molekulargewicht zu verknüpfen, betrachtet man das Polymer als statistisches Knäuel. Der Radius r ist proportional zur Wurzel der Anzahl an Monomereinheiten N und unter Idealbedingungen auch zur Wurzel des Molekulargewichts. Dies trifft in Wirklichkeit nur in

2. Theoretische Grundlagen

einem sog. Theta-Lösungsmittel zu.^[32]

$$r \propto N^{1/2} \propto M^{1/2} \quad (2.25)$$

Gleichungen 2.23, 2.24 und 2.25 werden in der semiempirischen *Mark-Houwink-Sakurada*-Beziehung (Gl. 2.26) zusammengefasst.

$$[\eta] = KM^\alpha \quad (2.26)$$

Das hydrodynamische Volumen V_h lässt sich über Gl. 2.27 beschreiben.

$$V_h = [\eta] M = KM^{\alpha+1} \quad (2.27)$$

Sind die beiden *Mark-Houwink*-Parameter K und α für zwei Polymere A und B bekannt, so kann eine GPC-Kalibrierkurve des Polymers A über das hydrodynamische Volumen V_h in eine Kalibrierkurve des Polymers B umgerechnet werden. Auf diese Weise kann auch eine universelle Kalibrierung der GPC erfolgen. Typische Werte liegen für K meist um $10^{-5} \text{ m}^3/\text{kg}$ und der dimensionslose Parameter α nimmt normalerweise Werte zwischen 0,5 und 1 an.^[27] Wie man aus Gl. 2.23 erkennen kann, benötigt man zur Auswertung von Viskositätsdaten aus der GPC ebenfalls das Chromatogramm eines Konzentrationsdetektors.

2.2.3. Molmassenverteilung und Bandenverbreiterung in der GPC

In der LAC versucht man meist, die Bedingungen so zu wählen, dass die Substanzen basisliniengetrennt eluieren, d.h. alle Peaks sind getrennt auswertbar. Ihr Integral entspricht der injizierten Masse der entsprechenden Komponente und diese kann nach einer Kalibrierung bestimmt werden.

In der GPC werden Polymere nach ihrer Molekülgröße aufgetrennt. Es liegen sehr viele unterschiedlich lange Polymerketten vor, die sich in ihrer Größe nur geringfügig unterscheiden. Eine Basislinienseparation der unterschiedlich langen Polymerketten kann nicht erreicht werden. Nur bei Oligomeren, bei denen der relative Molmassenunterschied größer ist können einzelne Peaks beobachtet werden.

In der GPC wird daher die Form des Peaks ausgewertet. Neben einer qualitativen Auswertung der Peakform werden verschiedene Mittelwerte berechnet.^[18] Besonders wichtig sind das Zahlenmittel \overline{M}_n , welches sich aus der Anzahl N_i und dem Molekulargewicht M_i der einzelnen Polymerketten unterschiedlicher Länge wie folgt

2. Theoretische Grundlagen

berechnet:

$$\overline{M}_n = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i} \quad (2.28)$$

Das Gewichtsmittel \overline{M}_w ist direkt über Lichtstreuung zugänglich (vgl. Kap. 2.2.2) und kann wie folgt berechnet werden:

$$\overline{M}_w = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i} \quad (2.29)$$

Darüber hinaus ist wird gelegentlich noch das sog. Zentrifugenmittel $\overline{M}_z = \frac{\sum N_i M_i^3}{\sum N_i M_i^2}$ angegeben, sowie weitere Mittelwerte die aus anderen Vergleichsmessungen direkt zugänglich sind. Für die GPC ist noch das Gewicht am Peakmaximum M_p relevant, da es für Kalibriersubstanzen angegeben wird. Als Maß für die Breite der Verteilung wird normalerweise die Dispersität D angegeben, welche als das Verhältnis aus Gewichtsmittel und Zahlenmittel definiert ist. IUPAC empfiehlt zwar die Verwendung des Begriffs Dispersität,^[33] diese wird jedoch viel häufiger als Polydispersitätsindex (*PDI*) bezeichnet.

$$D = PDI = \frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n} \quad (2.30)$$

Die Dispersität hat für monodisperse Proben – d.h. alle Moleküle haben exakt das gleiche Gewicht – einen theoretischen Grenzwert von 1. Sehr engverteilte Polymere, wie sie über anionische Synthese oder lebende radikalische Polymerisationen gewonnen werden, haben typischerweise einen *PDI* zwischen 1,03 und 1,2. Radikalische Polymerisationen ergeben wegen der Abbruchsreaktionen Verteilungen mit $PDI \approx 1,5$ bis 2, industrielle Polymere können beabsichtigt Dispersitäten bis 20 und mehr erreichen.^[34] Im deutschsprachigen Raum wird zudem die Größe Uneinheitlichkeit U verwendet, die eine bessere, intuitive Erfassung der Breite erlaubt, vor allem bei Änderungen (z.B. Halbieren etc.).

$$U = PDI - 1 = D - 1 \quad (2.31)$$

Neben der intrinsischen Verteilung der Kettenlänge können noch weitere Effekte die Signale im gemessene Chromatogramm verbreitern und so das Messergebnis verfälschen. Die gemessenen Molmassen unterliegen einer großen Unsicherheit, das relative Maß der Uneinheitlichkeit ist verlässlicher. Mit U bestimmt man die Breite der intrinsischen Verteilung. Diese wird von apparativen Bandenverbreiterunseffekten besonders beeinflusst.

Injiziert man eine Probe auf eine Chromatographiesäule, so ist die Probe zu Beginn in einem sehr geringen Volumen (bei entsprechend kleinem Injektvolumen)

2. Theoretische Grundlagen

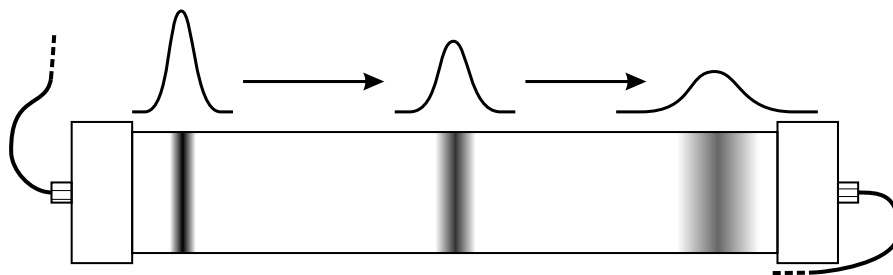


Abbildung 2.6.: Veranschaulichung der Peakverbreiterung beim Durchlaufen einer Chromatographiesäule: Die Probe wird in einem sehr geringen Volumen mit hoher Konzentration auf die Säule aufgebracht und verteilt sich auf dem Weg durch die Säule in einem immer größeren Volumen. Dadurch wird der Peak breiter und die Konzentration nimmt ab.

verteilt. Beim Durchlaufen der Säule verteilt sich die Probe in einem immer größeren Volumen (s. Abb. 2.6) Ein Grund ist der Separationsmechanismus – d.h. Größenausschluss in der GPC – der Säule, aber auch mechanische Dispersionseffekte spielen eine Rolle. Zu den wichtigsten Effekten zählt die Diffusion der Probenmoleküle entlang der Flussrichtung. Diese wurde von *Striegel* mit sog. Stop-Flow-Experimenten untersucht. Da Polymere große Moleküle sind und nur geringe Diffusion zeigen, fand *Striegel* einen zu berücksichtigenden Einfluss nur für Polymere mit $M_w < 30 \text{ kg/mol}$.^[35] Zweitens spielt die sog. *Eddy*-Diffusion eine Rolle. Da es viele unterschiedliche und vor allem unterschiedlich lange Wege durch das gepackte Säulenmaterial gibt, entsteht eine statistische Verbreiterung des eluierenden Peaks. Darüber hinaus herrschen in den Zwischenräumen der Partikel sehr unterschiedliche Flussgeschwindigkeiten der mobilen Phase, die ebenfalls zur Verbreiterung beitragen. Zuletzt benötigt die Einstellung des Gleichgewichts zwischen mobiler und stationärer Phase – besonders bei adsorptivem Trennmechanismus (LAC, nicht SEC/GPC) – eine gewisse Zeit, sodass auch dadurch flussratenabhängig unterschiedliche Verbreiterungen auftreten können. Aus diesen Gründen sind auch die Peaks in der LAC nie perfekt schmal und auch monodisperse Proben in der GPC haben eine gewisse Peakbreite.

In der Chromatographie wird als Maß für die Auflösung oder Selektivität der Säule und damit auch für die Bandenverbreiterung in Anlehnung an die Rektifikation die Trennstufen- oder Bodenzahl N definiert.

$$N = 2\pi \left(\frac{h_P t_R}{F} \right)^2 \quad (2.32)$$

Der Berechnung der Bodenzahl liegt die Annahme eines *Gauß*-förmigen Peaks zu Grunde, dessen Halbwertsbreite auf die Retentionszeit t_R normiert wird. Zur Be-

2. Theoretische Grundlagen

rechnung nutzt man die Peakhöhe h_p , die Retentionszeit t_R und die Peakfläche bzw. das Peakintegral F . Verschiedene Säulenmaterialien lassen sich besser mit der theoretischen Bodenhöhe H vergleichen, die sich aus der Bodenzahl und der Länge der Säule l berechnen lässt.

$$H = \frac{l}{N} \quad (2.33)$$

Die Trennleistung eines Säulenmaterials hängt auch von der Flussrate der mobilen Phase ab. Dazu wird meist statt der als Volumenstrom angegebenen Flussrate v in mL/min der sog. lineare Fluss u in cm/min betrachtet, da dieser die apparente Pfropfströmung in der Säule besser beschreibt. Der lineare Fluss ist außerdem unabhängig von den Säulendimensionen und berechnet sich aus dem Volumenstrom v mit der Fläche des Säulenquerschnitts A wie folgt:

$$v = \frac{u}{A} \quad (2.34)$$

In der LAC wird die Abhängigkeit der Trennleistung von der Flussrate auf drei Haupteffekte zurückgeführt: *Eddy*-Diffusion (A), Längsdiffusion (B) und Kinetik der Gleichgewichtseinstellung (C). Diese werden in der empirischen *van Deemter*-Kurve berücksichtigt, welche vereinfacht wie folgt lautet (vgl. Abb. 2.7):^[36]

$$H_r = A + \frac{B}{u_r} + C \cdot u_r \quad (2.35)$$

Dabei sind H_r die reduzierte Bodenhöhe und u_r die reduzierte Flussgeschwindigkeit, die von der Partikelgröße d_p des Säulenmaterials und dem Diffusionskoeffizienten D_m des Analyten abhängen.

$$H_r = \frac{H}{d_p} \quad (2.36)$$

$$u_r = \frac{u d_p}{D_m} \quad (2.37)$$

Im Gegensatz dazu trifft für die Größenausschlusschromatographie die *van Deemter*-Gleichung nicht vollständig zu, wobei genauere Untersuchungen oder eine erklärende Theorie bislang in der Literatur nicht beschrieben wurden. In der Gruppe von *Schoenmakers* wurde empirisch eine angepasste *van Deemter*-Kurve für den GPC-Trennmechanismus gefunden, die in Abb. 2.7 gezeigt ist:^[37,38]

$$H_r = A u_r^{0,33} + C \cdot u_r \quad (2.38)$$

Durch die allgemein sehr kleinen Diffusionskoeffizienten von Polymeren spielt die Längsdiffusion selbst bei sehr niedrigen Flussraten keine Rolle. Daher entfällt der

2. Theoretische Grundlagen

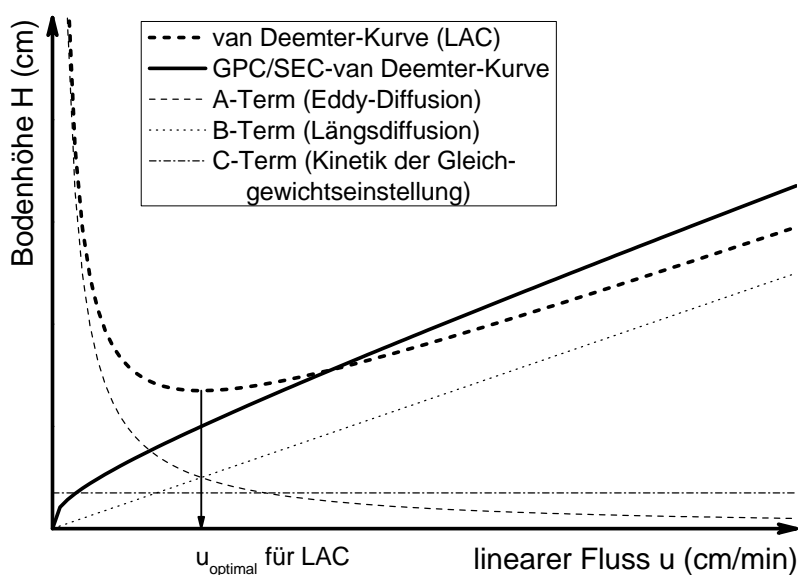


Abbildung 2.7.: Darstellung der *van Deemter*-Kurve für LAC (Gl. 2.35) und die von *Schoenmakers* angepasste Version für SEC oder GPC (Gl. 2.38). Die Beiträge der verschiedenen Terme und zugehörigen Effekte sind ebenfalls eingezeichnet. Bei der LAC existiert ein Minimum, das die optimaler Flussrate für beste Trennleistung wiedergibt, in der SEC/GPC existiert hingegen kein Minimum. Langsamere Flussraten führen hier zu besseren Trennleistungen.

B -Term aus Gl. 2.35 in Gleichung 2.38. Die Kurve besitzt folglich kein Optimum mehr und langsamere Flussraten führen allgemein zu besseren Trennungen. In der Praxis muss ein Kompromiss alleine zwischen Analysezeit und chromatographischer Auflösung gewählt werden.

Neben der Verbreiterung in der Säule selbst, kann auch in allen anderen Bauteilen der GPC eine Peakverbreiterung z.B. durch Diffusion oder turbulente und auch laminare Strömung auftreten. Um dies zu vermeiden werden in der Chromatographie die Innenvolumina aller Bauteile möglichst klein gehalten. Es werden sehr dünne Kapillaren und spezielle Schraubverbindungen genutzt. Bei Detektorzellen lässt sich das Innenvolumen nicht beliebig verkleinern. Hier kann zusätzlich, je nach geometrischem Aufbau, eine Durchmischung auf Grund von turbulenten Strömungen zu einer Peakverbreiterung führen.^[19] Diese apparativen Verbreiterungen können auf verschiedene Arten gemessen werden. Kehrt man z.B. den Fluss um, während sich das Polymer in der Säule befindet, und verbindet den Säulenanfang mit dem Detektor, so sollte sich die durch Größenausschluss hervorgerufene Trennung aufheben und nur die zusätzliche Verbreiterung wird messbar. So erhält man elutionsvolumenabhängige Verbreiterungsprofile mit denen die Chromatogramme mathematisch korrigiert werden können. Dazu muss die sog. *Tung'sche* Gleichung gelöst werden,

2. Theoretische Grundlagen

die das gemessene Chromatogramm $F(V_e)$ aus dem tatsächlichen Chromatogramm $W(x)$ und einer Funktion für die Verbreiterung $G(V_e - x)$ zusammensetzt:^[39]

$$F(V_e) = \int_{-\infty}^{\infty} W(x)G(V_e - x)dx \quad (2.39)$$

Die Verbreiterungsfunktion kann durch eine *Gauß*-Funktion angenähert werden, bei der der Parameter h die Breite festlegt:^[40]

$$F(V_e) = \int_{-\infty}^{\infty} W(x)\sqrt{\frac{h}{\pi}} \exp(-h(V_e - x)^2) dx \quad (2.40)$$

Die Entfaltung und damit die mathematische Lösung dieser Gleichung ist jedoch kompliziert.^[41] Die Verbreiterungsfunktionen können in der GPC-Massenspektrometriekopplung (s. Kap. 3.1) auch als sog. „single oligomer profiles“ (SOP) gemessen werden, die mathematische Behandlung erfolgt analog.^[42]

Vergleicht man bei engverteilten Proben die M_n - und M_w -Werte, die man aus alternativen Messmethoden – z.B. Osmometrie und Lichtstreuung – erhält, mit denen aus der GPC, so stellt man fast immer Abweichungen fest. Verbindet man die beiden Punkte im Chromatogramm zu einer Art lokalen, linearen Kalibrierkurve so kann deren Steigung mit der Steigung der konventionellen Kalibrierkurve verglichen werden. Die dabei auftretenden starken Abweichungen deuten auf Bandenverbreiterungseffekte hin.^[43,44] Das heißt, dass gleich große Polymerketten, abhängig vom Rest der Probe, zu unterschiedlichen Zeiten eluieren können. Ein wesentlicher Beitrag zu dieser Bandenverbreiterung entsteht durch Überladungseffekte. Von Überladung spricht man, wenn eine zu hohe Analytmenge auf die Säule injiziert wird, sodass der Trennmechanismus gestört wird, wodurch Veränderungen im Chromatogramm entstehen (verglichen mit niedrigeren Konzentrationen).^[45] Die Ursache ist die begrenzte Kapazität des Trennmaterials. Vereinfacht ausgedrückt heißt das, Überladung tritt dann auf, wenn mehr Polymerketten getrennt werden sollen, als lokal Poren in den Partikeln des Säulenmaterials zur Verfügung stehen. Sind die Poren „schon voll“ werden auch kleinere Moleküle aus den Poren ausgeschlossen und die Auftrennung daher gestört. Vor allem direkt nach der Injektion ist die lokale Konzentration in der Säule hoch, sodass mit einem gewissen Teil an Überladung gerechnet werden muss. Sehr engverteilte oder monodisperse Proben verteilen sich nur wenig in der Säule, sodass immer eine lokal hohe Konzentration vorliegt. Solche Proben sollten daher in kleineren Mengen injiziert werden (vgl. Kap 4.4.3).

Die Einflüsse die zur Bandenverbreiterung beitragen sind vielfältig und können nicht immer alle bestimmt und ausgeschlossen werden. Für die Kopplung mit der

Spektroskopie sind besonders die Flusszellengröße (s. Kap. 4.2), also das Totvolumen und das innere Strömungsprofil relevant, sowie der Einfluss von Überladungseffekten, bei Bestimmung der optimalen Probenmenge (s. Kap. 4.4.3).

2.3. Grundlagen der Infrarotspektroskopie (IR)

Trifft elektromagnetische Strahlung auf Materie, so ist die mögliche Wechselwirkung entweder Absorption oder Emission, Fluoreszenz oder Phosphoreszenz, Reflexion oder Streuung. Tritt keine Wechselwirkung auf so spricht man von Transmission. Häufig passiert eine Kombination von mehreren dieser Effekte. Im Falle der Infrarotspektroskopie wird der transmittierte Anteil des Lichts I im Verhältnis zur eingestrahlten Intensität I_0 abhängig von der Wellenlänge λ gemessen, dies nennt sich Transmissionsgrad $\tau(\lambda)$. Abbildung 2.8 zeigt den schematischen Aufbau eines solchen Experiments. Aus dem Transmissionsgrad τ wird die Extinktion $E(\lambda)$ berechnet, die nach dem Gesetz von *Lambert* und *Beer* über den Extinktionskoeffizienten $\epsilon(\lambda)$ proportional zur Konzentration c und zur Probendicke d ist.^[46]

$$E(\lambda) = -\log \left(\frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)} \right) = -\log(\tau(\lambda)) = \epsilon(\lambda) \cdot c \cdot d \quad (2.41)$$

Die Extinktion gibt nicht nur den Effekt der Absorption wieder, sondern auch alle

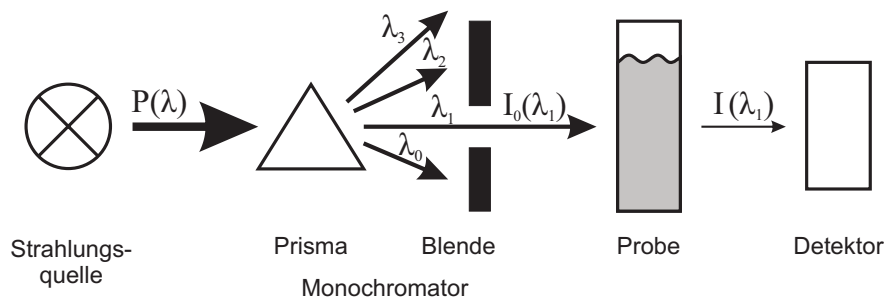


Abbildung 2.8.: Schematischer Aufbau eines einfachen spektroskopischen Experiments: Die polychromatische Lichtquelle wird durch ein Prisma (oder für IR meist eine Beugungsgitter) aufgespalten und durch eine Blende werden wenige Wellenlängen selektiert, welche die Probe durchstrahlen. Die Primärintensität I_0 wird normalerweise davor im leeren Probenraum gemessen.^[47]

anderen Beiträge wie z.B. Reflexionsverluste. In der Praxis ist dies meist vernachlässigbar. Absorption tritt auf, wenn in der Materie eine Zustandsänderung passieren kann. Die Frequenz ν des eingestrahlten Lichts multipliziert mit der *Planck'schen*

2. Theoretische Grundlagen

Konstante h muss der Energiedifferenz der Zustände ΔE entsprechen.

$$\Delta E = h \cdot \nu \quad (2.42)$$

Im Falle der Infrarotspektroskopie handelt es sich bei den gequantelten Zuständen um Schwingungszustände, wobei im Bereich des Mittleren Infrarots (MIR, ca. $400 \text{ cm}^{-1} - 4000 \text{ cm}^{-1}$) vor allem die Grundtöne von Bindungen auftreten. Im Nahen Infrarot (NIR) werden vorwiegend Obertöne untersucht. Eine genauere quantenmechanische Betrachtung findet sich in Lehrbüchern der Spektroskopie oder der Physikalischen Chemie.^[48,49] Die in der Infrarotspektroskopie übliche Einheit der Wellenzahl $\tilde{\nu}$ wird in cm^{-1} angegeben und ist der Kehrwert der Wellenlänge. Sie kann auch aus der Frequenz ν und der Lichtgeschwindigkeit c berechnet werden.

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} \quad (2.43)$$

2.3.1. Besonderheiten der Fourier-Transformations-IR-Spektroskopie

Ein spektroskopisches Experiment, welches mit einer Lichtquelle, die monochromatisiert werden kann und damit durchstimmbar ist, durchgeführt wird nennt man dispersiv. Als frequenzselektives Element wird in der IR-Spektroskopie selten ein Prisma eingesetzt, da die wenigen IR-transparente Materialien meist hygroskopisch sind und sich daher für optische Komponenten schlecht eignen. Ein Beugungsgitter funktioniert ebenfalls. Aus dem selben Grund findet man in IR-Spektrometern fast niemals Linsen, sondern immer nur Fokussierspiegel. Damit ist die Strahlführung zwar anders, die Funktion aber identisch. Bei einem dispersiven Spektrometer wird die eingestrahlte Frequenz kontinuierlich geändert – z.B. durch Drehen des Gitters – und so das Spektrum „abgefahren“.

Demgegenüber stehen Fourier-Transformations-Infrarotspektrometer, welche in vielen Lehrbüchern (z.B. [50]) genauer beschrieben werden. In diesen wird das Signal einer polychromatischen Lichtquelle mit Hilfe eines Strahlteilers und beweglicher Spiegel mit sich selbst phasenversetzt zur Interferenz gebracht. Das entsprechende Bauteil wird Interferometer genannt und meist an Hand des *Michelson*-Interferometers erklärt, welches auf das berühmte *Michelson-Morley*-Experiment zurückgeht.^[51,52] Heute sind auch andere Bauformen üblich. Abhängig von der Spiegelposition und der Wellenlänge entsteht ein Phasenversatz unter welchem die beiden geteilten Strahlen interferieren. Am Detektor wird das spiegelpositionsabhängige Signal als die Summe über alle Wellenlängen gemessen, das sog. Interferogramm.

2. Theoretische Grundlagen

Dieses lässt sich theoretisch aus den Kosinusfunktionen des Spektrums rekonstruieren. Daher kann das Spektrum über die Fourier Transformation (FT, Gl. 2.44) aus dem Interferogramm erhalten werden. Diese Berechnung muss mit einem Computer durchgeführt werden, was mit den heutigen Rechenleistungen kein Problem ist. Historisch betrachtet konnten sich FTIR-Spektrometer jedoch nur durchsetzen, weil mit dem Algorithmus von *Cooley* und *Tuckey*^[53] die FT für diskrete Messwerte und unter bestimmten Randbedingungen sehr einfach und schnell, und damit auch schon von sehr frühen Computern, berechnet werden konnte. Den Grundstein für diese „Fast Fourier Transform“ (FFT) legte bereits *Gauß*.^[54]

$$\mathfrak{F}[f(x)](y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} f(x)e^{-iyx} dx \quad (2.44)$$

$$\mathfrak{F}^{-1}[g(y)](x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} g(y)e^{ixy} dy \quad (2.45)$$

Die FT-Technik bedeutet für die Infrarotspektroskopie mehrere Vorteile. Im konventionellen Spektrometer wirkt sich das Rauschen des Detektors direkt auf jede einzelne Wellenzahl aus. Bei der FTIR-Technik treffen alle Wellenlängen gleichzeitig auf die Probe und auch den Detektor, sodass sich das Rauschen auf das gesamte Spektrum verteilt und damit weniger Einfluss hat. Durch diesen *Fellgett*- oder *Multiplex*-Vorteil erhält man ein besseres *S/N*-Verhältnis.^[55,56] Bei dispersiven Geräten muss für eine hohe Auflösung in der Wellenzahl ein sehr schmaler Spalt am Monochromator gewählt werden, womit nur wenig Licht auf die Probe und den Detektor trifft. Bei der FTIR-Spektroskopie können runde Aperturen mit hohem Strahlungsdurchsatz verwendet werden. Die dadurch resultierende Verbesserung im *S/N*-Verhältnis nennt man *Jacquinot*- oder *Throughput*-Vorteil.^[57] Durch den Einsatz eines Referenzlasers, auf den alle Wellenzahlwerte bezogen werden, erreicht man eine hohe Wellenzahlgenauigkeit von bis zu $0,01 \text{ cm}^{-1}$. Damit können Spektren besser verglichen, gemittelt und auch voneinander abgezogen werden, was als *Connes*-Vorteil bekannt ist.^[58]

Die FT ist für Funktionen definiert, welche stetig sind und sich von $-\infty$ bis ∞ erstrecken. Tatsächliche Messergebnisse weichen davon erheblich ab, weil sie aus diskreten Messwerten bestehen und sich nur über eine endliche Zeit (oder im Falle der FTIR über einen endlichen Spiegelweg) ausdehnen. Das Integral der FT wird durch eine Summe ersetzt und man spricht von diskreter Fourier Transformation (DFT), welche oft als FFT berechnet wird. Um die dafür nötigen Randbedingungen zu erfüllen, werden die Messwerte geringfügig modifiziert. All dies führt zu verschiedenen Möglichkeiten in die Datenverarbeitung einzugreifen und auch zu diversen Effekten oder Artefakten, welche in einer Serie von *Gronholz* und *Herres* detailliert erklärt

2. Theoretische Grundlagen

werden.^[59–61] Davon soll hier nur die Apodisierung besprochen werden. Das Interferogramm wird normalerweise vor der FT mit einer sog. Apodisierungs- oder Fensterfunktion multipliziert, was im Spektrum einer Faltung entspricht. Je nach Form der Apodisierungsfunktion sollen damit vor allem die Artefakte kompensiert werden, die durch die begrenzte Ausdehnung des Interferogramms entstehen. Mit verschiedenen Funktionen wird zudem das Signal-zu-Rausch-Verhältnis und die Linienbreite beeinflusst. Man kann dies bewusst nutzen um entweder die Sensitivität oder die Selektivität zu erhöhen. Vor allem auch in der NMR-Spektroskopie wird mit dem FID genannten Signal ebenso verfahren.^[62] Während in der FTIR standardisierte Funktionen benutzt werden, werden die Faltungsfunktionen der NMR mit diversen Parametern z.T. für jede individuelle Probe angepasst. Dabei ist zu beachten, dass bei der NMR-Spektroskopie von Lösungen *Lorentz*-förmige Peaks vorherrschen, die an der Basis sehr breit sind und durch Faltung in eine *Gauß*-Form überführt werden können. Dabei erhöht sich die Auflösung bzw. die Basislinienseparation der Peaks erheblich bei nur geringer Verschlechterung des Rauschens.^[62]

2.3.2. Linienbreiten und spektrale Auflösung

Ausgehend von der Quantelung der Energie und den damit verbundenen diskreten Energieniveaus, könnte man annehmen, dass die Energiedifferenz zwischen diesen Zuständen und damit die Frequenz bei der Spektroskopie exakt festgelegt und auch so exakt messbar ist. Dies ist nicht der Fall. Es gibt verschiedene Gründe, die zu einer Unschärfe in der Energie und damit zu einer Verbreiterung des spektroskopischen Peaks führen. Man muss dabei zwischen intrinsischen Ursachen, die sich nicht beseitigen lassen, und apparativer Unschärfe, die ggf. mit einem besseren Spektrometer noch aufgelöst werden kann unterscheiden. Die intrinsische Unschärfe ist die tatsächliche Linienform. Die gemessene Linienform kann davon abweichen und ist in der Regel verbreitert.

Die erste intrinsische Ursache, die allerdings nur zu einer recht geringen Verbreiterung führt, wird als natürliche Linienbreite bezeichnet. Energie E und Zeit t können nach *Heisenberg* nicht gleichzeitig exakt bestimmt werden und unterliegen folgender Unschärferelation:^[63]

$$\frac{\hbar}{2} \leq \Delta E \cdot \Delta t \quad (2.46)$$

wobei \hbar nach $\hbar = h/2\pi$ aus der *Planck'schen* Konstante h hervorgeht. Übertragen auf die Spektroskopie bedeutet dies Folgendes. Da die Lebensdauer der Zustände der Teilchen niemals unendlich werden kann (irgendwann tritt zumindest für den angeregten Zustand spontane Emission auf), unterliegt die Energie und damit nach

2. Theoretische Grundlagen

Gl. 2.42 auch die Frequenz bzw. Wellenzahl einer Unschärfe.

Bei der Messung von Gasen spielt außerdem die sog. *Dopplerverbreiterung* eine Rolle. Da sich die Teilchen bewegen und dabei auch auf die Lichtquelle zu oder von ihr weg fliegen, erfahren sie das Licht mit einer leicht verschobenen Wellenlänge. Die Geschwindigkeit der Teilchen lässt sich mit der *Maxwell-Boltzmann-Verteilung* beschreiben, woraus für die Linienform auf Grund von *Dopplerverbreiterung* ein *Gaußförmiger Peak* folgt, dessen Halbwertsbreite $\Delta\lambda$ über folgende Gleichung gegeben ist:

$$\Delta\lambda = \frac{\lambda}{c} \sqrt{\frac{8k_B T \ln 2}{m}} \quad (2.47)$$

Dabei ist λ die Wellenlänge, k_B die *Boltzmannkonstante*, T die absolute Temperatur und m die Masse des Teilchens. Die *Dopplerverbreiterung* dominiert bei niedrigen Drücken, wenn die untersuchten Teilchen weitgehend frei fliegen können. Bei höheren Drücken verändern Zusammenstöße zwischen den Teilchen das Bild. Bei den Stößen können durch kurzzeitige Wechselwirkungen die Energieniveaus der Quantenzustände verschoben werden, vor allem verkürzen die Stöße aber die Lebensdauer der angeregten Zustände. Zusammenfassend spricht man von Druck- oder Stoßverbreiterung, welche einer *Lorentz-Verteilung* folgt. Die Breite des Peaks auf Grund von Stoßverbreiterung lässt sich mit folgender Formel abschätzen:

$$\Delta\lambda \approx \frac{\lambda^2}{\pi c} \cdot \frac{1}{\bar{t}} \approx \frac{\lambda^2}{\pi c} n \sigma \sqrt{\frac{2k_B T}{m}} \quad (2.48)$$

Hier ist c die Lichtgeschwindigkeit und \bar{t} die mittlere Zeit zwischen zwei Stößen, die mit der mittleren freien Weglänge korreliert. Sie lässt sich daher auch durch die Teilchendichte n und den Streuquerschnitt σ ausdrücken. *Doppler-* und *Druckverbreiterung* treten auch gleichzeitig auf, das Linienprofil wird dann *Voigt-Profil* genannt.

Als weitere Verbreiterungsform kennt man noch die *Flugzeitverbreiterung*, die nur auftritt, wenn Probe und Licht sehr kurz aufeinandertreffen, z.B. wenn die Moleküle schnell in eine Richtung fliegen (Molekularstrahl) und quer dazu mit einem Laser untersucht werden. Bei sehr hoher Laserintensität kann zudem *Sättigungsverbreiterung* auftreten.

Diese intrinsischen Verbreiterungsformen spielen in der Infrarotspektroskopie nur für Gase eine Rolle. Dort werden die feinen Linien der verschiedenen Rotationsbanden untersucht. Für feste oder flüssige Proben schwimmt diese Rotationsfeinstruktur zu breiten Schwingungsbanden, da die benachbarten Moleküle mit ihren Wechselwirkungen die Rotationen verhindern und beeinflussen.

2. Theoretische Grundlagen

Im Infrarotspektrometer selbst begrenzen mechanische Limitierungen die Auflösung. In dispersiven Geräten kann z.B. das Beugungsgitter im Monochromator nur mit einer begrenzten Präzision bewegt werden. Eine selektierende Blende kann auch nicht beliebig klein gestaltet werden, da hier auch immer die Intensität des Lichts reduziert wird, sodass die Gefahr besteht bei zu kleinen Blenden ein zu geringes S/N zu erhalten. In der FTIR werden grundsätzlich alle Frequenzen aufgezeichnet und erst durch die Fourier Transformation sichtbar gemacht. Die Spektrale Auflösung wird dabei durch die Breite des Interferogramms und damit durch die Länge des Spiegelwegs bestimmt.^[59] Sehr hochauflösende Spektrometer mit mehreren Metern Spiegelweg, z.B. 11,70 m und einer entsprechenden Auflösung von $\Delta\tilde{\nu} = 0,000\,52\text{ cm}^{-1}$, werden in der Forschung auch mit Synchrotron-Quellen verbunden.^[64,65] Spektrometer mit ca. 3 m Spiegelweg und einer Auflösung von $\Delta\tilde{\nu} = 0,0035\text{ cm}^{-1}$ sind kommerziell erhältlich.^[66] Solch hochauflösende Messungen sind nur für Gase sinnvoll und werden vor allem für atmosphärischen Untersuchungen genutzt. In der Routineanalytik bei Feststoffen und Flüssigkeiten spielen sie keine Rolle.

2.3.3. Abgeschwächte Totalreflexion (ATR)

In der Infrarotspektroskopie gibt es sehr viele verschiedene Messmethoden, von denen das Durchstrahlverfahren – auch Transmissionsmessung genannt – die Standardmethode ist. Da mit den üblicherweise verwendeten Globar-Lichtquellen genannten, glühenden SiC-Keramiken nur sehr dünne Schichtdicken durchdrungen werden können, ist die Probenpräparation z.T. sehr aufwändig (z.B. KBr-Pressling oder Folie). Daher finden Reflexionsmessungen immer häufiger Anwendung. Man unterscheidet zwischen äußerer Reflexion – d.h. die Probe reflektiert IR-Licht, welches anschließend detektiert wird – und innere Reflexion, auch ATR-Technik genannt. ATR steht dabei für abgeschwächte Total-Reflexion oder engl. „attenuated total reflectance“. Das Infrarotlicht wird wie in Abb. 2.9 schematisch gezeigt in einem Messkristall reflektiert, welcher mit der Probe in Kontakt steht. In diese dringt ein Teil des Lichts ein, man spricht von einem evaneszenten, elektromagnetischen Feld. Dadurch kann eine Wechselwirkung stattfinden, die Spektroskopie ermöglicht.

Nachdem schon *Newton* entdeckt hatte, dass Licht auch unter Bedingungen der Totalreflexion zu einem gewissen Grad in das optisch dünnere Medium eindringt,^[67] wurde dieser Effekt erst Mitte des 20. Jahrhunderts für spektroskopische Messungen genutzt.^[68] Totalreflexion tritt nach Gl. 2.49 nur unterhalb eines kritischen Winkels θ_{krit} auf, welcher vom Verhältnis der Brechungsindices $\frac{n_2}{n_1}$ der beiden Medien, die die Grenzfläche bilden, abhängt.

$$\theta_{\text{krit}} = \arcsin \frac{n_2}{n_1} \quad (2.49)$$

2. Theoretische Grundlagen

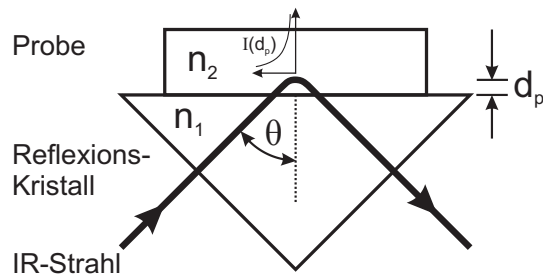


Abbildung 2.9.: Schematische Darstellung des Prinzips der ATR-Messtechnik. Der Strahl wird an der Grenzfläche zwischen Messkristall und Probe totalreflektiert und tritt als evaneszente Welle wenige μm in die Probe ein. Dort findet eine Wechselwirkung zwischen der Strahlung und der Probe statt. Die dadurch verursachte Änderung im Primärstrahl wird als ATR-Spektrum aufgezeichnet.

Daher werden vorzugsweise Materialien mit hohen Brechungsindizes als ATR-Kristalle verwendet, häufig Zinkselenid (ZnSe), Silizium (Si), Germanium (Ge) oder auch Diamant. Die Intensität des Lichts fällt in der Probe exponentiell ab. Man kann eine Eindringtiefe d_p definierten, bei der die Intensität auf $\frac{1}{e}$ abgefallen ist. Sie ist von den Brechungsindizes n , dem Einfallswinkel θ und vor allem der Wellenlänge λ abhängig und lässt sich durch folgende Gleichung beschreiben:^[69]

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi n_1 \sqrt{\sin^2 \theta - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2}} \quad (2.50)$$

Für praxisnahe Werte ergeben sich Eindringtiefen zwischen ca. $1 \mu\text{m}$ und $2 \mu\text{m}$, z.B. ist $d_p \approx 1,7 \mu\text{m}$ zwischen einem Diamant und Luft bei einem Winkel von 45° für Licht der Wellenzahl 1000 cm^{-1} . Vor allem da bei höheren Wellenzahlen die Eindringtiefe abnimmt und damit die Signale der Probe schwächer und das Rauschen stärker werden, unterscheiden sich ATR-Spektren von Transmissionspektren. Dieser Effekt wird an Hand zweier Beispielmessungen in Abb. 2.10 verdeutlicht. Bei kleineren Wellenzahlen wird gegenüber der Transmissionsmessung eine relativ höhere Extinktion erreicht. Aber auch die einzelnen Banden sind nicht vollständig identisch und leicht verschoben. Dies liegt unter anderem daran, dass der Brechungsindex ebenfalls wellenlängenabhängig ist (s. z.B. [70]). Im Allgemeinen sind sich die Spektren sehr ähnlich und können unter Berücksichtigung der genannten Unterschiede verglichen werden.

2. Theoretische Grundlagen

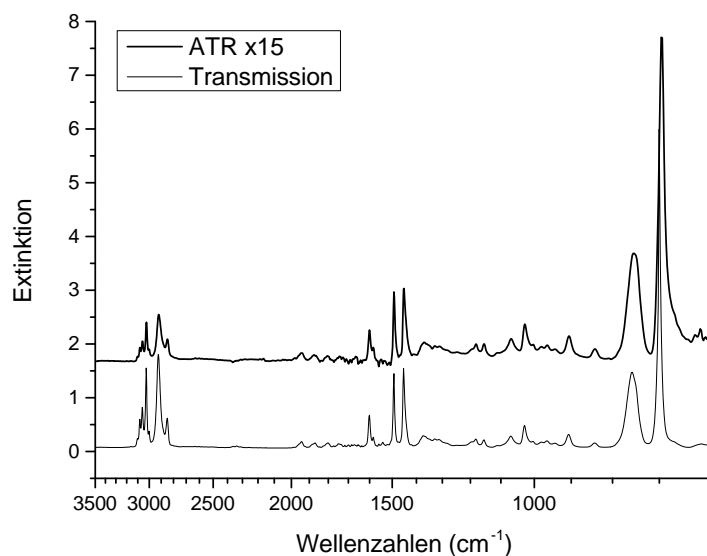


Abbildung 2.10.: Das ATR-Spektrum einer PS-Folie wurde in 15-facher Intensität und versetzt dargestellt, sodass der Peak der Phenylschwingung bei 700 cm^{-1} dieselbe Intensität wie im Transmissionsspektrum derselben Probe hat. Im Unterschied zum Transmissionsspektrum sind einige Signale breiter und leicht verschoben, außerdem zeigt sich die reduzierte Eindringtiefe in die Probe bei höheren Wellenzahlen durch weniger intensive Peaks.

2.4. Quantenkaskadenlaser als Strahlungsquellen der Spektroskopie

Quantenkaskadenlaser (QCL) sind Halbleiterlaser, die im Infrarotbereich emittieren und typischerweise eine 10^4 höhere Strahlungsleistung als thermische Lichtquellen haben.^[71] Ihre charakteristische Eigenschaft ist die Emission von Licht durch sog. Intersubbandübergänge. Dadurch ist es prinzipiell möglich, die Emissionswellenlänge bei der Herstellung zu beeinflussen und mit einem externen Resonator auch durchstimmbare EC-QCLs (engl.: „external cavity QCL“) zu produzieren. Der erste QCL wurde 1994 von *Faist* realisiert,^[72] der erste EC-QCL mit einem Durchstimmbereich von 34 cm^{-1} im Jahr 2001 von *Luo*.^[73] Seither hat sich die Technik sehr schnell entwickelt. Bei den EC-QCLs ist die spektrale Breite des durchstimmbaren Bereichs eine wichtige Kenngröße. Der erste EC-QCL mit einer großen spektralen Breite (ca. 150 cm^{-1}) wurde 2004 von *Maulini* vorgestellt.^[74] Der aktuelle Rekord liegt bei 432 cm^{-1} .^[75] EC-QCLs sind bereits seit 2006 kommerziell erhältlich^[76] und haben dort meist Breiten bis zu ca. 200 cm^{-1} . Durch Kombination mehrerer Chips werden auch Lasermodule mit einer Gesamtbreite von bis zu 800 cm^{-1} angeboten.^[77]

Hier soll kurz das Grundprinzip von QCLs erklärt sowie deren Anwendungen

vorgestellt werden. Dabei wird ein besonderer Fokus auf die Anwendung von EC-QCLs und flüssige bzw. feste Proben gelegt. Für eine detaillierte Beschreibung des Themas ist das Buch von *Faist* zu empfehlen.^[78]

2.4.1. Grundlagen Quantenkaskadenlaser (QCL)

Die Emission von Licht in Quantenkaskadenlasern basiert auf elektronischen Übergängen zwischen den Energiebändern des Halbleitermaterials. Die Bandstrukturen in Halbleitern können bei der Herstellung z.B. durch Dotierung und Schichtstrukturen auf vielfältige Art beeinflusst werden. In optisch aktiven Halbleitern, wie z.B. Solarzellen, finden meist Übergänge zwischen zwei Bändern statt, wobei ein Photon absorbiert oder emittiert wird. Die Materialien sind auf diese Inter-Band-Übergänge ausgelegt. Durch Schichtstrukturen oder auch Dotierung entstehen Strukturen mit Potentialtöpfen, wie sie in Abb. 2.11 zu sehen sind. Dadurch kann die Größe der Bandlücke variiert werden. In diesen Potentialtöpfen können die Elektronen verschiedene Zustände besetzen (vgl. dazu als stark vereinfachtes Beispiel das „Teilchen im Kasten“ z.B. in [49]). Zwischen diesen Zuständen sind ebenfalls Übergänge unter Absorption oder Emission eines Photons möglich. Diese nennt man Intraband- oder Intersubband-Übergänge. Sie wurden bereits Anfang der 1970er Jahre theoretisch beschrieben und eine Nutzung für Laser postuliert.^[79,80]

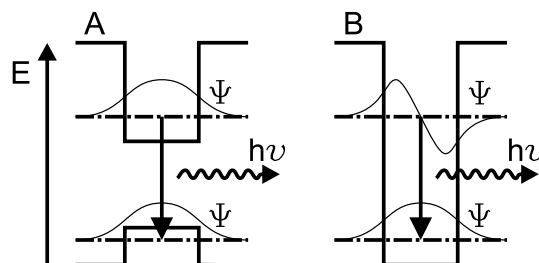


Abbildung 2.11.: Schematische Darstellung eines Interbandübergangs (A) und eines Intersubbandübergangs (B) in einem QCL-Material. Gezeigt sind auch Wellenfunktionen Ψ der Elektronen in den Potentialtöpfen.

Für Quantenkaskadenlaser werden Halbleitermaterialien so in Schichten aufgebaut, dass eine elektronische Struktur mit vielen Potentialtöpfen entsteht. Durch Anlegen einer äußeren Spannung erhält die gesamte Potentialkurve eine Schiefelage, wie in Abb. 2.12 dargestellt. So kann ein Elektron nach einem Intersubband-Übergang durch die Barriere tunneln und im benachbarten Potentialtopf wieder einen Intersubband-Übergang unter Aussendung eines weiteren Photons durchführen. Der energetische Abstand der Zustände innerhalb eines Potentialtopfs ist vor allem von dessen Breite und damit von der Dicke der entsprechenden Halbleiterschicht ab-

2. Theoretische Grundlagen

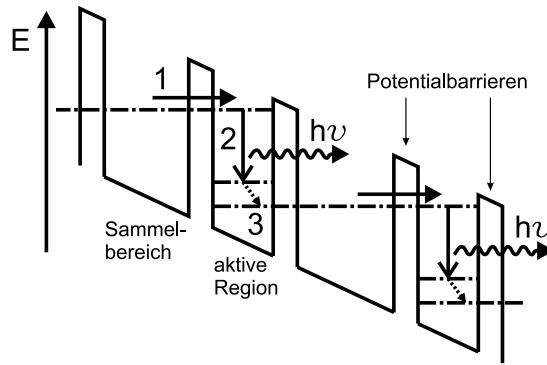


Abbildung 2.12.: Darstellung des Prinzips eines Quantenkaskadenlasers nach [82]. Die Elektronen häufen sich in den Sammelbereichen, tunneln dann (1) durch die Potentialbarriere in die aktive Region und vollziehen unter Aussendung eines Photons einen stimulierten Intersubbandübergang (2). Über weitere strahlungslose Übergänge (3) gelangt das Elektron in den nächsten Sammelbereich. In vielen Schichten kann ein Elektron in Kaskaden viele Photonen aussenden.

hängig. Damit lässt sich beim Herstellen von solchen Quantenkaskaden-Materialien die elektronische Struktur gestalten. Damit tatsächlich Laser-Licht austritt, d.h. stimulierte Emission auftritt, muss in normalen Lasern „Besetzungsumkehr“ der Zustände erreicht werden. In Quantenkaskadenlasern wird dies durch sog. Injektions- oder Sammel-Bereiche zwischen denen als aktive Regionen bezeichneten Potentialtöpfen verwirklicht. Sowohl die Sammel- als auch die aktiven Regionen bestehen in Wirklichkeit aus mehreren unterschiedlich dicken Schichten, die z.T. nur wenige Atomlagen dick sind (z.B. bis ca. 9 Å in [81]). Beim Durchqueren des gesamten Materials kann ein Elektron in einer Kaskade viele Intersubbandübergänge durchlaufen und so mehrere Photonen aussenden.^[78]

Die Oberflächen des Lasermaterials reflektieren das Licht, sodass der Laser-Chip selbst als *Fabry-Perot*-Resonator wirkt. Im Pulsbetrieb erhitzt sich das Lasermaterial und dehnt sich aus, dadurch wird ein Bereich von ca. 1 cm^{-1} abgescannt. In einem typischen QCL-Chip mit einer Größe von ca. 1 mm bis 3 mm konkurrieren verschiedene Frequenzen, was eine genaue Vorhersage der Emissionswellenlänge schwierig macht.^[78] Daher werden frequenzselektierende Gitterstrukturen auf das Lasermaterial aufgebracht. Solche „distributed feedback QCLs“ (DFB) können über die Temperatur um ca. 10 cm^{-1} , oder über den Betriebsstrom um ca. 1 cm^{-1} durchgestimmt werden. Der limitierende Faktor ist dabei die Ausdehnung des Materials.

Um das frequenzselektierende Gitter vom Lasermaterial zu entkoppeln, wird letzteres mit einer Anti-Reflexions-Oberfläche ausgestattet und das Gitter außerhalb angebracht. Dies macht einen gewinkelten Aufbau mit zusätzlicher Linse und Spiegel nötig, jedoch kann dann der Laser über einen viel weiteren Bereich durchge-

stimmt werden. Solche „external cavity“ EC-QCLs sind typischerweise über mehr als 100 cm^{-1} durchstimmbare und erlauben damit den Einsatz als spektroskopische Lichtquelle auch für Flüssigkeiten. DFB-QCLs werden vorwiegend für die Analyse von Gasen, die allgemein sehr schmale Infrarotpeaks zeigen, genutzt.^[83] In EC-QCLs sind mehrere Moden gleichzeitig aktiv und beim Durchstimmen passieren sog. Modensprünge. Dies führt zu Intensitätssprüngen im Emissionsprofil, die nicht reproduzierbar sind und ein hohes Rauschen verursachen. Ein Betrieb mit fester Wellenzahl ist daher rauschärmer. DFB-QCLs werden wie EC-QCLs häufig gepulst betrieben. Noch stabiler, mit einer wesentlich engeren Linienbreite, arbeiten QCLs im „continuous wave“ (CW) Modus.^[71] Laser, die dafür geeignet sind, wurden erstmals 2002 gebaut.^[84]

2.4.2. Anwendungen von EC-QCLs bei flüssigen Proben

Die schmalen Emissionscharakteristiken und die hohe Stabilität von DFB-QCLs sind zur Analytik von Gasen besonders geeignet. Dank der hohen Lichtintensität können sehr lange Gaszellen durchstrahlt und durch die hohe Selektivität auch Spurengase zuverlässig nachgewiesen werden. In der Literatur finden sich viele solcher Anwendungen und auch der Einsatz von EC-QCLs wurde berichtet, da sich dadurch verschiedene Gase mit nur einem Sensor nachweisen lassen.^[85]

EC-QCLs wurden erfolgreich zur Untersuchung von menschlichem Blut eingesetzt. Dabei konnten verschiedene Blutwerte darunter Glucose, Laktat, Cholesterin, Gesamtprotein und Albumin schneller als mit konventionellen Labormethoden quantifiziert werden.^[86,87] Der Einsatz von EC-QCLs zur Detektion von Pestiziden in Trinkwasser wurde mit einer interessanten Technik realisiert, bei der im evaneszenten Feld einer Faseroptik aus AgBrCl gemessen wird (vgl. ATR-Technik, Kap. 2.3.3).^[71] Beim Ein- und Auskoppeln des Lichts aus der Faseroptik treten hohe Verluste auf. Daher ist der Einsatz einer Lichtquelle mit hoher Strahlungsleistung, also eines Quantenkaskadenlasers, besonders interessant. Auch bei der VCD-Spektroskopie (engl. „vibrational circular dichroism“) ist der Intensitätsverlust beim generieren des zirkular polarisierten Lichts ein Problem. Auch hier wurde ein EC-QCL erfolgreich als Lichtquelle genutzt.^[88] Anwendungen von QCLs in der Chromatographie werden im Kapitel 5.2 besprochen, einige weitere generelle Beispiele finden sich in [89]. Da die Technologie der QCLs noch recht jung ist, wird sich die Bandbreite der Anwendungen in Zukunft sicherlich noch erheblich erweitern.

3

Existierende Kopplungen

Chromatographie ist eine Methode um Stoffgemische aufzutrennen. Die getrennten oder aufgereinigten Stoffe weiter zu analysieren ist generell interessant, da es genauere Messungen erlaubt als im Gemisch. Daher existieren verschiedene Kopplungsmethoden, von denen sich einige als besonders gut realisierbar erwiesen haben. Darunter ist die Kombination aus Gaschromatographie (GC) und FTIR Spektroskopie besonders wichtig.^[90] Bei Verwendung eines IR-transparenten Trägergases wie Stickstoff oder Argon und beheizten Flusszellen können Spektren der getrennten Substanzen aufgenommen werden.^[91] Der Aufbau ist apparativ sehr ähnlich zu den ebenfalls weit verbreiteten Kopplungen zwischen FTIR und Thermoanalysen. Auch die Kopplung von GC mit Massenspektrometrie (MS) ist weit verbreitet.^[92] Genauso sind HPLC-MS Kopplungen mit LAC-Säulen häufig zu finden.^[93] Massenspektrometer sind zwar teuer, erlauben aber sehr genaue Aussagen über die Masse der analysierten Probe und deren Fragmente. Aus dem Fragment-Muster kann auf die Struktur des Stoffes geschlossen werden. In einer solchen Kopplung kann z.T. eine Kalibrierung der LAC entfallen, was besonders interessant ist, wenn z.B. bei Naturstoffen keine Reinsubstanzen verfügbar sind.^[94]

In der LAC und der GC werden die Substanzen nach ihren chemischen Eigenschaften aufgetrennt. Eine Kopplung mit Spektroskopie bestätigt und verfeinert diese „chemische Information“ und ist daher vergleichbar mit der Kopplung von GPC (Auftrennung nach Größe) und Lichtstreuung zur verbesserten Größenbestimmung.

3. Existierende Kopplungen

Besonders interessant sind hingegen Kopplungen, die komplementäre Informationen liefern wie z.B. die Kombination von GPC und Spektroskopie um die chemische Zusammensetzung in Abhängigkeit vom Molekulargewicht zu bestimmen. Diese korrelierte Information ist in getrennten Messungen nicht zugänglich. In diesem Kapitel sollen bereits existierende Kopplungen vorgestellt werden, die in engem Zusammenhang zur GPC-IR-Kopplung stehen. Korrelierte Informationen über die größenabhängige, chemische Zusammensetzung können z.B. auch aus der Kopplung zweier Chromatographiesysteme wie LAC-GPC erhalten werden. Für Polymere ist besonders die LC unter kritischen Bedingungen (LCCC) in Kopplung mit der GPC interessant.^[95] Viele Kopplungsmethoden die in der Polymeranalytik eine Rolle spielen wurden von *Pasch* in [96] zusammengefasst.

In jeder Kombination aus GPC und Spektroskopie sind die unterschiedlichen Anforderungen an die Probenkonzentration eine Herausforderung: Die Chromatographie trennt auf der Säule nur sehr verdünnte Lösungen ($< 1 \text{ g/L}$) wohingegen für die Spektroskopie eine möglichst hohe Konzentration oder gar ein Reinstoff gewünscht ist. Zur Lösung dieses Problems gibt es drei Ansätze. Die erste Idee ist, das Lösungsmittel durch Verdampfung zu entfernen. Dies wird in der Kopplung mit FTIR in der sog. offline-Kopplung (s. Kap. 3.3.1) realisiert und passiert in der MS (s. Kap. 3.1) quasi automatisch, da auch die Analytmoleküle in die Gasphase gebracht werden müssen. Die zweite Herangehensweise ist das Nutzen von transparenten Lösemitteln. In der ^1H -Kernresonanzspektroskopie (NMR) zeigen z.B. deuterierte Lösemitteln keine Signale (vgl. Kap. 3.2), zudem können Lösemittelsignale über Pulsprogramme unterdrückt werden. Im Infrarotbereich sind Lösemittel nur in schmalen Bereichen – sog. spektralen Fenstern – transparent, sodass kein komplettes Spektrum gemessen werden kann. Infrarotdetektion unter Beschränkung auf ein spektrales Fenster ist praktisch nur für die Bestimmung von Polyolefinen in der Hochtemperatur-GPC (HT-GPC) sinnvoll (s. Kap. 3.3.2). Zuletzt besteht die Möglichkeit die Signale des Lösungsmittels mathematisch zu subtrahieren. Für die LAC-FTIR-Kopplung wurden chemometrische Datenauswertungen berichtet (s. Kap. 3.4).^[97–99] Für die Größenausschlusschromatographie wurde ein mathematischer Ansatz erstmalig in dieser Arbeit in der Kopplung mit FTIR-Spektroskopie realisiert und eine spezielle Datenverarbeitung mit Driftkorrektur zur Lösungsmittelunterdrückung entwickelt.

3.1. GPC-Massenspektrometrie

Die Kopplung von LAC und Massenspektrometrie ist weit verbreitet. Es gibt aber wesentliche Unterschiede zur GPC, die dort einen Einsatz eines MS-Detektors er-

3. Existierende Kopplungen

schweren. Mit Adsorptionschromatographie werden vorwiegend niedermolekulare Substanzen ($< 1000 \text{ g/mol}$) untersucht, welche sich sehr gut mit MS untersuchen lassen und deren Fragmentation in der MS zusätzlich sehr detaillierte Informationen liefert. Mit der GPC werden vorwiegend Polymere aufgetrennt, die auf Grund ihrer Größe nur schwer in die Gasphase überführt, ionisiert und massenspektrometrisch untersucht werden können. Die Kopplung von GPC und MS kann daher vorwiegend für Oligomere und kleine Polymere ($\frac{m}{z} < 4000 \text{ g/mol}$) genutzt werden.^[100] Um die Polymermoleküle möglichst unfragmentiert in die Gasphase zu überführen eignet sich besonders die sog. Elektro-Spray-Ionisations-Technik (ESI). Mit der MALDI-Technik (engl. für „matrix assisted laser desorption ionization“), die aber nicht online mit GPC gekoppelt werden kann, können Polymere bis ca. 100 kg/mol analysiert werden.^[100] Eine MS-Detektion bei der GPC dient – ähnlich wie die Lichtstreuung – einer genaueren Molmassenbestimmung. Massenspektrometer sind sehr selektiv und können das Masse-zu-Ladungs-Verhältnis eines geladenen Teilchens sehr genau bestimmen. Die Ionisation der Teilchen passiert nur mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit, die von vielen Faktoren (u.a. der Molmasse) abhängen. Daher können die Peakintensitäten auch von unterschiedlich langen Polymerketten nicht verglichen werden. Die MS ist also sehr selektiv, die Peaks sind aber nicht einfach quantifizierbar. Die DRI-Detektion der GPC ist hingegen sehr sensitiv und wenig selektiv. *Barner-Kowollik* und Mitarbeitern ist es gelungen die beiden Vorteile sinnvoll zu verknüpfen.^[42] Aus der Massenspektrometrie wird dabei für jede Polymerkette einer bestimmten Länge ein sog. SOP (engl. für „single oligomer profile“) gewonnen, das ist das Chromatogramm für dieses Polymer mit genau definierter Masse. Dies entspricht der systembedingten Peakverbreiterung für dieses Oligomer (vgl. Kap. 2.2.3). Das DRI-Signal ist in der Theorie aus all diesen SOPs zusammengesetzt. Mathematisch wird das DRI-Signal über die *Tung'sche* Gleichung^[39] aus den SOPs rekonstruiert (vgl. Kap. 2.2.3). Die Vorfaktoren der SOPs entsprechen den tatsächlichen Konzentrationen der Oligomere.

3.2. GPC-Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Die Kernresonanzspektroskopie (NMR) bietet auf Grund ihrer Selektivität, die detaillierte Strukturaufklärungen erlaubt, unter allen Spektroskopiearten für Proben in Lösung wohl die meisten Möglichkeiten und ist damit eine sehr leistungsstarke, quantitative Analysemethode. Die Geräte für Hochfeld-NMR sind in Anschaffung und Unterhalt um Größenordnungen teurer und komplexer als z.B. ein FTIR-Spektrometer, Niederfeld-NMR ist vergleichsweise günstig dafür wesentlich weniger sensi-

3. Existierende Kopplungen

tiv. Generell ist die NMR-Spektroskopie sehr selektiv und kann sehr viele strukturelle Unterschiede, Endgruppen und Zusammensetzungen auflösen. Wegen des niedrigen Energieunterschieds der quantenmechanischen Kernspinzustände (vgl. [47]) ist die NMR-Spektroskopie allerdings nicht sehr sensitiv, insbesondere bei geringen Konzentrationen und Verweildauern bei Kopplung mit Chromatographie. Dennoch wurde bereits viel auf dem Gebiet der GPC-NMR-Kopplung gearbeitet. Ein erster Übersichtsartikel von *Albert* erschien bereits im Jahre 1995,^[101] ein ausführliches Kapitel in [96] gibt eine aktuelle Übersicht.

3.2.1. GPC-NMR im Hochfeld

Deuterte Lösemittel sind in der ^1H -NMR-Spektroskopie transparent, allerdings sehr teuer. Für den Einsatz als GPC-Laufmittel wird viel Lösemittel benötigt, so dass nur deuteriertes Wasser oder Chloroform für Routineanwendungen in Frage kommen. Die ersten wissenschaftlichen Versuche einer GPC-NMR-Kopplung wurden mit deuteriertem Chloroform durchgeführt um Polymethylmethacrylate (PMMA) zu analysieren.^[102] Erst später wurden Pulsprogramme eingesetzt um das Lösemittel zu unterdrücken und machten so die GPC-NMR besser anwendbar.^[103,104] Seiher wurden viele Anwendungen berichtet. Als Beispiel sei hier die Untersuchung der chemischen Zusammensetzung von Styrol-Ethylacrylat-Copolymeren erwähnt.^[105] Im Bereich der Oligomere wurden Polymere auch auf LAC Säulen getrennt.^[106] Als apparativ besonders aufwändige Kopplung sei noch die Kopplung von Hochtemperatur-GPC zur Polyolefinuntersuchung mit ^1H -NMR genannt.^[107] In einer Kopplung mit 2D-Chromatographie und ^1H -NMR Spektroskopie wurden in der ersten chromatographischen Dimension PEG-Proben unter kritischen Bedingungen nach ihrer Endgruppe aufgetrennt und anschließend nach ihrer Größe. Durch die spektroskopische Detektion konnten quantitative Aussagen und Zuordnungen über die Funktionalisierung der Endgruppen korreliert mit der Molekulargewichtsverteilung gemacht werden.^[108]

3.2.2. GPC-Niederfeld-NMR

Das größte Problem der Hochfeld-NMR-Spektroskopie, die hohen Kosten, könnte durch Verwendung von Niederfeld-Geräten gelöst werden. Die hohen Magnetfelder, die für hochauflösende Spektroskopie benötigt werden, können nur mit teuren, supra-leitenden Magneten erzeugt werden. Mit Permanentmagneten, welche eher für NMR-Relaxometrie genutzt werden, kann aber im entsprechend niedrigeren Feld und damit bei schlechterer Auflösung auch NMR-Spektroskopie betrieben werden.^[109,110]

3. Existierende Kopplungen

Um verschiedene Polymere, die auf Grund der chemischen Struktur und Dynamik bereits eine große intrinsische Linienbreite zeigen, unterscheiden zu können genügt eine reduzierte Auflösung. Die Bestimmung von z.B. der Zusammensetzung ist möglich.

Die Kopplung von GPC mit Niederfeld-NMR oder „medium resolution“(MR)-NMR, wie sie auch häufig genannt wird, wurde für protoniertes Chloroform und für deuteriertes Wasser erfolgreich angewendet.^[111-113] Organische Lösemittel können durch ein spezielles Pulsprogramm unterdrückt werden, wenn sich die Relaxationszeit von der des untersuchten Polymers erheblich unterscheidet.^[113] Die mathematische Lösungsmittelunterdrückung, die vom Autor im Rahmen dieser Arbeit entwickelt wurde (s. Kap. 4.3), konnte die Ergebnisse aus der GPC-MR-NMR-Kopplung zwar verbessern,^[112] jedoch reicht die Sensitivität des MR-NMR-Spektrometers für eine rein mathematische Lösungsmittelunterdrückung nicht aus. Verbesserte Permanentmagnete, die ein höheres Feld erlauben (z.B. 60 MHz statt bisher 20 MHz), könnten in Zukunft die Niederfeldspektrometer und damit auch die GPC-Kopplung verbessern, da die Messzeit mit der vierten Potenz des Magnetfelds skaliert.

3.3. GPC-IR-Kopplungen

3.3.1. Offline-GPC-FTIR-Kopplung mit Verdampfung des Lösungsmittels

Die Grundidee dieser Kopplung ist es den Eluentenstrom aus der GPC mit einer feinen Düse in einem Ofen zu versprühen, sodass das Lösungsmittel verdampft und sich das Polymer auf einer sich drehenden Scheibe (meist aus Germanium) niederschlägt. Anschließend kann die Ge-Scheibe in einem IR-Spektrometer orts aufgelöst vermessen werden, wobei die Spektren Elutionsvolumina zugeordnet werden können. So ist Substanzidentifikation sowie die Betrachtung sog. Chemigramme möglich.

Diese Technik wurde in den 1980er Jahren erstmalig mit einer Scheibe aus spiegelndem Aluminium erfolgreich angewendet.^[114-116] Später entwickelte die Firma *Lab Connections* (Marlborough, Massachusetts, USA) auf dieser Basis einen kommerziell erhältlichen IR-Detektor.^[117,118] Abbildung 3.1 zeigt den Aufbau.

Da bei dieser Methode nicht nur das Lösungsmittel vollständig entfernt wird, sondern auch die Messzeit für die Spektren von der Chromatographie entkoppelt ist, können hier besonders detailreiche Spektren gemessen werden. Hochsiedende Lösungsmittel sowie der Zusatz von Salzen, der vor allem in der wässrigen GPC sehr häufig vorkommt, verursachen Probleme. Das Problem der schwer verdampfenden

3. Existierende Kopplungen

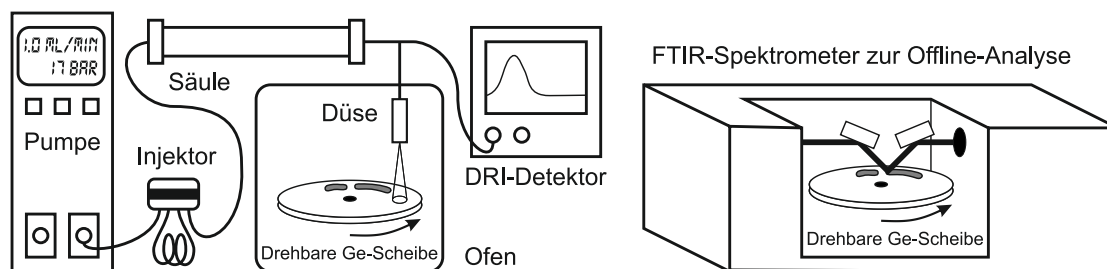


Abbildung 3.1.: Schematischer Aufbau der offline-GPC-FTIR-Kopplung: Das Eluat der GPC wird durch die Düse versprüht, die Probe wird dabei zur Online-Probensammlung auf der Germaniumscheibe abgeschieden. In einem zweiten Schritt wird offline die Germaniumscheibe ortsaufgelöst mit einem FTIR-Spektrometer analysiert.

Lösungsmittel konnte mit einer speziell für die HT-GPC gestalteten Anlage gelöst werden.^[119]

Eine Quantifizierung der Chemigramme ist nicht immer möglich, da die IR-Intensität sehr stark vom Abscheidungsprozess abhängt. So hat z.B. die Flussrate einen erheblichen Einfluss und die Reproduzierbarkeit ist oft ungenügend.^[120] Einen Vergleich dieser Methode mit Messungen in Durchflusszellen findet sich in [121].

Die neueste Entwicklung im Bereich der GPC-FTIR-Kopplung mit Lösungsmittelverdampfung ist ein Gerät der Firma *Spectra Analysis* (Marlborough, MA, USA), welches ein IR-Spektrometer sowie die Verdampfungseinheit in einem Gehäuse kombiniert, sodass die IR-Spektren direkt online gemessen werden, kurz nachdem das Polymer auf einer ZnSe-Scheibe abgeschieden wurde. Eine genauere Beschreibung findet sich in [122] sowie auf der Webpage der Firma.^[123]

3.3.2. Hochtemperatur-GPC-IR-Kopplung

In der Hochtemperatur-GPC (HT-GPC) werden Polyolefine untersucht. Diese lösen sich nur bei hohen Temperaturen z.B. in 1,2,4-Trichlorbenzol (TCB) bei 140 °C, was eine spezialisierte GPC-Anlage erfordert. Dabei ergibt sich ein günstiger Umstand für die Kopplung mit Infrarotspektroskopie, da das Lösungsmittel TCB ein sog. spektrales Fenster zwischen 2700 cm^{-1} und 3000 cm^{-1} besitzt, in welchem charakteristische Banden von Polyolefinen untersucht werden können. Üblich sind Flusszellen mit einer Dicke von 2 mm und damit recht großem Innenvolumen. Zudem werden die Säulen meist um einen Faktor 5 bis 10 überladen um ein ausreichendes S/N zu erhalten. Dann können jedoch auch feine Details wie z.B. Verzweigungen detektiert werden. Üblich ist dafür die Quantifizierung des Methylpeaks bei 2958 cm^{-1} und des Methylenpeaks bei 2928 cm^{-1} .^[124-126] *DesLauriers* konnte zeigen, dass die so gewonnenen Ergebnisse über die Topologie der Polymere mit makroskopischen Ma-

3. Existierende Kopplungen

terialeigenschaften korrelieren und sich mit HT-GPC-IR-Messungen die Ergebnisse von sehr langwierigen Test zum langsamen Risswachstum in Polyethylen abschätzen lassen.^[127] Die Verknüpfung von mikroskopischen und makroskopischen Eigenschaften, die im Allgemeinen schwierig ist, kann beispielsweise auch über eine völlig anderen Ansatz mit rheologischen Untersuchungen in Schmelze an möglichst definiert synthetisierten Polymeren hergestellt werden.^[128]

3.4. Adsorptionschromatographie-IR-Kopplungen

Bei der Kopplung mit Infrarotspektroskopie ergeben sich aus den Unterschieden zwischen LAC und GPC unterschiedliche Anforderungen und daher unterschiedliche Kopplungsverfahren. Niedermolekulare Komponenten, wie sie in der LAC hauptsächlich untersucht werden, sind häufig auch als Reinstoff flüssig oder sogar niedrigsiedend. Damit ist eine Abscheidung auf einer Ge-Scheibe wie in der GPC-IR (vgl. Kap. 3.3.1) ausgeschlossen. Weiterhin werden in der LAC fast immer Lösungsmittelgradienten genutzt. Dabei nur die wenigen verfügbaren IR-transparenten Lösungsmittel nutzen zu können, schränkt eine LAC-IR-Kopplungsmethode unter Ausnutzung spektraler Fenster wie in Kap. 3.3.2 für die GPC beschrieben zu sehr ein.

Um das Problem der Lösungsmittelgradienten zu lösen wurde in der Gruppe von *Lendl* eine Methode zur chemometrischen Datenverarbeitung entwickelt. Für die Micro-HPLC wurden IR Spektren mit einer Durchflusszelle im Nanolitermaßstab aufgenommen,^[129–131] sowie Daten aus ATR-Zellen mit neun internen Reflexionen.^[132] In einer Kopplung aus LAC und FTIR wurden bereits 1997 verschiedene Zucker in Limonaden untersucht.^[133] Diese Experimente dienten als Vorlage und Vergleich für die Kopplung mit einem EC-QCL, welche im Rahmen dieser Arbeit realisiert wurde (s. Kap. 5.2).^[134]

Zu Beachten ist, das bei der Kombination von LAC und FTIR die korrelierte Information nicht immer einen Zugewinn bedeutet, da im Prinzip sowohl LAC als auch IR-Spektroskopie eine chemische Information liefern. Daher wird diese Kopplung nur selten eingesetzt. Zudem existiert mit der LAC-MS-Kopplung eine gut funktionierende und meist aussagekräftigere Alternative.

3.5. Adsorptionschromatographie mit QCL-Detektion

Quantenkaskadenlaser werden häufig zur Analytik von Gasen im mittleren Infrarotbereich eingesetzt, weil diese sehr schmale Absorptionsbanden zeigen und daher

3. Existierende Kopplungen

auch mit einer geringen spektralen Breite des Laser oder sogar auf einer einzelnen Frequenz spezifisch nachgewiesen werden können. Aufgrund ihrer hohen Lichtleistung liegt jedoch auch der Einsatz von QCLs zur Analytik von Lösungen nahe. Da diese Halbleiter-Laser-Technik jedoch noch eine sehr junge Technologie ist, wurden bisher nur wenige Anwendungen zur Detektion von Chromatographie berichtet.

Die erste erfolgreiche LAC-Detektion wurde 2001 von *Strasser* et al. mit einem FP-QCL realisiert.^[135] Dabei wurde Fruktose und Glukose in Wein analysiert. Der QCL emittierte bei einer Wellenzahl von 1067 cm^{-1} . Für Glucose wurde ein theoretisches Detektionslimit von $18\text{ }\mu\text{g}$ injizierter Masse (bei einem Injektvolumen von $50\text{ }\mu\text{L}$) aus der Standardabweichung der Methode berechnet. Für Fruktose betrug der Wert $19,5\text{ }\mu\text{g}$. Damit stand ein HPLC-Detektor zur Verfügung, der spezifisch auf Substanzen mit IR-Absorption bei 1067 cm^{-1} reagiert. Pro Komponente, die spezifisch nachgewiesen werden soll, muss theoretisch ein solcher Detektor mit unterschiedlicher Wellenzahl genutzt werden. Daher wurden zwei Laser mit 1080 cm^{-1} und 1393 cm^{-1} kombiniert, was die Detektionsmöglichkeiten bereits erheblich erweiterte.^[136] In Kombination mit der LAC-Trennung konnten so Zitronensäure, Tartrarsäure, Äpfelsäure, Essigsäure, Glucose, Fruktose, Glycerin und Ethanol in Wein und Traubensaft mit Detektionslimits zwischen $9,5\text{ }\mu\text{g}$ und $64,5\text{ }\mu\text{g}$ (bei einem Injektvolumen von $50\text{ }\mu\text{L}$) analysiert werden. Da die Frequenzen der DFB-QC-Laser nicht frei gewählt oder gar eingestellt werden können ist dieses Konzept limitiert.

Statt vieler einzelner DFB-QCLs mit sehr schmalen Emissionsspektrum scheint der Einsatz eines durchstimmbaren EC-QCLs wesentlich sinnvoller um für verallgemeinerte Fragestellungen Spektroskopie betreiben zu können. Dies wurde im Rahmen dieser Arbeit erstmals realisiert (s. Kap. 5.2).^[134]

4

Methodenentwicklung

Blickt man auf die existierenden GPC-Kopplungen (s. Kap. 3) und bewertet diese nach ihrer Einsetzbarkeit in der GPC-Routineanalytik, so scheidet als erstes die Hochfeld-NMR-Spektroskopie aus, da ein NMR-Spektrometer die Kosten und die Komplexität einer GPC-Anlage um ein Vielfaches übersteigt (s. Kap. 3.2). Arbeiten zur Kopplung von GPC und der wesentlich günstigeren Niederfeld-NMR-Spektroskopie wurden in der Arbeitsgruppe parallel zu dieser Arbeit unternommen.^[113] Die bisher verfügbaren Spektrometer waren jedoch für einen universellen Einsatz nicht sensitiv genug. Massenspektrometer sind ebenfalls teuer und können zudem nur kleine Polymere analysieren (s. Kap. 3.1). Infrarotspektrometer unterliegen dieser Beschränkung nicht, dennoch haben sich die bisherigen Kopplungsmethoden nicht zu Standardverfahren entwickelt.

Die IR-Kopplung mit Hochtemperatur-GPC für Polyolefine (s. Kap. 3.3.2) ist auf ebendiese beschränkt, da die meisten Lösungsmittel keine breiten spektralen Fenster haben in denen Polymere absorbieren. Organischen Substanzen, die hauptsächlich aus C, H, O und N aufgebaut sind und zu denen sowohl Polymere als auch übliche Lösungsmittel wie z.B. THF oder Toluol zählen, zeigen sehr viele charakteristische Absorptionen im sog. „Fingerprintbereich“ (1000 cm^{-1} bis ca. 1450 cm^{-1}).^[50] Es ist folglich eher mit einer Überlappung von Peaks zu rechnen als dass Polymere charakteristisch in spektralen Fenstern des Lösungsmittels absorbieren. Breite und signalfreie Bereiche findet man vorwiegend bei chlorierten Lösemitteln, von denen

4. Methodenentwicklung

nur TCB bei 140 °C routinemäßig eingesetzt wird. Die GPC-IR-Kopplungsmethode wie sie in der HT-GPC realisiert wird, ist auf Trichlorbenzol und Polyolefine spezialisiert und kann nicht auf andere Eluenten und Polymere oder einen Betrieb bei Raumtemperatur übertragen werden. Vor allem halogenfreie Lösungsmittel wie z.B. THF oder Wasser zeigen zudem so starke Absorptionen, dass sie in den Flusszellen der HT-GPC-Kopplung mit ca. 2 mm Schichtdicke Totalabsorption zeigen, d.h. sie sind in weiten Spektralbereichen sogar völlig intransparent. Totalabsorption tritt je nach Lösungsmittel ab ca. 20 µm Schichtdicke auf.

Die alternative GPC-FTIR-Kopplung mit Verdampfung des Lösungsmittels (vgl. Kap. 3.3.1) hingegen ist oft ein zweistufiges Verfahren, also keine Online-Detektion. Die Verdampfung kann bei hochsiedenden Lösungsmitteln wie z.B. Toluol zu Problemen führen, da sie unvollständig sein kann oder empfindliche Polymere zersetzt werden. In Wasser werden zusätzlich für die Trennung häufig Salze zugesetzt, die eine sinnvolle Infrarotmessung des Feststoffs unmöglich machen. Besonders in industriellen Proben schlagen sich flüssige, niedermolekulare Zuschlagstoffe und z.T. auch Oligomere nicht sauber auf der Trägerscheibe aus Germanium nieder und können dort Verlaufen oder Verwischen. Treten diese Probleme nicht auf ist eine Substanzidentifikation mit dieser Methode sehr gut möglich. Eine Quantifizierung hingegen ist nach der Verdampfung des Lösungsmittels nicht zuverlässig.^[121]

In dieser Arbeit sollte daher eine weitere GPC-IR-Kopplung entwickelt werden, die online und mit beliebigen Lösungsmitteln sowie beliebigen Polymeren funktioniert. Der technische Aufwand sollte möglichst gering sein, sodass ein GPC-Anwender den Detektor auch ohne tiefer gehende Kenntnisse über IR-Spektroskopie bedienen kann. Abb. 4.1 zeigt, wie ein FTIR-Spektrometer neben anderen Detektoren in das GPC-System eingebunden werden kann, ein Foto findet sich im Anhang (s. S. 120).

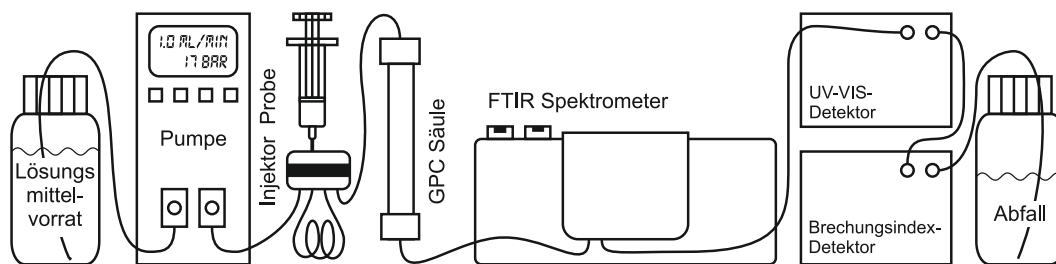


Abbildung 4.1.: Das Schema zeigt den generellen Aufbau einer GPC-Anlage mit FTIR-Detektor. Das FTIR-Spektrometer kann wie jeder andere Detektor verbunden werden. Der Aufbau weicht damit vom normalen Aufbau kaum ab (vgl. Abb. 2.2). Ein Foto des tatsächlichen Aufbaus findet sich im Anhang, s. S. 120.

Um dies zu erreichen sollten in einer speziell konstruierten Flusszelle für die GPC-FTIR-Kopplung (Kap. 4.2) mit einem optimierten FTIR-Spektrometer (s. Kap. 4.1)

4. Methodenentwicklung

Spektren online aufgenommen werden. Aus diesen Spektren sollten die Lösungsmittelsignale anschließend mathematisch unterdrückt werden. Bereits in der Diplomarbeit^[47] wurde gezeigt, dass die dafür nötige Sensitivität mit modernen Spektrometern erreicht werden kann. Die mathematische Lösungsmittelunterdrückung sollte ausnutzen, dass GPC ausschließlich isokratisch, d.h. in gleichbleibendem Eluenten, betrieben wird und die Lage der Lösungsmittelsignale daher als konstant angenommen werden können. Zudem haben GPC-Trennungen (im Gegensatz zu LAC-Säulen) ein bekanntes Fenster in der Zeit oder dem Elutionsvolumen, in welchem die Polymerpeaks eluieren. Die Kenntnis dieses Trennbereichs stellte sich als sehr günstig für die Lösungsmittelunterdrückung heraus (s. Kap. 4.3). Alternativ kann die Peakposition und damit der Trennbereich auch mit einem Referenzdetektor, z.B. dem DRI, bestimmt werden.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte außerdem untersucht werden, ob mit stärkeren Lichtquellen, den Quantenkaskadenlasern, Spektroskopie mit höherer Sensitivität möglich ist und die Kopplungsmethode damit weiter verbessert werden kann.

Das Messprinzip bei der Kombination aus GPC und FTIR-Spektroskopie wird engl. als „Time resolved Infrared spectroscopy for Molecular Online GPC Detection“ (TIMO-GPC Detektion) bezeichnet. Ein solcher TIMO-Detektor kann wegen seiner großen Bandbreite und Selektivität sehr universell eingesetzt werden und theoretisch jedes Polymer in jedem Lösungsmittel detektieren, identifizieren und quantifizieren (s. Kap. 5). Der Wunsch nach Anwendbarkeit auf möglichst viele GPC-Fragestellungen schließt in der Methodenentwicklung weitreichende Vorbedingungen an die GPC oder Veränderungen an derselben aus. Es sollte daher untersucht werden, welche GPC-Parameter angepasst werden können, ohne dass diese ohne Einschränkungen verursachen (s. Kap. 4.4).

4.1. Optimierung des FTIR Spektrometers

Für die Experimente dieser Arbeit wurden zwei Spektrometer verwendet. Das *Vertex 70* FTIR Spektrometer ist ein kommerziell erhältliches Forschungsspektrometer der Firma *Bruker Optik GmbH* (Ettlingen, Deutschland). Die Arbeiten zur reinen Optimierung des FTIR-Spektrometers wurden zu großen Teilen in der Diplomarbeit [47] durchgeführt und beschrieben sowie in [137]. Der Vollständigkeit halber werden in diesem Kapitel die wichtigsten Punkte nochmals aufgeführt. Des Weiteren wurde ein neuartiges Testgerät mit einem Quantenkaskadenlaser als Lichtquelle eingesetzt. Dieses Gerät wurde ebenfalls von der Firma *Bruker* hergestellt. Eine genauere Beschreibung findet sich im Kapitel 4.5.

4. Methodenentwicklung

Bei statischen Messungen und sehr vielen weiteren Anwendungen der Infrarotspektroskopie spielt die Sensitivität des Spektrometers eine eher untergeordnete Rolle, da sich durch die Verlängerung der Messzeit die Qualität des resultierenden Spektrums sehr einfach verbessern lässt. Bei Routinemessungen lässt sich ein Spektrum normalerweise innerhalb von Sekunden messen, sodass eine Verdoppelung oder sogar eine Verzehnfachung der Messzeit in der Praxis gut umsetzbar ist. Wenn jedoch die Messzeit begrenzt ist – beispielsweise bei zeitaufgelösten Messungen – und sehr niedrige Konzentrationen (z.B. < 1 g/L Polymer) gemessen werden sollen, ist es unausweichlich das $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ zu beachten.

Überdies hinaus wird von den meisten Spektroskopikern das Rauschen in der spektralen Dimension betrachtet und nicht nach der eigentlichen Definition die Fluktuationen in der Zeit (vgl. dazu Kapitel 2.1). Die im folgenden gezeigten Rauschwerte wurden ausnahmslos in der Zeit-Dimension bestimmt. Dies entspricht dem chromatographischen Rauschen.

4.1.1. Detektoren

Es gibt zwei Arten von Detektoren, die in der MIR-Spektroskopie eingesetzt werden: pyroelektrische Detektoren und Quantendetektoren. Im *Vertex 70* FTIR-Spektrometer ist als Standarddetektor ein pyroelektrischer Detektor aus deuteriertem L-Alanin dotierten Triglycerinsulfat (DTGS) eingebaut. Dieser kann von 250 cm^{-1} bis $12\,000\text{ cm}^{-1}$ eingesetzt werden. Seine Anwendung wird jedoch durch eine geringe Sensitivität und ein langsames Ansprechverhalten eingeschränkt. Die spezifische Detektivität des Detektors wird vom Hersteller mit $D^* > 4 \times 10^8\text{ cm}\sqrt{\text{Hz}}/\text{W}$ angegeben und eine maximale Spiegelgeschwindigkeit von 10 kHz (bezogen auf die Frequenz des He-Ne-Referenzlasers) empfohlen.

Dem gegenüber besteht ein Quantendetektor z.B. aus einem Quecksilber-Cadmium-Tellurid-Halbleitermaterial (MCT, von engl. „mercury cadmium telluride“). Er hat eine Detektivität von $D^* > 2 \times 10^{10}\text{ cm}\sqrt{\text{Hz}}/\text{W}$ und einer Nutzbarkeit bis zu Spiegelgeschwindigkeiten von 160 kHz . Der Spektralbereich ist auf 600 cm^{-1} bis $12\,000\text{ cm}^{-1}$ eingeschränkt. Zudem muss das Detektorelement mit flüssigem Stickstoff auf -196 °C gekühlt werden. Der Verbrauch liegt bei etwa $0,5\text{ L}$ flüssigem Stickstoff für maximal 8 h Messzeit. In einem direkten Vergleich ergab sich für den MCT-Detektor eine Verbesserung im $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ um den Faktor 11, entsprechend wurde die Messzeit auf $\frac{1}{121}$ reduziert.^[47] Aus diesem Grund wurden alle zeitaufgelösten Messungen mit dem MCT-Detektor durchgeführt.

4.1.2. Strahlengang

Im *Vertex 70* Spektrometer ist ein Analog-Digital-Wandler (ADC) mit 24 bit verbaut. Bei vielen anderen Messgeräten werden 16 bit-ADCs eingesetzt, da diese in der Audiotechnik verwendet und daher in großen Stückzahlen hergestellt werden. Analog-Digital-Wandler mit 16 bit sind folglich kostengünstig. Aufgrund der hohen Dynamik eines Interferogramms ist in der FTIR-Spektroskopie allerdings ein besserer ADC nötig. Die 24 bit des im *Vertex 70* verbauten ADC entsprechen $2^{24} \approx 1,7 \times 10^7$ Intensitätsstufen, die theoretisch unterschieden werden können. Dieser dynamische Bereich sollte möglichst voll ausgenutzt werden. Dazu muss die maximale Lichtintensität, die auftreten kann, nahe am Limit des Detektors bzw. ADCs liegen. Im FTIR-Spektrometer kann die Intensität der Lichtquelle nicht verändert werden. Es stehen hier verschieden große Lochblenden zur Verfügung, mit denen ein Teil des Lichtstrahls geblockt werden kann. Dadurch lässt sich die Intensität lediglich in Stufen verringern. An weiteren Stellen im Strahlengang, der eine Länge von ca. 1 m hat, können weitere Verluste auftreten. Da Detektorelemente nur ca. 1 mm^2 bis 5 mm^2 groß sind, können schon geringfügige Abweichungen z.B. durch eine Winkeländerung eines der zahlreichen Spiegel zu Verlusten führen. Die Abmessungen von z.B. ATR-Kristallen können ebenfalls den IR-Strahl beschneiden und so die Intensität des Lichtstrahls schwächen. Derartige Verluste sind im standardmäßigen Gebrauch – wie oben bereits beschrieben – wenig störend. Für zeitaufgelöste Messungen ist jedoch eine sorgfältige und vollständige Überprüfung und Optimierung des Strahlengangs erforderlich. Im Falle des vorhandenen *Vertex 70* Spektrometers konnte das $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ um Faktor 4 verbessert werden, wodurch die Messzeit auf $\frac{1}{16}$ reduziert wurde.^[137]

4.1.3. Schnelle Spektrenaufnahme

Bei zeitaufgelösten Messungen ist es wünschenswert die Messzeit für ein einzelnes Spektrum oder einen Scan möglichst kurz zu halten. Einige Einstellungen am Spektrometer führen zu Totzeiten und sollten daher bei einer Kopplung mit GPC vermieden werden. Meistens handelt es sich lediglich um Sekundenbruchteile, die eingespart werden können, jedoch fällt deren Summe bei einer Gesamtmesszeit von bis zu ein oder zwei Stunden durchaus ins Gewicht.

Die Bewegungen des Spiegels sind zwar periodisch aber nicht kontinuierlich. Daher wird auch Zeit für das Bremsen und die Richtungsänderung der Bewegung benötigt. Eine optimale Abstimmung der Spiegelbewegung und der Datenaufnahme sind dann gewährleistet, wenn der Spiegel an der Endposition x_{\max} beginnt, über die Nullposition x_0 hinaus und bis $-x_{\max}$ fährt. Nach erfolgter Richtungsänderung können auf

4. Methodenentwicklung

dem Rückweg ebenfalls Datenpunkte gemessen werden. Somit werden in einem Zyklus vier Interferogramme bei minimaler Totzeit aufgezeichnet. In der Software von *Bruker*, *OPUS*, wird dieser Messmodus als „double-sided forward-backwards“ bezeichnet. Abweichende Einstellungen sind für andere Anforderungen sinnvoll, z.B. wenn eine Zeitauflösung am Limit des Spektrometers benötigt wird, d.h. wenn mehr als 20 Spektren (nicht Scans) pro Sekunde aufgenommen werden sollen.

Auch die Kommunikation mit dem Computer kann Totzeiten verursachen. Der PC erfüllt zwei Aufgaben: Zum einen steuert er das Spektrometer und zum anderen nimmt die Messdaten auf und verarbeitet sie. Um Datenverluste zu vermeiden wird eine neue Messung normalerweise erst gestartet, wenn die Daten des vorausgehenden Spektrums aufgezeichnet und verarbeitet sind. Um das Spektrometer dauerhaft im Messmodus zu betreiben muss die Ansteuerungssoftware geändert werden. Für das *Bruker*-Spektrometer steht hierfür ein zusätzliches Software-Modul mit dem Namen „Rapid Scan“ zur Verfügung, welches zuerst alle Daten misst und erst anschließend verarbeitet. Diese Option erlaubt zusätzlich Spektren in höherer Frequenz zu messen (bis zu 58 Spektren pro Sekunde). Misst man mehr Spektren und addiert oder mittelt diese so verbessert sich im Allgemeinen das S/N . Es zeigte sich jedoch, dass durch das schnellere Messen mit Spiegelgeschwindigkeiten von 160 kHz auch das Rauschen stark zunimmt und den Gewinn durch mehr Scans überkompensiert. Das beste $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ wurde bei Spiegelgeschwindigkeiten von 20 kHz und 40 kHz erreicht.^[137] Die Ursache dafür liegt im ADC und in den digitalen Filtern, die bei niedrigeren Messfrequenzen rauschärmer arbeiten. Das Rauschen kann weiterhin minimiert werden, indem die Daten, die der ADC verarbeiten muss, reduziert werden. Dies kann durch die Begrenzung der Breite des Spektrums realisiert werden, was in der Fourier-Technik einer Reduktion der Datenpunktdichte im Interferogramm entspricht. Hierbei wird die obere Grenzfrequenz, die *Nyquist*-Frequenz,^[138] herabgesetzt, wobei jedoch Rückfaltungen von Signalen auftreten können (für eine Erklärung s. [59–61]). Die Datenpunkte werden in der FTIR stets an Nulldurchgängen des interferierten Signals des HeNe-Referenzlasers aufgenommen. Daher muss dessen Frequenz oder Wellenzahl immer ein ganzzahliges Vielfaches der Grenzfrequenz oder Grenzwellenzahl sein. Als Kompromiss zwischen spektraler Breite und Reduktion der Daten wurde die Grenze auf ca. 5200 cm^{-1} gesetzt. Oberhalb dieser Grenze sind auf Grund der ATR-Technik und der Charakteristik der Globar-Lichtquelle keine oder nur sehr schwache Signale zu erwarten.

Eine Messzeitverkürzung lässt sich ebenfalls durch eine Reduzierung der Auflösung erreichen, da sich in diesem Fall der Spiegelweg verkürzt. Für Flüssigkeiten sind immer breite Peaks zu erwarten (vgl. Kap. 2.3.2), weshalb die Auflösung für die

4. Methodenentwicklung

Kopplung auf 4 cm^{-1} gesetzt wurde. Wenn spätere Anwendungen eine geringere Auflösung erfordern kann diese weiter reduziert werden.

Durch Optimierung der Parameter zur schnellen Spektrenaufnahme konnte eine Verbesserung im S/N um Faktor 6 erreicht werden. Dies entspricht einer Verkürzung der Messzeit auf $\frac{1}{36}$ bei gleichbleibender Sensitivität.^[47]

4.1.4. Apodisierung

In [47] wurde bereits der Einfluss der in der Infrarotspektroskopie üblichen und in der Spektrometer-Software bereits implementierten Apodisierungsfunktionen auf das $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ untersucht. Für die beiden besten Funktionen wurde eine Verbesserung im $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ um Faktor 1,84 für *Blackman-Harris-4*-Term (Gl. 4.3) und eine Verbesserung im $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ um Faktor 1,74 für *Blackman-Harris-3*-Term (Gl. 4.2) gefunden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden weitere Funktionen, die in auch in der NMR-Spektroskopie verwendet werden, auf ihre Eignung bei der GPC-FTIR-Kopplung untersucht. Es wurden zeitaufgelöst gemessene Interferogramme vor der FT mit verschiedenen Apodisierungsfunktionen gefaltet und das resultierende $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ verglichen. Dabei wurde das Rauschen definitionskonform in Zeitrichtung (d.h. zwischen den einzelnen Extinktionsspektren) bestimmt. Bei einer systematischen Untersuchung von *Gauß*-Funktionen unterschiedlicher Breite wurde ein Optimum gefunden, dessen Form mit der einer Funktion nach *Blackman* und *Harris* vergleichbar war, jedoch ein schlechteres $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ aufwies. Auch mit sog. *Trafficante*-Funktionen^[139,140] wurde ebenfalls kein besseres $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ erzielt. Darin ist Z die Anzahl der Datenpunkte und T ein Parameter für die Breite (in der NMR-Spektroskopie entspricht er der T_2 -Zeit.):

$$f_{\text{TRAF}}(z) = \frac{\exp\left(\frac{-z}{T}\right)}{\left[\exp\left(\frac{-z}{T}\right)\right]^2 + \left[\exp\left(\frac{z-Z}{T}\right)\right]^2} \quad (4.1)$$

Da der Unterschied zwischen der besten Apodisierungsfunktion (*Blackman-Harris-4*-Term) und der schlechtesten (keine bzw. Boxcar) nur einen Faktor 1,84 beträgt, ist für weitere Funktionen im Vergleich zur *Blackman-Harris*-Funktion kein allzu großer Gewinn mehr zu erwarten. Dies deckt sich auch mit Vergleichen verschiedener Apodisierungsfunktionen in der Literatur, z.B. [141]. Folglich wurde hier nicht weiter nach besseren Apodisierungsfunktionen gesucht und es werden weiterhin die beiden *Blackman-Harris*-Funktionen genutzt. Sie werden mit der Anzahl Z der Datenpunkte wie folgt berechnet:^[142]

$$f_{\text{BH3}}(z) = 0,423\,23 - 0,497\,55 \cos \frac{2\pi z}{Z} + 0,079\,22 \cos \frac{4\pi z}{Z} \quad (4.2)$$

4. Methodenentwicklung

$$f_{\text{BH4}}(z) = 0,358\,75 - 0,488\,29 \cos \frac{2\pi z}{Z} + 0,141\,28 \cos \frac{4\pi z}{Z} + 0,011\,68 \cos \frac{6\pi z}{Z} \quad (4.3)$$

Abbildung 4.2 zeigt ein Beispielinterferogramm zusammen mit der zugehörigen *Blackman-Harris-4-Term-Funktion* um den Vorgang der Apodisierung zu illustrieren. Die Auswirkungen auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis werden an dem ebenfalls gezeigten Ausschnitt eines Polystyrolspektrums deutlich. Ohne Apodisierung – d.h. mit einer Rechteck-Apodisierungsfunktion – ist das S/N sichtbar schlechter. Die *Blackman-Harris-4-Term-Funktion* liefert hingegen ein rauscharmes Spektrum.

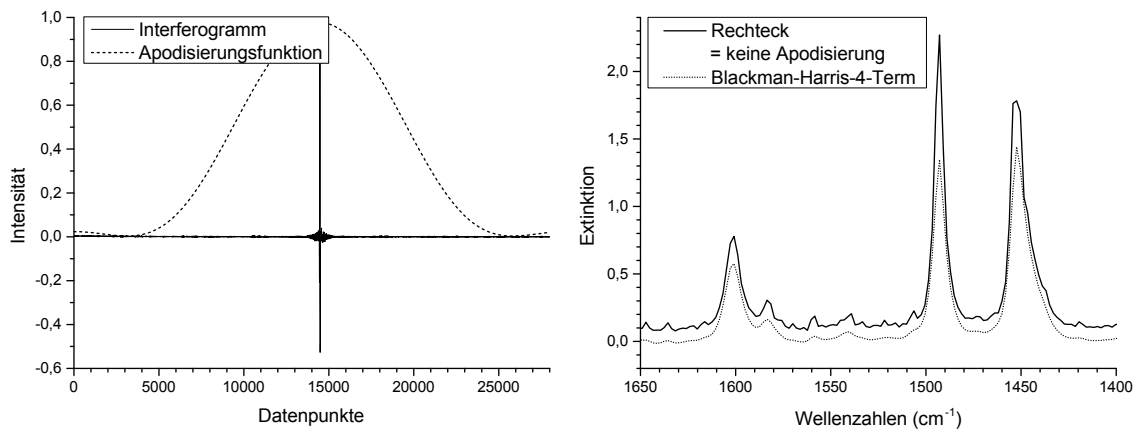


Abbildung 4.2.: Ein Beispielinterferogramm und eine *Blackman-Harris-4-Term-Funktion*, verdeutlichen die Apodisierung (links). Auf der rechten Seite ist an Peaks von Polystyrol (Transmissionsmessung einer Folie) die Auswirkung auf das S/N im Vergleich zu einer Rechtecksfunktion (entspricht keiner Apodisierung) gezeigt.

4.2. Entwicklung von Flusszellen für die GPC-IR-Kopplung

Eine Flusszelle für die Kopplung von Chromatographie und Spektroskopie muss mehrere Anforderungen erfüllen. Zunächst sollte sie das S/N des Spektrometers nicht verringern, d.h. Messungen mit ausreichender Sensitivität müssen möglich sein. Der Zellaufbau kann unter bestimmten Bedingungen die Sensitivität einschränken. Insensitive Messmethoden, wie z.B. diffuse Reflexion, scheidet daher aus und in dieser Arbeit wurden nur Zellen mit ATR- oder Transmissionstechnik genutzt. Um für chromatographische Zwecke genutzt werden zu können muss die Zelle für Durchflussanwendungen geeignet sein; die meisten kommerziellen IR-Zellen sind explizit nicht darauf ausgelegt. Weiterhin muss das Zellvolumen möglichst klein sein, um nicht unnötig zur Bandenverbreiterung (s. Kap. 2.2.3) beizutragen. Passende Anschlüsse, die

4. Methodenentwicklung

nur wenig Verwirbelungen verursachen sind wünschenswert. In der Chromatographie existieren hier verschiedene Standards, von denen sog. 10-32-Verbindungen für Hochdruckverbindungen am weitesten verbreitet sind. Für Niederdruckverbindungen, wie sie z.B. nach der Säule benötigt werden können alternativ sog. 1/4"-28-Anschlüsse oder M6-Verbindungen genutzt werden. Die selbstgebauten Zellen wurden auf die von ihnen verursachte Bandenverbreiterung hin untersucht (s. Kap. 4.2.4). Zuletzt muss die Zelle gegen möglichst viele Lösungsmittel stabil sein. Dabei ist die Verwendung von sowohl Wasser als auch organischen Lösemitteln eine besondere Herausforderung. Viele IR-transparente Materialien wie z.B. NaCl oder KBr, die als Fenster genutzt werden könnten sind sehr gut wasserlöslich. Hier müssen zum Teil Einschränkungen im durchlässigen Spektralbereich hingenommen werden. Auf der anderen Seite sind viele Dichtungsmaterialien und Klebstoffe nicht beständig gegen z.B. das Standard-GPC-Lösungsmittel THF.

Kommerziell sind Zellen, die alle Anforderungen erfüllen, nicht verfügbar. Dabei ist zu beachten, dass Infrarotmessungen in Lösung eher selten durchgeführt werden, da die Lösungsmittelsignale die Spektreninterpretation stören. Im Bereich der Biomoleküle, z.B. Proteine, gibt es Substanzen, die sich nur in wässriger Lösung sinnvoll untersuchen lassen. Daher existiert ein Markt für entsprechende Zellen, die aber nur für Wasser und nicht für organische Lösemittel genutzt werden können. Daher mussten die Zellen für die Kopplung neu konstruiert werden. Dabei wurde immer von einer kommerziellen Zelle ausgegangen, deren Volumen durch Um- und Nachbau von einzelnen Bauteilen oder einer kompletten, abgeänderten Nachbildung auf das nötige Maß reduziert wurde. Technische Zeichnungen, nach denen alle Zellen komplett gefertigt werden können, finden sich im Anhang (s. S. 123).

4.2.1. ATR mit einer Reflexion

In der Diplomarbeit^[47] wurden zwei ATR-Flusszellen mit einer Reflexion realisiert, von denen die als besser bewertete in Abb. 4.3 gezeigt ist. Sie hat ein sehr kleines geschätztes Innenvolumen von nur 10 μL , wurde aus Teflon gefertigt und so gestaltet, dass sie mit einem Schraubring auf eine ATR-Einheit vom Typ *MIRacle* der Firma *Pike Technologies* (Madison, WI, USA) gepresst werden kann. Diese hat einen in Edelstahl eingelassenen Diamanten als Messkristall. Die Flusszelle ist damit inert gegenüber allen Lösungsmitteln. Da im Diamanten nur eine Reflexion des Infrarotstrahls stattfindet, ist die Sensitivität mit dieser Zelle nicht ausreichend für eine Kopplung mit der GPC. Sie kann daher nur mit überladenen Säulen verwendet werden. Die technische Zeichnung, nach der die Messzelle gefertigt wurde, ist im Anhang abgedruckt (s. S. 124). Dort findet sich auch ein Foto (s. S. 121).

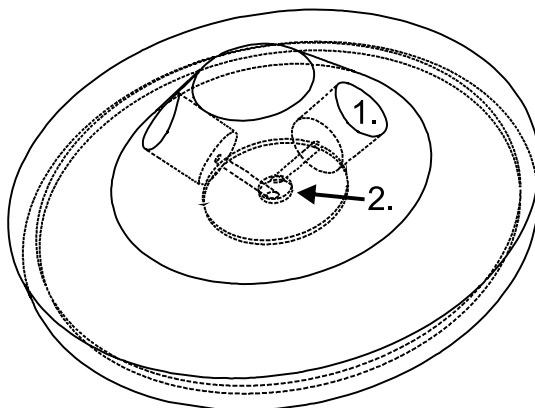


Abbildung 4.3.: Zeichnung der in der Diplomarbeit^[47] konstruierten Flusszelle für eine Diamant-ATR-Einheit (*Pike, MIRacle*) mit einer Reflexion: 1. 1/4"-28-Anschluss für die Verbindung zur GPC; 2. Messzelle mit ca. 10 µL Innenvolumen. Im Anhang finden sich ein Foto der Zelle (s. S. 121) und eine detaillierte technische Zeichnung (s. S. 124).

4.2.2. ATR mit mehreren Reflexionen

Während der Promotion wurden mehrere Flusszellen auf Basis einer ATR-Einheit von *Specac* (Slough, England) Namens *Gateway* realisiert. Diese Flusszelle nutzt einen ATR-Kristall aus ZnSe mit den Dimensionen 7,14 cm × 1 cm × 0,6 cm und sie hat daher im Auslieferungszustand ein großes Innenvolumen von 500 µL. Durch Neukonstruktion der Deckplatte wurde die Zelle im ersten Schritt mit GPC-tauglichen 1/4"-28-Anschlüssen ausgestattet, die über kurze kommerzielle Edelstahladapter auch mit 10-32-Verbindungen genutzt werden können. Dadurch wurde das Totvolumen durch zu große, unpassende Schlauchverbindungen eliminiert.

In einem zweiten Schritt wurde durch die Verwendung von neuen Dichtungen, die das eigentliche Zellvolumen bestimmen, selbiges reduziert. Diese Dichtungen müssen organischen Lösemitteln standhalten und in einer möglichst geringen Dicke verfügbar sein. Zusätzlich mussten sie elastisch sein, damit kein Lösemittel austreten konnte und gleichzeitig die mechanische Belastung auf den bruchempfindlichen ZnSe-Kristall minimiert wurde. Nur perfluorierte Elastomere (DIN-Kurzzeichen: FFKM; Markennamen: *Kalrez*, *ISOLAST* oder *Chemraz*) kamen nach einer Analyse der verfügbaren Materialien in Betracht. Diese waren nicht in beliebiger Dicke verfügbar. Zunächst konnte ein Hersteller für eine FFKM-Platte mit einer Dicke von 0,5 mm gefunden werden. Mit einer aus dieser Platte geschnittenen Dichtung konnte das Zellvolumen auf ca. 250 µL verringert werden. Die Form der Dichtung wurde so gestaltet, dass möglichst wenige Ecken oder Kanten den Fluss verwirbeln. Als Spezialanfertigung wurde später eine FFKM-Platte mit nur 0,3 mm in Auftrag gegeben, mit der sich das Volumen auf ca. 170 µL reduzierte.

4. Methodenentwicklung

Alle Bauteile der Zelle wurden für die verkleinerten Versionen leicht abgeändert nachgebaut, sodass drei Zellen aufgebaut und verglichen wurden. In Abbildung 4.4 ist der Aufbau als Explosionszeichnung dargestellt, die technischen Zeichnungen (s. S. 131) und Fotos (s. S. 121) finden sich im Anhang. Die Leistungsfähigkeit der Zellen wurde untersucht und verglichen, die Ergebnisse sind in Kapitel 4.2.4 dargestellt.

4.2.3. Transmissionszelle

Das Design einer Transmissionszelle gestaltete sich schwieriger als bei den ATR-Zellen. In Transmission kann das Licht eines Standard-FTIR-Spektrometers übliche Lösemittel nur bis zu einer Dicke von ca. 10 μm bis ca. 20 μm durchdringen. Bei dickeren Schichten tritt zumindest in einigen Wellenzahlbereichen Totalabsorption auf. Diese dünne Schicht muss zwischen zwei Fenstern aus IR-transparentem Material realisiert werden. Das sind kristalline Materialien, die relativ brüchig sind, sodass der Druck in der Zelle ein Problem darstellt. Da diese z.T. wasserlöslich sind oder einen eingeschränkten Spektralbereich haben, sollten die Fenster austauschbar sein, damit sie entsprechend der Anwendung gewählt werden können. Die innere Geometrie der Zelle und vor allem die Zuführung müssen so gestaltet werden, dass keine Vermischungen oder Verwirbelungen im Flussprofil entstehen. Käufliche Zellen haben häufig Bohrungen in den Fenstern durch die die Probelösung zugeführt wird. Hier wurde ein Design von *Harrick Scientific* (Pleasantville, NY, USA) mit seitlicher Zuführung der Lösung als Vorlage zur Gestaltung der Transmissionszelle benutzt.

Die Transmissionszelle ist in Abb. 4.5 schematisch dargestellt. Sie besteht im Kern aus zwei Kristallfenstern ($\varnothing \times d = 13 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$), die von dünnen PTFE- oder PET-Folien auf Abstand gehalten werden. Für die Abstandshalter sind Dicken von 6 μm , 12 μm , 25 μm , 56 μm , 100 μm , 150 μm und 250 μm verfügbar, sowie dickere Folien, die aber nicht verwendet wurden. Die Kristallfenster werden in einer 13 mm-Bohrung der Edelstahlbasis zusammengepresst, wobei zwei O-Ringe aus FFKM als Dichtung genutzt werden. Der Eluentenstrom aus der GPC wird seitlich zugeführt und fließt durch Aussparungen im Abstandshalter in die Zelle. Die Anschlüsse sind GPC-tauglich als 1/4"-28-Verbindungen ausgeführt. Damit erreicht die Zelle bei einer Schichtdicke von 12 μm ein Totvolumen von ca. 10 μL . Genaue technische Zeichnungen (s. S. 124), nach denen die Stahlteile der Zelle gefertigt wurden, sowie ein Foto (s. S. 121) finden sich im Anhang.

Die Transmissionszelle hat einige technische Eigenheiten, die zu Problemen führten. Die ATR-Zellen werden als robuster und einfacher in der Anwendung betrachtet. Der Durchmesser der Kristallfenster für die Transmissionszelle hat herstellungs- und

4. Methodenentwicklung

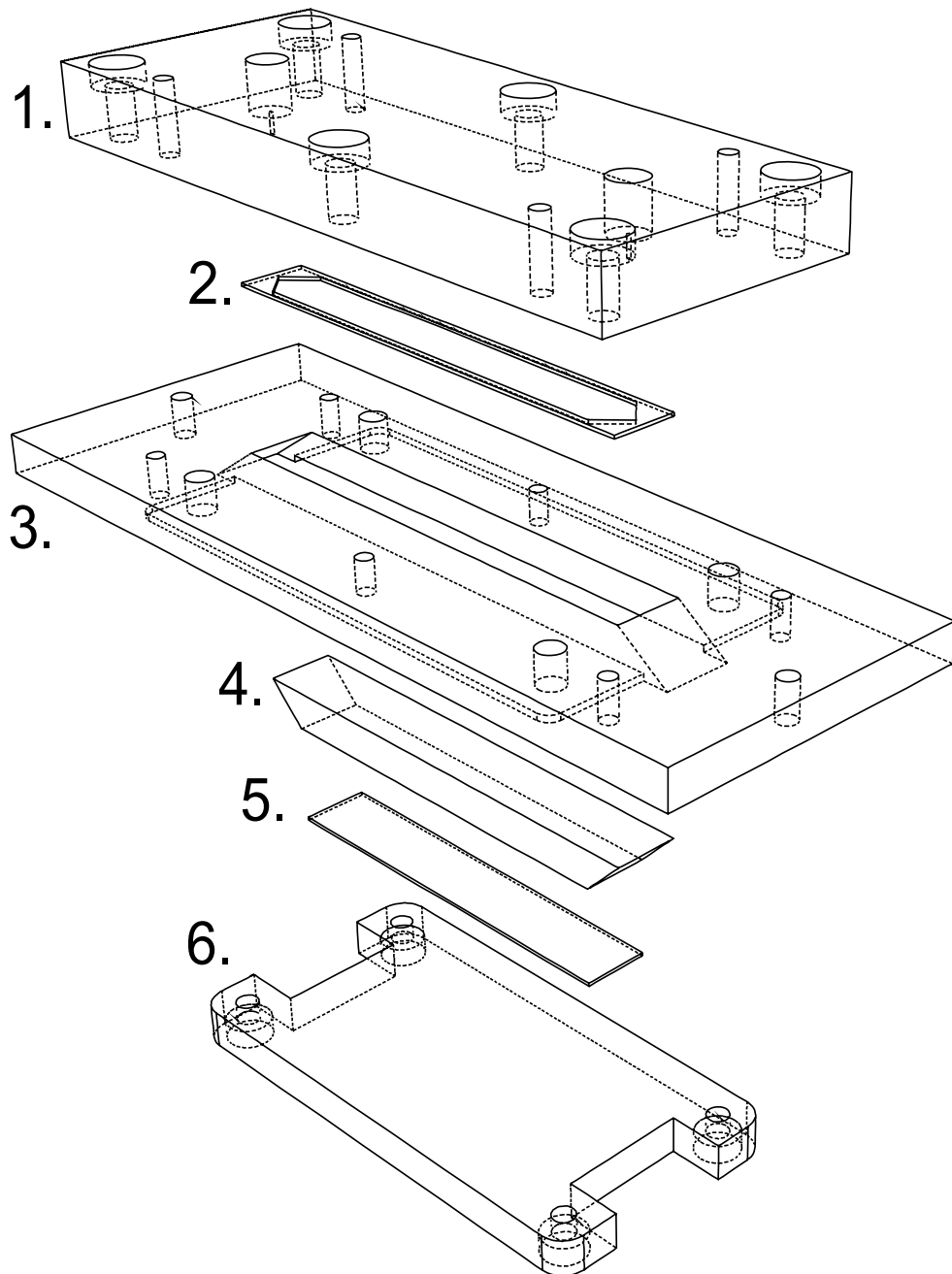


Abbildung 4.4.: Explosionszeichnung der während der Promotion konstruierten ATR-Zellen. Von oben nach unten sind folgende Bauteile zu sehen: 1. Deckplatte aus Edelstahl mit GPC-tauglichen 1/4"-28-Anschlüssen; 2. FFKM-Dichtung in unterschiedlicher Dicke und mit auf Durchfluss angepasster Form; 3. Trägerplatte aus Aluminium; 4. ATR-Kristall aus ZnSe für sechs Reflexionen; 5. Dichtung aus FFKM; 6. Druckplatte, die alle Teile zusammenhält, Verbindungsschrauben sind nicht dargestellt. Für detaillierte technische Zeichnungen (S. 131) und Fotos (S. 121) siehe Anhang.

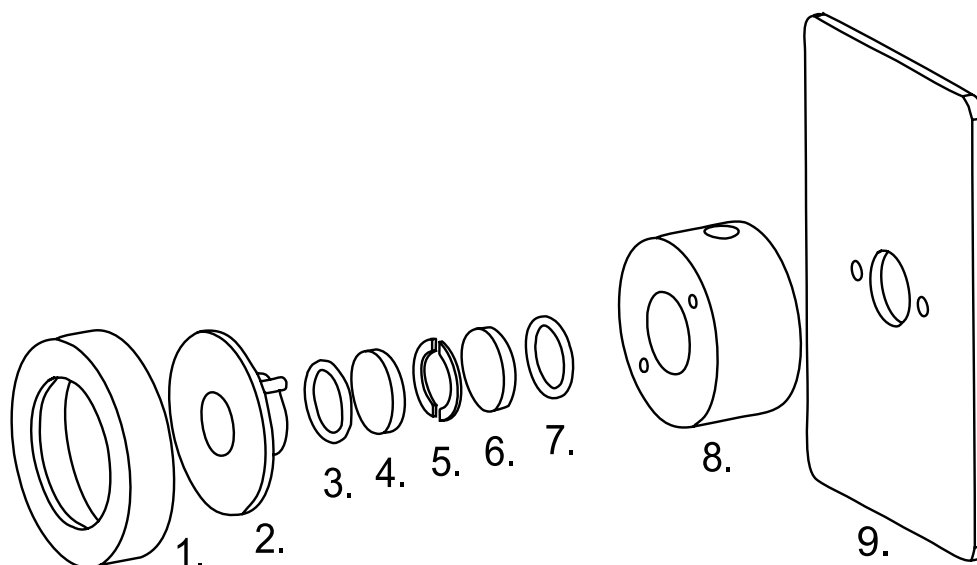


Abbildung 4.5.: Explosionszeichnung der im Rahmen der Promotion konstruierten Transmissionszelle (vereinfachte Darstellung). Von links nach rechts sind folgende Bauteile zu sehen: 1. Schraubring, der alle Teile bis zur Basis zusammendrückt; 2. Führung; 3. FFKM O-Ring; 4. Kristallfenster aus z.B. ZnSe, KBr oder CaF₂; 5. Abstandshalter aus PTFE ($d = 6\ \mu\text{m}$, $d = 12\ \mu\text{m}$ oder $d = 25\ \mu\text{m}$); 6. Kristallfenster; 7. FFKM O-Ring; 8. Basis mit Bohrung, in der alle Teile zusammen gehalten werden, und seitlicher Zuführung mit GPC-tauglichen 1/4"-28-Anschlüssen; 9. Grundplatte zur Befestigung im Spektrometer. Für detaillierte technische Zeichnungen siehe Anhang (S. 125).

materialbedingt eine größere Toleranz als die Bohrung im Edelstahl. Das kann bei Abweichungen nach oben durch Verkanten oder Verklemmen zum Bruch der Fenster führen oder bei Abweichungen nach unten zu ungewollten Hohlräumen. Diese Hohlräume können für das Lösungsmittel einen alternativen Weg durch die Zelle ermöglichen, der sogar breiter als die vorgesehenen $6\ \mu\text{m}$ oder $12\ \mu\text{m}$ zwischen den Fenstern sein kann und dann ggf. bevorzugt wird.

Ein zweites Problem besteht in den sehr kleinen Dimensionen. Berechnet man die theoretische Geschwindigkeit des Lösungsmittels zwischen den beiden Kristallfenstern, so ist der Fluss fast 20fach schneller als in den dünnen GPC-Kapillaren. Für einen Volumenstrom von $1\ \text{mL}/\text{min}$ wurde zudem die Scherrate in der Zelle auf $5\ \text{s}^{-1}$ abgeschätzt und mit Scherraten, die in GPC-Säulen mit Werten von ca. $1000\ \text{s}^{-1}$ auftreten, verglichen.^[143] Degradation des Polymers durch Scherung tritt erst auf, wenn die Größe des Polymers etwa der Größe der Partikelzwischenräume entspricht.^[144] Die dünne Schichtdicke in der Transmissionszelle verursachte bei Flussraten von $1\ \text{mL}/\text{min}$ einen so hohen Rückdruck, dass Leckagen auftraten. Die Flusszelle kann daher nur mit niedrigen Flussraten ($< \text{ca. } 0,1\ \text{mL}/\text{min}$) betrieben werden. Soll die GPC mit höheren Flussraten genutzt werden, so muss der Eluentenstrom vor der

4. Methodenentwicklung

FTIR-Detektion z.B. im Verhältnis 90:10 geteilt werden. Ein solcher sog. Split wird in der GPC normalerweise vermieden, da bereits kleine Veränderungen oder Verunreinigungen das Teilungsverhältnis ändern können, wodurch sich die Ankunftszeit eines Polymerpeaks im Detektor verändert und damit falsche Molmassen erhalten werden.

Es existiert nur eine sehr kleine Auswahl an Fenstermaterialien für die Infrarotspektroskopie. Nach den in der Literatur genannten Eigenschaften wurden für die Transmissionszelle Fenster aus ZnSe, KBr und CaF₂ als die sinnvollsten ausgewählt. Jedes hat dennoch eigene Nachteile. CaF₂ ist wasserunlöslich und mechanisch recht stabil, daher ist es gut als Fenstermaterial geeignet. Der Nachteil ist der nutzbare Spektralbereich, der erst bei 1100 cm⁻¹ beginnt. KBr ist sehr gut wasserlöslich, daher kann es nur mit organischen Lösemitteln verwendet werden. Im normalen GPC-Betrieb ist das Lösungsmittel mehrere Tage in Verwendung und wird immer im Kreis durch die Anlage gepumpt. Dabei sammelt sich im THF ein gewisser Anteil an Wasser aus der Luftfeuchtigkeit an. Dieser kann die KBr-Fenster angreifen. Für einen dauerhaften Einsatz ist KBr daher ungeeignet. Kaliumbromid ist auch das mechanisch instabilste der drei Materialien. Das letzte Material, ZnSe, hat sich ebenfalls als untauglich erwiesen. Zwar ist ZnSe mechanisch und chemisch das beständigste der drei Materialien, jedoch ist sein hoher Brechungsindex von Nachteil. Durch den hohen Brechungsindex und den damit verbundenen größeren Brechungsindexunterschied zum Lösungsmittel entstehen an den parallelen Fenstern Reflexionen, die mit dem Hauptlichtstrahl zu Interferenzeffekten führen. Dieses Phänomen ist in der FTIR-Spektroskopie als „Fringes“ bekannt und wird z.B. zur Bestimmung der Schichtdicke von Küvetten genutzt.^[50] Der ungewöhnlich nahe Abstand der Fenster (6 µm bis 12 µm) führt zu besonders starken Fringes. Zuerst wurde über eine mathematische Korrektur der Fringes nachgedacht. Da sich mit dem Eluieren eines Polymerpeaks aber der Brechungsindex der Lösung (Prinzip des Brechungsindexdetektors) und damit die Fringes verändern, wurde diese Idee als zu aufwändig verworfen. Zusammenfassend bleibt nur CaF₂ als sinnvoll nutzbares Fenstermaterial, mit eingeschränktem Spektralbereich.

Als letztes Problem kann sich durch Druckschwankungen die Schichtdicke ändern. Da sich damit vor allem die Intensität der Lösungsmittelsignale ändert, lassen sich diese nicht mehr vollständig mathematisch unterdrücken, es tritt sehr starkes Rauschen auf.

Bei der Verwendung der Zelle im FTIR Spektrometer traten die oben beschriebenen Probleme so regelmäßig auf, dass kein konstanter Betrieb möglich war. Für die Kopplung mit FTIR wurden daher ausschließlich die ATR-Zellen genutzt. Für

die Verwendung im QCL-Spektrometer ist die Flusszelle jedoch gut geeignet. Der Spektralbereich des Lasers (1090 cm^{-1} bis 1390 cm^{-1}) passt sehr gut zur Transparenz von CaF_2 . Durch die höhere Lichtintensität können wesentlich dickere Schichten durchdrungen werden. Daher wurde die Zelle im QCL-Spektrometer mit Abstandshaltern von $100\text{ }\mu\text{m}$ oder $150\text{ }\mu\text{m}$ verwendet. Die oben beschriebenen Probleme der Druckschwankungen und Leckagen konnten so vermieden werden.

4.2.4. Vergleich der selbst gebauten Zellen

Neben den oben bereits beschriebenen Besonderheiten der Zellen müssen zum Vergleich der Zellen drei weitere Eigenschaften untersucht werden, die sich quantifizieren lassen: Sensitivität, Volumen sowie Bandenverbreiterung.

Für die gekoppelte Messung selbst ist vor allem die Sensitivität im FTIR-Signals relevant. Durch unterschiedliche Strahlführungen und ATR-Materialien ergeben sich unterschiedliche S/N -Werte für die verschiedenen Zellen. Da diese von der Wellenzahl abhängig sind, lässt sich dies nicht auf einen einzelnen Wert zusammenfassen und muss in einer Art Spektrum betrachtet werden. Dies soll am Beispiel einer Polystyrolmessung für den Vergleich zwischen der ATR Zelle mit einer Reflexion und der kleinsten Zelle mit sechs Reflexionen gezeigt werden.

Die Sensitivität hängt auch von der Geometrie der Zelle ab. Ist das innere Volumen größer, wird auch ein größeres Volumen des Eluentenstroms gleichzeitig gemessen. Ein Datenpunkt oder Spektrum ist hierbei immer ein Mittelwert über den gesamten Zelleninhalt. Ist die IR-Zelle im Extremfall viel größer als der eluierende Peak aus der Chromatographie, so wird dessen Signal mit viel Lösungsmittelsignal gemittelt, wodurch sich dessen Intensität verringert. Der Peak wird dabei auch breiter. Mathematisch betrachtet entspricht dies einer Faltung des Chromatogramms mit einer Funktion, die die Zellgeometrie (vor allem die Größe) repräsentiert. Als zweiter Vergleichswert kann daher die in der Zelle beobachtete Bandenverbreiterung bestimmt werden.^[145]

Zuletzt sollte noch die durch die Zelle verursachte tatsächliche Bandenverbreiterung bestimmt werden. In der Zelle findet auch eine Durchmischung statt, wodurch sich die Peakform ebenfalls verbreitert. Dies ist für die nachfolgenden Detektoren wichtig und wird z.B. an Hand der Peakbreite im DRI-Signal bei nachgeschaltetem Detektor bestimmt.^[145]

Vergleich Sensitivität

Theoretisch verbessert sich die Sensitivität bei mehr ATR-Reflexionen in etwa linear mit deren Anzahl. In der Praxis spielen noch weitere Effekte eine Rolle. Für den Vergleich der einfach-ATR-Zelle mit der 6-fach-ATR-Zelle (in diesem Abschnitt ausschließlich die 170 μL -Variante) ist dies die spektrale Charakteristik des Kristallmaterials, da sich Diamant und ZnSe unterscheiden. Außerdem ist die äußere Geometrie sehr unterschiedlich, sodass der IR-Strahl des Spektrometers zum Teil durch die Grenzen des Kristalls beschnitten wird.

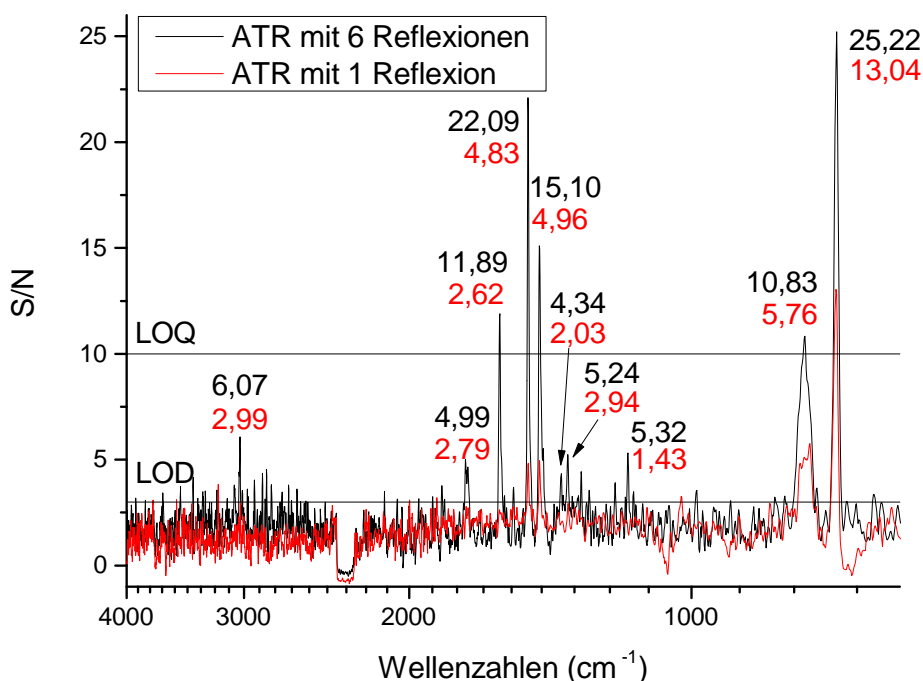


Abbildung 4.6.: Vergleich der S/N -Werte für die ATR-Zelle mit einer und die mit sechs Reflexionen mit 170 μL . Dazu wurde eine Polystyrolprobe in THF unter identischen Bedingungen getrennt (semipräparative linear S Säule, Flussrate 1 mL/min, injizierte Masse: 1 mg, $M_w(\text{PS}) = 12,5 \text{ kg/mol}$). Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis wurde aus dem Peakmaximum in chromatographischer Richtung und der Standardabweichung (ebenfalls in chrom. Richtung) in einem Bereich der Referenzdaten bestimmt. Mit sechs Reflexionen werden wellenzahlabhängig 2- bis 4,5-fach bessere Werte erhalten. Die S/N -Werte für die Peakmaxima des Polystyrols sind zum besseren Vergleich für beide Zellen eingetragen.

Um die Sensitivität vergleichen zu können wurde eine GPC-Trennung von ca. 1 mg einer PS-Probe ($M_w = 12,5 \text{ kg/mol}$, $PDI = 1,02$) in THF bei einer Flussrate von 1 mL/min auf einer semipräparativen (20 mm \times 300 mm) linear S Säule durchgeführt. Dabei wurden zuerst mit der 1ATR-Zelle FTIR-Spektren aufgezeichnet, anschließend wurde das Experiment identisch wiederholt und die FTIR-Spektren

4. Methodenentwicklung

mit der 6ATR-Zelle gemessen. Aus diesen Messungen wurde für jede Frequenz das S/N berechnet und in Abb. 4.6 gegen die Wellenzahl aufgetragen. Dazu wurde das Rauschen zu Beginn des Chromatogramms als Standardabweichung über 95 Datenpunkte nach der Lösungsmittelunterdrückung berechnet. Als Signalwerte wurden der jeweils größte Wert im Bereich zwischen 47,5 mL und 52,5 mL gewählt. Damit ergeben sich in Frequenzbereichen ohne Absorptionen des Polymers S/N -Werte zwischen 0 und ca. 3, also unterhalb der Nachweisgrenze (LOD, s. Kap. 2.1). Der Bereich mit CO_2 -Absorptionen (ca. 2275 cm^{-1} bis 2400 cm^{-1}) weicht durch besonders hohe Rauschwerte und möglicher negativer Signalwerte ab und wird nicht ausgewertet (vgl. 4.3.4). Während für die 1ATR-Zelle nur ein Peak das Quantifizierungslimit (LOQ) überschreitet, sind mit der 6ATR-Zelle fünf Peaks quantifizierbar. Für nachweisbare Polymersignale wurden die S/N -Werte für beide Zellen zum besseren Vergleich eingetragen. Berechnet man das Verhältnis zwischen den Ergebnissen, so erhält man Werte zwischen 2 und 4,5. Da die Messzeit bei beiden Messungen identisch war, entsprechen diese Werte der $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ -Verbesserung.

Vergleich der Bandenverbreiterung

Die im FTIR-Spektrometer beobachtete Bandenverbreiterung wird bestimmt, indem man eine identische Messung mit den verschiedenen Flusszellen durchführt. Die drei unterschiedlich großen ATR-Zellen mit sechs Reflexionen wurden in einer GPC-Messung mit 0,55 mg einer PS-Probe ($M_w = 193\text{ kg/mol}$, $PDI = 1,03$) in THF bei 1 mL/min auf einer semipräparativen ($20\text{ mm} \times 300\text{ mm}$) linear M Säule verglichen. Abb. 4.7 zeigt die Chromatogramme bei 700 cm^{-1} für die drei ATR-Zellen. Bei den kleineren Zellen eluiert der Peak wegen des kleineren Volumens früher und die Peaks werden schmaler. Mittels einer *Gauß*-Anpassung wurden die Peakhöhe und die Breite bestimmt, die relativ zur 500 μL -Zelle in Tabelle 4.1 aufgetragen sind.

Zellenvolumen	500 μL	250 μL	170 μL
rel. Peakbreite	100 %	85 %	79 %
rel. Peakhöhe	100 %	126 %	139 %

Tabelle 4.1.: Die relativen Peakbreiten und Peakhöhen der ATR-Flusszellen wurden durch eine *Gauß*-Anpassung an die Chromatogramme aus dem TIMO-Detektor bei 700 cm^{-1} erhalten. Vgl. Abb. 4.7. GPC-Parameter: 0,55 mg PS ($M_w = 193\text{ kg/mol}$, $PDI = 1,03$) in THF bei 1 mL/min auf einer semipräparativen ($20\text{ mm} \times 300\text{ mm}$) linear M Säule.

Die tatsächliche Peakverbreiterung kann ebenfalls gut durch eine *Gauß*-Anpassung quantifiziert werden. Diese erfolgte in den DRI-Chromatogrammen der selben Messung, die in Abb. 4.8 aufgetragen sind. Zusätzlich ist eine Messung ohne Fluss-

4. Methodenentwicklung

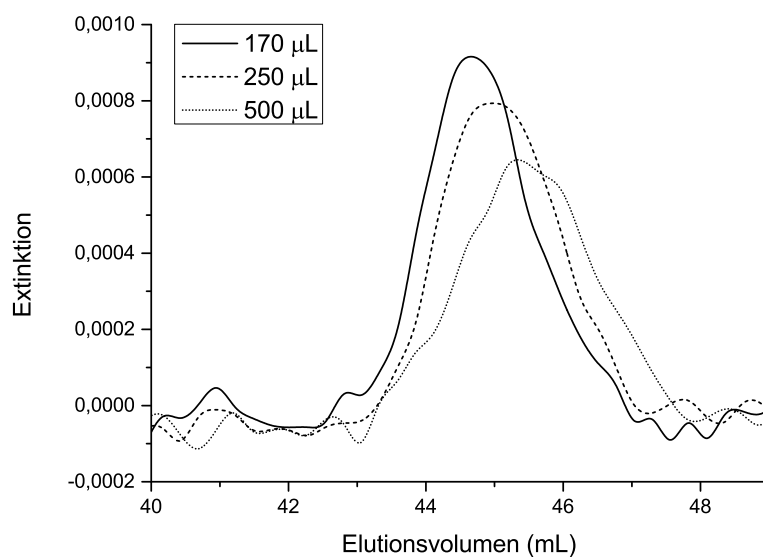


Abbildung 4.7.: Die Größe des Zellvolumens führt zu einer im Infrarotsignal observierten Peakverbreiterung, die im tatsächlichen Lösungsmittelstrom so nicht vorhanden sein muss (vgl. Abb. 4.8 und Text). In den gezeigten Chromatogrammen einer PS-Probe bei 700 cm^{-1} aus dem TIMO-Detektor ist dies deutlich zu erkennen. GPC-Parameter: 0,55 mg PS ($M_w = 193\text{ kg/mol}$, $PDI = 1,03$) in THF bei 1 mL/min auf einer semipräparativen ($20\text{ mm} \times 300\text{ mm}$) linear M Säule.

zelle ergänzt worden, die als Referenz bzw. Nullpunkt dient (s. Tab. 4.2). Die Zellen verbreiterten den Peak auf 116 % bis 125 %, wodurch die Signalintensität zwischen 10 % und 14 % reduziert wurde. Der Effekt wiegt bei diesem engverteilten Polymer ($PDI = 1,03$) besonders schwer. Bei Proben mit breiter Molekulargewichtsverteilung ist die relative Verbreiterung naturgemäß geringer. Bei einer Probe mit $PDI \approx 2$ war der Unterschied der Zellen im Rahmen der Messgenauigkeit der GPC vernachlässigbar. Ein zusätzlicher Detektor führt immer zu einer Verbreiterung. Dennoch ist eine kleinere Flusszelle zu bevorzugen, um die Verbreiterung möglichst gering zu halten. Eine universelle Nutzung ohne Umbauten am GPC-System ist dann möglich.

Zellenvolumen	500 µL	250 µL	170 µL	0 µL
rel. Peakbreite	125 %	123 %	116 %	100 %
rel. Peakhöhe	86 %	87 %	90 %	100 %

Tabelle 4.2.: Die relativen Peakbreiten und Peakhöhen wurden durch eine *Gauß*-Anpassung an die Chromatogramme aus dem DRI-Detektor erhalten. Sie sind ein Maß für das Ausmaß an Vermischung in den FTIR-Zellen. Vgl. Abb. 4.8. GPC-Parameter: 0,55 mg PS ($M_w = 193\text{ kg/mol}$, $PDI = 1,03$) in THF bei 1 mL/min auf einer semipräparativen ($20\text{ mm} \times 300\text{ mm}$) linear M Säule.

4. Methodenentwicklung

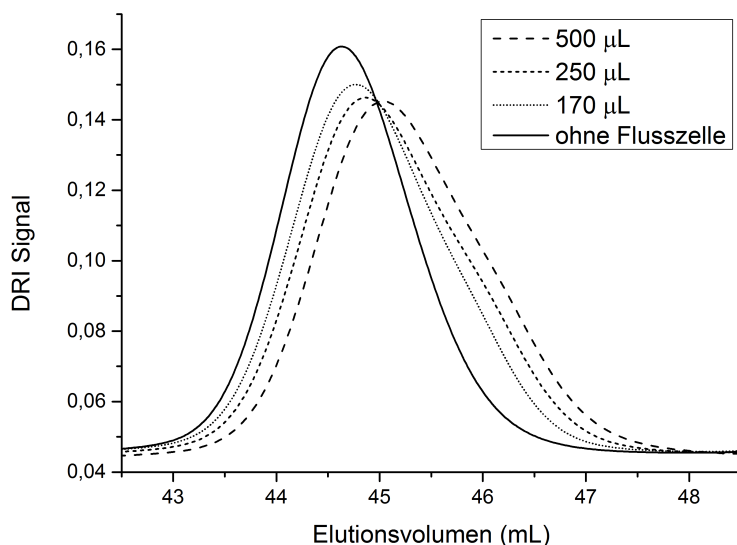


Abbildung 4.8.: Die tatsächliche, chromatographische Peakverbreiterung, die durch die Infrarot-Messzellen verursacht wird, kann an den anschließend gemessenen DRI-Signalen erkannt werden. Kleinere Zellen verursachen generell weniger Bandenverbreiterung und sind zu bevorzugen. Vgl. auch Abb. 4.7. GPC-Parameter: 0,55 mg PS ($M_w = 193$ kg/mol, $PDI = 1,03$) in THF bei 1 mL/min auf einer semipräparativen (20 mm \times 300 mm) linear M Säule.

Zusammenfassung Flusszellenvergleich

In Tabelle 4.3 sind nochmal die wichtigsten Eigenschaften der fünf während der Promotion gebauten Flusszellen zusammengetragen. Zusammenfassend ist nur die ATR-Zelle mit sechs Reflexionen und 170 µL Totvolumen ausreichend sensitiv für die GPC-FTIR-Kopplung und gleichzeitig robust einsetzbar.

Die theoretisch bessere Sensitivität bei höheren Wellenzahlen in Transmissionzellen stellt einen erheblichen Vorteil dar. Die Gesamtsensitivität lässt sich theoretisch über die Schichtdicke beeinflussen. Der hier realisierte Aufbau war für das FTIR zwar nicht nutzbar, konnte aber sinnvoll im QCL-Spektrometer eingesetzt werden.

4. Methodenentwicklung

	1 ATR	6 ATR- 170 μL	6 ATR- 250 μL	6 ATR- 500 μL	Trans- mission
Innenvolumen in μL ca.	10	170	250	500	10
rel. Banden- verbreiterung (DRI)	1,03	1,16	1,23	1,25	1,12
Messmethode	ATR (Diamant)	ATR (ZnSe)	ATR (ZnSe)	ATR (ZnSe)	Trans- mission
Spektrum ab ca.	650 cm^{-1}	700 cm^{-1}	700 cm^{-1}	700 cm^{-1}	1100 cm^{-1}
bis	3500 cm^{-1}	4000 cm^{-1}	4000 cm^{-1}	4000 cm^{-1}	5000 cm^{-1}
rel. S/N	1	ca. 2–4,5	ca.1,7–3,7	ca.1,5–3,3	nicht be- stimmbar
sonst. Vorteile	robust, wenig Schwan- kungen in CO_2 und H_2O	robust, wenig Schwan- kungen in CO_2 und H_2O	robust, wenig Schwan- kungen in CO_2 und H_2O	robust, wenig Schwan- kungen in CO_2 und H_2O	bei höheren Wellen- zahlen theore- tisch sensitiver
sonst. Nachteile	nur mit überlade- ner Säule; rel. teuer (Diamant)	bevorzugt mit semipräp. Säulen bis ca. 4 mL/min	nur mit semipräp. Säulen bis ca. 4 mL/min	nur mit semipräp. Säulen bis ca. 4 mL/min	nicht konstant, daher nicht an- wendbar

Tabelle 4.3.: Übersicht über die in der Promotion konstruierten Flusszellen und deren wichtigste, gemessene Eigenschaften.

4.3. Entwicklung der mathematischen Lösungsmittelunterdrückung

Ziel der Lösungsmittelunterdrückung war es, die Extinktionsspektren der mit GPC gekoppelten FTIR-Messungen möglichst vollständig von Lösungsmiteleinflüssen zu befreien. Dabei sollte ein zweidimensionales Spektro-Chromatogramm entstehen, aus welchem charakteristische Chromatogramme und mit geringerer Priorität auch Spektren für die einzelnen Komponenten extrahiert werden können. Das Ziel war eine chemisch sensitive GPC-Detektion, d.h. eine Unterscheidung und charakteristische Zuordnung verschiedener Komponenten sollte möglich sein. Die Messung detailreicher Infrarotspektren, wie sie aus Bulk-Messungen oder evt. nach GPC-Fraktionierung erhalten werden können, ist dafür nicht nötig. Abstriche bei der Qualität der Spektren z.B. durch Lösungsmittelartefakte wurden bewusst in Kauf genommen, so lange eine Identifikation unterschiedlicher Komponenten einer Probe eindeutig möglich war. Es existiert nur eine begrenzte Anzahl an GPC-Lösungsmitteln, sowie auch möglicher Monomere. Daher ist – bei Bedarf – auch der Aufbau einer spezialisierten Spektrenbibliothek für die Methode denkbar.

Die Lösungsmittelunterdrückung arbeitet in drei Schritten, die im Folgenden genauer beschrieben werden und auch in [145] erklärt wurden: Lösungsmittelsubtraktion, Driftkorrektur und Rauschreduktion. Diese Datenverarbeitungsschritte sind in einem MATLAB-Programm implementiert worden, dessen Quellcode im Anhang zu finden ist (s. S. 120). Analog zur Methode, der TIMO-GPC-Detektion, wird dieses Programm mit TIMO-Software bezeichnet. Zur Berechnung werden einige Parameter benötigt, die sich für einen gegebenen GPC-Aufbau jedoch nicht ändern und deshalb gespeichert werden können (vgl. Abb. 4.9).

Für jede Messung müssen der Dateipfad und -name („Load“ und „Save“) der aus *OPUS* (Spektrometersoftware der Firma *Brüker*) als ASCII-Daten exportierten Spektren gewählt werden. Daneben müssen die Grenzen des GPC-Trennbereichs („Start (V0)“ und „End (Vt)“) sowie die Flussrate „Flow Rate“ und die Messzeit für ein Spektrum „Measuring Time per Spectrum“ für eine korrekte Zuordnung der Spektren angegeben werden. Aus diesen Daten wird auch die Skalierung der chromatographischen Achse berechnet. Für die Driftkorrektur kann der Grad des Polynoms geändert werden („Polynom for Solvent Suppression“), was aber nur in Ausnahmefällen empfehlenswert ist (Standardwert ist 2). Für die Rauschunterdrückung wird ein signalfreier Bereich im Spektrum benötigt („No IR Peaks from“ und „...to“), dessen Breite und Lage gewählt werden kann. Für die meisten Polymere ist 1800 cm^{-1} bis 2000 cm^{-1} passend, bei Eingabe identischer Werte findet keine Rauschreduktion

4. Methodenentwicklung

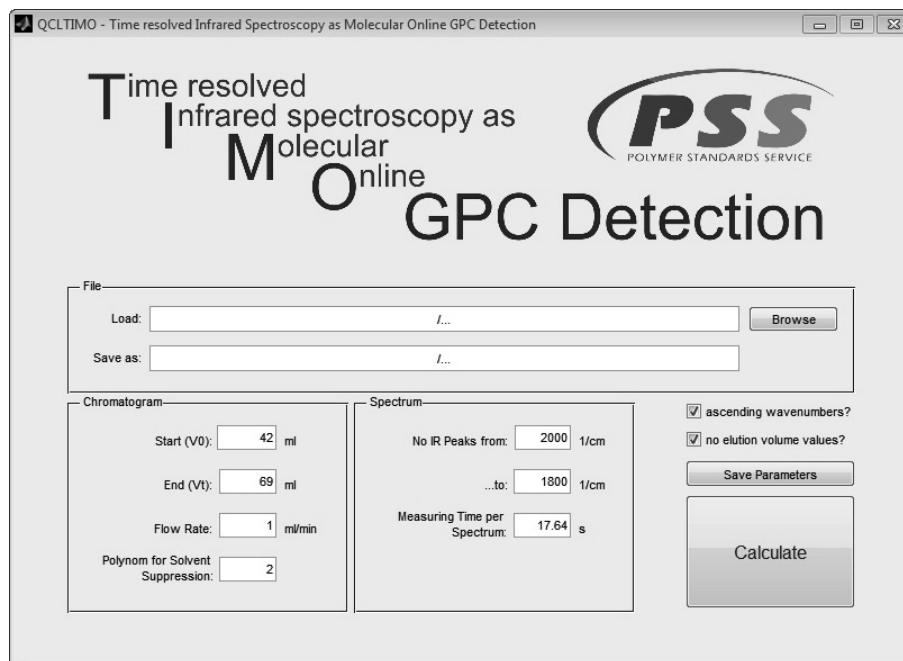


Abbildung 4.9.: Der Screenshot der TIMO-Software zeigt, welche Parameter geändert werden können. Für einen gegebenen GPC-Aufbau können alle Parameter gespeichert werden, sodass für Routinemessungen nur noch die Messdatei geladen und der Knopf „Calculate“ gedrückt werden.

statt. Die Software warnt z.T. vor nicht sinnvollen Eingaben, wie z.B. einer Chromatogramm-Grenze außerhalb des Datensatzes. Um den Datenimport in verschiedene weitere Programme zu erleichtern kann die Sortierung der Wellenzahlwerte umgekehrt werden („ascending wavenumbers“, nötig z.B. für den Rückimport in *OPUS*) und das Speichern der Werte für die Elutionsvolumina verhindert werden („no elution volume values“). Da sich die Parameter nur ändern, wenn am Aufbau (z.B. Säule, Lösungsmittel, etc.) etwas geändert wird und nicht für unterschiedliche Proben, können die Parameter über „Save Parameters“ gespeichert werden. Damit muss ein Nutzer für eine Routinemessung lediglich auf „Calculate“ klicken, wodurch die Berechnung und ein Speichern der Datei ausgelöst wird.

Die TIMO-Software verarbeitet Dateien, die nach der Messung aus *OPUS* exportiert wurden. Gespeichert werden ASCII-Dateien, die mit vielen Programmen weiterverarbeitet und dargestellt werden können. Soll die Methode kommerzialisiert werden ist eine Implementierung in z.B. die GPC-Software möglich.

Das Prinzip der hier entwickelten und vorgestellten Lösungsmittelunterdrückung ist nicht auf die Anwendung bei FTIR-Spektroskopie beschränkt. Es wurde auch schon erfolgreich bei MR-NMR angewendet.^[112,113] Vor allem für die Driftkorrektur sind auch weitere Anwendungen denkbar (s. Kap. 6).

4.3.1. Lösungsmittelsubtraktion

Die Lösungsmittelsubtraktion passiert in der Praxis meist bereits durch die Messung eines Lösungsmittelspektrums als Hintergrundspektrum der Infrarotspektroskopie. Dies ist in der GPC-Kopplung günstiger als ein Hintergrundspektrum der leeren Flusszelle zu messen, da dafür ein Ausbau aus dem chromatographischen System nötig wäre. Mit der Driftkorrektur (s. u.) werden nicht nur Drifts sondern auch alle konstanten Anteile des Spektrums abgezogen. Daher kann das Hintergrundspektrum auf beliebige Art gemessen werden. Die Driftkorrektur stellt sicher, dass alle Hintergrundspektren zum selben Ergebnis führen, und es muss auf kleinere Abweichungen z.B. in der Lösungsmittelqualität nicht geachtet werden.

4.3.2. Driftkorrektur

Die Driftkorrektur ist der wichtigste Teil der Lösungsmittelunterdrückung. Das chromatographische Experiment findet auf einer bekannten Zeitskala statt. D.h. alle Peaks eluieren zwischen dem Ausschlussvolumen V_0 und dem Totvolumen V_t . Mit der Driftkorrektur werden Veränderungen im Signal korrigiert, die auf einer niedrigeren Frequenz stattfinden, diese können durch niederfrequentes Rauschen oder auch Drifts verursacht werden. Diese Drifts werden im Trennbereich mit einem Spline interpoliert. Die Rauschreduktion (s. u.) wurde hingegen implementiert um Rauschen auf höheren Frequenzen als das Experiment zu unterdrücken.

Um die Drifts zu korrigieren werden die Daten in drei Bereiche aufgeteilt. Vor dem Trennbereich aufgenommene Spektren sind Referenzdaten. In den Grenzen des Trennbereichs eluieren Peaks, dies ist das eigentliche Chromatogramm. Nach dem Trennbereich wird ein zweiter Block an Referenzdaten benötigt. Abbildung 4.10 illustriert dies. An die Referenzdaten wird für jede Frequenz ein Polynom über Regression angepasst und dieses vom kompletten Datensatz subtrahiert. Zum besseren Verständnis ist dies in Abb. 4.11 nochmals gezeigt.

Hält man den Deckel des Proberaums geschlossen und das Spektrometer generell unter möglichst konstanten Bedingungen, hat sich eine Parabel zur Driftkorrektur als gut geeignet erwiesen. In manchen Fällen liefert ein Polynom dritten Grades bessere Ergebnisse. Höhere Polynome erlauben nur dann eine sinnvolle Driftkorrektur, wenn wesentlich mehr Referenzdaten vorliegen als Messdaten im Trennbereich interpoliert werden müssen. Sie sind daher im Allgemeinen nicht anzuwenden.

Verlässlichere Ergebnisse werden erzielt, je mehr Referenzdaten vorliegen. Als Faustregel kann gelten, dass alle drei Datenblöcke etwa gleich groß sein sollen. So ist es auch in Abb. 4.10 dargestellt. Dies lässt sich sehr gut mit dem normalen Ablauf

4. Methodenentwicklung

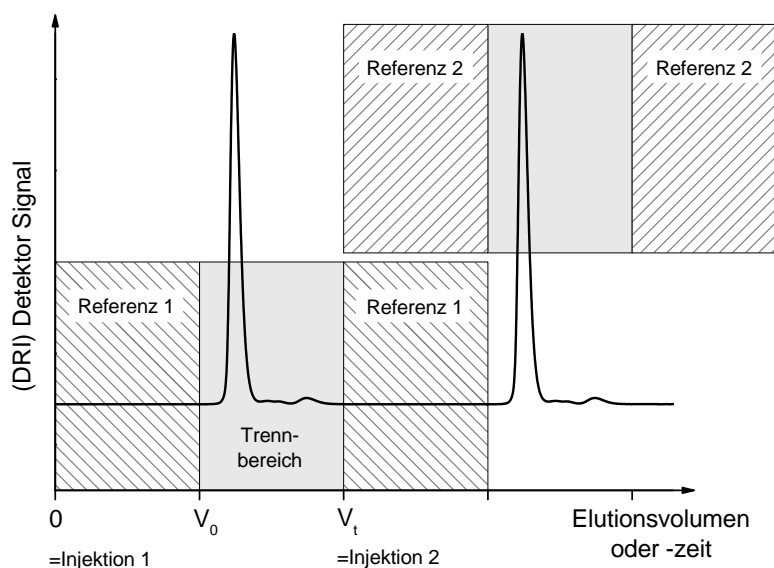


Abbildung 4.10.: An einem exemplarischen Chromatogramm wird gezeigt, wie die Daten in Referenzdaten und Messdaten (=Chromatogramm) eingeteilt werden. Der Referenzdatenblock kann bei der Injektion von mehreren Proben doppelt genutzt werden, dadurch lässt sich substantiell Messzeit sparen.

einer GPC-Messung vereinbaren. Nach dem Beginn einer Messung – d.h. nach der Injektion einer Probe – eluiert zuerst reines Lösungsmittel bis zum Ausschlussvolumen. Die in dieser Zeit aufgenommenen Daten dienen als Referenzdaten. Die Zeit zwischen Injektion und V_0 entspricht etwa der Zeit, die das Chromatogramm benötigt. Die Datenmenge des zweiten Blocks, des Trennbereichs, hat daher etwa den gleichen Umfang. Normalerweise ist eine GPC-Messung nach dem Totvolumen beendet. Für die TIMO-Detektion wird aber noch ein zweiter Referenzdatenblock benötigt. Dies bedeutet eine bis zu 50 % längere Messzeit. Diese kann allerdings eingespart werden, wenn mehrere Proben nacheinander gemessen werden. Der Referenzdatenblock zu Beginn einer Messung kann auch als zweiter Referenzdatenblock für die vorausgegangene Messung genutzt werden. In Abbildung 4.10 ist dieses Vorgehen zur Einteilung der Daten bei mehreren Messungen gezeigt. In der Praxis sollten alle Datenblockgrenzen mit etwas „Sicherheitsabstand“ zu eventuell eluierenden Peaks oder sonstigen Signalen gewählt werden.

4.3.3. Rauschreduktion

Die Rauschreduktion wurde implementiert um Rauschen zu kompensieren, das in der spektroskopischen Dimension gleich ist. Dieses kann z.B. durch eine schwan-

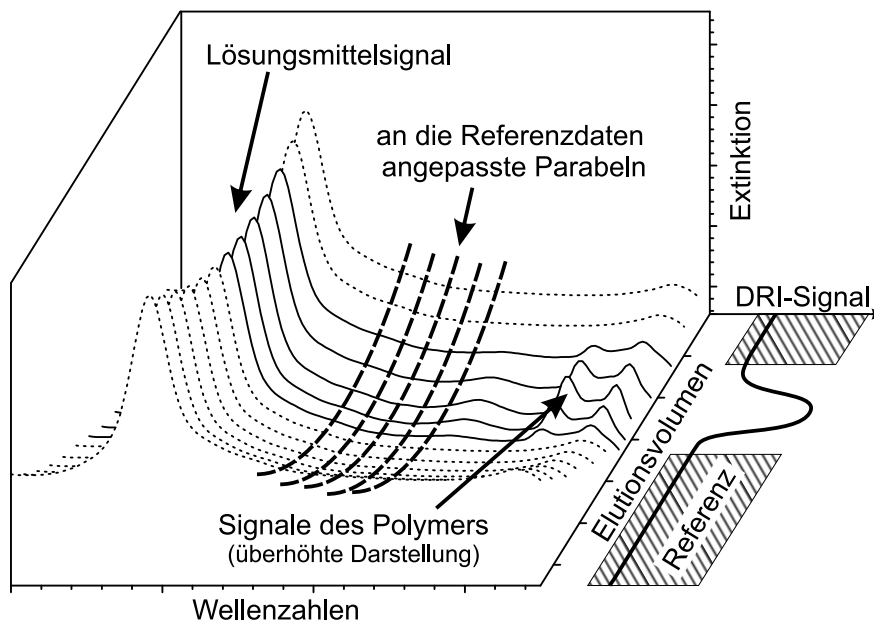


Abbildung 4.11.: Veranschaulichung der Driftkorrektur mit gleichzeitiger Lösungsmittelunterdrückung: An die Referenzdaten (gepunktete Linien) vor und nach dem Chromatogramm (durchgezogene Spektren) wird für jede Wellenzahl eine Parabel (gestrichelt) angepasst und vom kompletten Datensatz subtrahiert. Dadurch werden Lösungsmittelsignale sowie Drifts korrigiert und die Signale des Polymers (hier überhöht dargestellt) werden sichtbar. Die Grenzen der Referenzdaten können nach dem Trennbereich der Säule (vgl. Abb. 4.10) oder mit Hilfe eines Referenzdetektors (hier DRI) bestimmt werden.

kende Intensität der Lichtquelle verursacht werden. Zur Reduktion wird in einem signalfreien Bereich jedes einzelnen Spektrums ein Mittelwert berechnet und dieser vom gesamten Spektrum abgezogen. Dadurch verringert sich das Rauschen in der Zeit-Richtung. Je nach Lage des Peaks im Spektrum wurden damit Verbesserungen im $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ bis zu einem Faktor 1,4 erhalten.

Der Bereich zwischen 1800 cm^{-1} und 2000 cm^{-1} kann in den meisten Fällen als signalfrei angenommen werden. Es sind nur wenige Substanzen bekannt, die in diesem Spektralbereich absorbieren. Für eine bessere Rauschreduktion wären ein zweiter peakfreier Bereich wünschenswert, sodass nicht nur ein Mittelwert sondern eine Gerade als Basislinie abgezogen werden könnte. Ein zweiter Bereich ist aber nur selten vorhanden, daher wurde diese Möglichkeit nicht in die Software implementiert.

Normalerweise kann über die Mittelung mehrerer Spektren oder Chromatogramme das S/N verbessert werden. Da die Peaks in der spektralen Richtung recht breit sind, stehen für einen Peak mehrere Frequenzlinien als Chromatogramme zur Verfügung, die theoretisch gemittelt werden können. In den Experimenten zeigte sich aber, dass sich das Rauschen dieser Chromatogramme kaum unterscheidet, es ist

4. Methodenentwicklung

stark korreliert. Daher weist das Chromatogramm am Peakmaximum im Allgemeinen ein besseres S/N auf als ein gemittelttes Chromatogramm. Bei Proben, die zwei oder mehr starke Absorptionen zeigen, kann eine Mittelung der jeweiligen Peakmaxima eine Verbesserung ergeben. Obwohl es häufig mit dem S/N übereinstimmt genügt eine alleinige Betrachtung der Signalintensität des Peaks nicht zur Beurteilung, welches Chromatogramm sinnvollerweise ausgewertet wird. Da das Rauschen wellenzahlabhängig ist müssen korrekterweise S/N -Spektren, wie sie bereits in Kap. 4.2.4 zum Sensitivitätsvergleich der Flusszellen gezeigt wurden, betrachtet werden.

Die Chromatogramme aus der TIMO-Detektion haben eine höhere Zeitauflösung als es zur Darstellung der Peaks notwendig wäre ($t_{\text{Spektrum}} < 0,3 \text{ min}$ und $\Delta t_{\text{Peak, FWHM}} > 1 \text{ min}$). Das Rauschen kann daher in einem weiteren Schritt auch durch Glätten – z.B. durch Faltung mit einer *Gauß*-Funktion, deren Breite kleiner als der schmälste Peak ist – noch weiter reduziert werden. Dadurch verbreitern sich die Peaks und man gewinnt Sensitivität zu Lasten der Selektivität (vgl. Kap. 2.1 und 4.1.4). Viele der in dieser Arbeit gezeigten Ergebnisse wurden so geglättet. Da dies keinen tatsächlichen Informationsgewinn liefert (sondern im Wesentlichen eine Frage der Darstellung ist) wurde dies nicht als Standardfunktion in die TIMO-Software implementiert, sondern soll vom Nutzer individuell entschieden und durchgeführt werden.

4.3.4. Artefakte, Anleitung zur Interpretation

Die Ergebnisse der hier vorgestellten Messmethode und der Lösungsmittelunterdrückung weisen einige Eigenheiten auf, die auf den ersten Blick falsch interpretiert werden können. Diese sollen hier besprochen werden.

Einfluss von Wasser und Kohlendioxid

Wie oben bereits beschrieben wurde werden durch die Lösungsmittelunterdrückung alle konstanten Anteile sowie Drifts im Chromatogramm vollständig abgezogen. Die Methode ist sensitiv auf Veränderungen im sub-ppm Bereich und macht die Annahme, dass diese im Trennbereich der Säule auftreten. Alle Veränderungen, auch sehr kleine, die zu anderen Zeitpunkten auftreten, können daher zu Problemen führen. Dies betrifft vor allem die Änderung der Luftfeuchtigkeit und des Gehalts an CO_2 im Spektrometer. Der Strahlengang ist ca. 1 m lang, sodass auch die Luft zum Hintergrundspektrum beiträgt. Der Hauptanteil der Luft ist Stickstoff und Sauerstoff, welche beide transparent für Infrarotlicht sind, jedoch zeigen CO_2 und Wasserdampf starke Absorptionen. Schätzt man die durchstrahlte Luft auf ca. 1 L ab, so

4. Methodenentwicklung

enthält diese ca. 2×10^{-5} mol CO_2 . Der Strahl wird auf die Probelösung fokussiert und durchdringt dort ein geschätztes Volumen von ca. 1 μL , dieses enthält bei einer Konzentration von 1 g/L nur ca. 1×10^{-8} mol Polystyrolmonomere. Durch z.B. den Atem des Nutzers verändert sich der Gehalt von CO_2 und Wasserdampf in der Luft, Schwankungen können daher immer auftreten und sind nie vollständig vermeidbar.

Der Kohlendioxidgehalt und dessen Schwankungen stellen für die gekoppelte Messung kein großes Problem dar. Der Frequenzbereich in welchem CO_2 absorbiert ist auf ca. 2275 cm^{-1} bis 2400 cm^{-1} begrenzt. Dieser Bereich kann bei der Interpretation ausgeklammert und ignoriert werden, da er nur einen kleinen Teil des Gesamtspektrums ausmacht und weil in diesem Bereich kaum andere Substanzen absorbieren. Entsprechende funktionelle Gruppen sind sehr selten. Da die Schwankungen im Gehalt an CO_2 unabhängig von der Chromatographie passieren, können die Signale durch die Lösungsmittelunterdrückung negativ oder auch verstärkt werden. Diese Schwankungen waren oft stärker als die Polymerpeaks, sodass bei einer ersten Betrachtung zuerst die „ CO_2 -Peaks“ den Blick auf sich zogen. Besonders wenn die genutzte Software die Extinktionsachse automatisch skaliert, kann es passieren, dass die Polymersignale nicht mehr zu sehen sind. Die Skalierung der Anzeige muss daher immer überprüft und auf die Größe der zu erwartenden Polymerpeaks angepasst werden.

Wasserdampf zeigt als Gas sehr schmale Linien ($< 2 \text{ cm}^{-1}$), die bei genügend hoher spektraler Auflösung als solche erkannt werden können. Diese verteilen sich in weiten Teilen des Spektrums, sodass sie bei einer Messung mit niedriger Auflösung (z.B. für Flüssigkeiten) stören. Durch verschiedene Maßnahmen konnte der Gehalt an Wasserdampf im Spektrometer konstant genug gehalten werden, sodass auch nach der Lösungsmittelunterdrückung keine störenden Signale zu sehen waren. Dazu wurde erstens das Spektrometer kontinuierlich mit getrockneter Druckluft (ca. 5 L/min) gespült und zweitens zusätzliches Trockenmittel (Zeolith, ca. 1 kg) im Innern des Spektrometers installiert. Drittens wurde das Gehäuse des Spektrometers während der Messung und auch mindestens 30 min davor geschlossen gehalten. Für ähnliche Aufbauten könnte auch eine evakuierbares Spektrometers, dessen Gehäuse besser abgedichtet ist, genutzt werden, wobei mit Leckagen der Flusszellen im Vakuum zu rechnen ist. Eine Spülung mit Stickstoff statt Luft zur Beseitigung der genannten Probleme ist ebenfalls denkbar.

Einfluss des Lösungsmittels

Man könnte erwarten, dass nach der Lösungsmittelunterdrückung ein reines Polymerspektrum ohne irgendwelche Einflüsse des Lösungsmittels erhalten wird. Dies ist

4. Methodenentwicklung

aber nicht der Fall. Das Lösungsmittel beeinflusst auf zwei Arten das resultierende Spektrum, die berücksichtigt werden müssen.

Die untersuchten Polymere verdrängen Lösungsmittelmoleküle. Daher verändert sich das gemessene Spektrum nicht nur, weil Polymersignale hinzukommen, sondern auch, weil die Lösungsmittelsignale durch weniger vorhandene Moleküle abnehmen. Dies ist nur auf den ersten Blick ein Nachteil. Die negativen Lösungsmittelsignale treten normalerweise bei anderen Frequenzen auf, als die des Polymers. Auch die negativen Signale können – wenn auch nicht chemisch sensitiv – zur Detektion genutzt werden. Bei UV-Detektoren wird dieses vorgehen „inverse Detektion“ genannt (s. z.B. [15]). Selbst wenn Signale überlappen, kann FTIR-Detektion stattfinden. Sowohl die Intensität des Polymersignals als auch die negative Intensität des Lösungsmittelsignals skalieren mit der Konzentration, sodass die resultierende Gesamtintensität ebenfalls proportional zur Konzentration ist. Unabhängig davon ist für eine Quantifizierung des Chromatogramms eine Kalibrierung der Peakintensität über z.B. eine Konzentrationsreihe – wie auch allgemein in der Infrarotspektroskopie – nötig, da sie vom Dipolmoment der Schwingung abhängt, welches nicht vorausgesagt werden kann. Im Extremfall kann theoretisch ein Polymersignal genau mit einem Lösungsmittelsignal der gleichen Intensität überlappen. Dann können sich Polymersignal und negatives Lösungsmittelsignal gegenseitig auslöschen. Trifft dies auf alle Peaks des Spektrums zu, so folgt daraus, dass Lösungsmittel und Polymer chemisch identisch, also nicht Polymer und Lösungsmittel sind. Im Kapitel 5.1.4 wurden bewusst Beispiele gesucht, bei denen Polymer und Lösungsmittel möglichst ähnliche Infrarotspektren haben (z.B. Polystyrol und Toluol), um die Grenzen der Methode aufzuzeigen.

Das Lösungsmittel beeinflusst das resultierende Spektrum noch auf einem zweiten Weg. Um ein gelöstes Molekül, egal ob Polymer oder eine niedermolekulare Chemikalie, lagern sich Lösungsmittelmoleküle an. Die Wechselwirkung zwischen dieser Solvathülle und der gelösten Substanz beeinflussen auch die Bindungen in den Molekülen. Werden die Bindungen so geschwächt (oder seltener gestärkt) ändert sich ihre Kraftkonstante und damit verschiebt sich die Lage des zugehörigen Peaks im Infrarotspektrum zu niedrigeren Wellenzahlen. Die Peaks von Polymer und auch von einem Teil des Lösungsmittels werden daher leicht verschoben.

Zusammenfassend misst der TIMO-Detektor – ähnlich wie der Brechungsindexdetektor mit $\frac{dn}{dc}$ die Änderung des Brechungsindex gegenüber dem Lösungsmittel misst – die Änderung des Infrarotspektrums gegenüber dem reinen Lösungsmittel. Dieses „Unterschiedsspektrum“ ist einem Infrarotspektrum, welches man z.B. bei der Messung des Feststoffs erhalten würde, zwar ähnlich, jedoch nicht identisch. Ein Ver-

4. Methodenentwicklung

gleich mit Literatur- oder Feststoffspektren ist zwar möglich und wird an Hand eines Beispiels im Kapitel 5.1.1 gezeigt, generell wäre jedoch ein Vergleich mit Spektren, die ebenfalls in Lösung aufgenommen wurden wünschenswert. Da bisher noch keine Spektrenbibliothek für solche Spektren existiert, ist es ratsam bei Copolymeren oder Blends die Komponenten zum Vergleich auch einzeln mit GPC-FTIR-Messungen zu untersuchen – sofern diese verfügbar sind.

Einflüsse auf das Signal-Rausch-Verhältnis

Es wurde bereits erwähnt, dass das Rauschlevel in Zeitrichtung von der Frequenz im Spektrum abhängig ist. Daraus folgt auch eine Frequenzabhängigkeit für das Signal-zu-Rausch-Verhältnis. Eine erste Ursache ist die Charakteristik des Hintergrundspektrums. In Bereichen, wo weniger Lichtintensität vom Globar zur Verfügung steht (z.B. am Rand des Spektrums), wird für die Messung von Peaks ein kleinerer Teil des dynamischen Bereichs des Detektors genutzt. Auf den entsprechenden Frequenzen ist daher mehr numerisches Rauschen des ADCs zu erwarten. Als Zweites beeinflusst das Lösungsmittel mit seinen Absorptionen das Rauschen. Betrachtet man das Lösungsmittel als Teil des Hintergrunds lässt sich dies analog begründen. Ein dritter wichtiger Einfluss auf das Rauschlevel existiert durch das Wesen der ATR-Technik. Die Eindringtiefe in die Probe ist wellenzahlabhängig. Bei höheren Wellenzahlen nimmt daher das Rauschen zu und die Empfindlichkeit ab.

Dies hat zweierlei Folgen bei der Betrachtung der Messdaten aus der TIMO-Detektion. Will man einzelne Frequenzlinien als Chromatogramme auswerten so muss bei deren Auswahl beachtet werden, dass man das beste Signal-zu-Rausch-Verhältnis zwar oft, aber nicht immer am Peakmaximum des intensivsten Peaks findet. Eine Berechnung des S/N -Wertes für alle Frequenzen und eine Betrachtung des daraus resultierenden S/N -Spektrums kann bei der Auswahl helfen (vgl. Abb. 4.6). Betrachtet man jedoch ein Spektrum, welches als Schnitt durch das 2D-Spektro-Chromatogramm erhalten wurde, so ist folgendes wichtig: Bei Frequenzen, auf denen ein hohes Rauschlevel herrscht, kann im Schnitt (= Spektrum) ein Rausch-Peak auftauchen, der eine vergleichbare Intensität hat wie ein tatsächlicher Polymerpeak auf einer anderen Frequenz. Ohne Kenntnis über die zugehörigen Rauschlevel kann zwischen einem statistischen und einem systematischen Peak nicht unterschieden werden. Hier hilft es ein S/N -Spektrum zu erstellen und zu berücksichtigen. Die Auswertung eines TIMO-Spektrums ohne die Kenntnis der Frequenzabhängigkeit des Rauschens oder zumindest des Spektrums des Lösemittels und der spektralen Charakteristik des verwendeten Aufbaus kann zu Fehlinterpretationen führen.

Niedermolekulare Verunreinigungen und Systempeaks

Bei GPC-Messungen treten in vielen Detektorsignalen positive oder negative Peaks am Ende des Chromatograms bzw. Trennbereichs auf. Diese sog. Systempeaks sind ein bekanntes Phänomen.^[146,147] Sie werden durch niedermolekulare Verunreinigungen oder bewusste Zusätze (z.B. Stabilisatoren) im Lösungsmittel verursacht. Geringe Konzentrationsunterschiede zwischen Laufmittel und dem Lösungsmittel, in welchem die Probe gelöst wurde, führen zu diesen Peaks. Zum Teil entstehen auch Unterschiede durch den Lösungsprozess, weil das Polymer eine besondere Affinität zu einer Verunreinigung hat, z.B. wenn ein Lösungsmittel mit einem zweiten, für das Polymer besseren Lösungsmittel verunreinigt ist.

Diese Systempeaks können je nach Brechungsindex der verursachenden Substanz im DRI-Detektor wesentlich kleiner sein als im FTIR-Signal. Hier wurden z.T. sehr intensive Systempeaks beobachtet. Da auch diese Substanzen Lösungsmittel verdrängen, gehen auch sie mit negativen Lösungsmittelpeaks einher (s. o.). Das niedermolekulare Ende des Chromatograms kann dadurch sehr komplexe Signalstrukturen annehmen.

4.4. Optimierung der GPC

Die grundlegende Idee dieser Arbeit war die Entwicklung eines universell einsetzbaren, chemisch sensitiven Detektors für die GPC. Um die Einsatzgebiete nicht auf bestimmte chromatographische Fragestellungen einzuschränken sollten nur wenige Änderungen an der Chromatographie vorgenommen werden. Vorbedingungen an die GPC, wie z.B. eine Einschränkung auf bestimmte Lösemittel, ausgewählte Polymere oder einen Molekulargewichtsbereich, wurden daher konsequent vermieden. Dennoch gibt es einige Parameter, die die Trennung nicht oder nur sehr wenig beeinflussen und universell auf jede GPC-Methode – d.h. jedes untersuchte Polymer, jedes Lösungsmittel und jede Säule – anwendbar sind, bzw. für eine gute Detektion mit FTIR spezielle Beachtung erfordern. Diese sollen hier vorgestellt werden und wurden teilweise auch in [145] veröffentlicht.

In dieser Arbeit wurden bereits verschiedene Polymere in unterschiedlichen Lösungsmitteln auf diversen Säulen, die alle von der Firma *PSS Polymer Standards Service GmbH* aus Mainz gefertigt wurden, getrennt und mit FTIR detektiert. Die Trennsäulen werden durch folgende Parameter charakterisiert: Säulendimensionen, Trennmaterial, Partikelgröße und Porengröße. Es wurden Säulen mit den Dimensionen 8 mm × 300 mm (analytisch) und 20 mm × 300 mm (semipräparativ) verwendet (jeweils $\emptyset \times$ Länge). Als Trennmaterial kam meist als SDV bezeichnetes mit Divi-

4. Methodenentwicklung

nylbenzol quervernetztes Polystyrol zum Einsatz. Dieses kann für viele organische Lösemittel verwendet werden. Für Wasser wurden sog. SUPREMA-Säulen benutzt, die Partikel aus einem Polyhydroxymethacrylat-Netzwerk enthalten. Die Partikelgrößen aller Säulen sind standardmäßig 5 μm oder 10 μm . Die mittlere Porengröße wird in Å angegeben. In dieser Arbeit wurden aber oft sog. linear-Säulen verwendet, deren Trennmateriale aus verschiedenen Porengrößen so zusammengemischt wurde, dass sich eine möglichst lineare, d.h. ideale, Kalibrierkurve ergibt (vgl. Kap. 2.2.1). Die mit „linear S“ bezeichneten Säulen trennen Polymere bis zu einer maximalen Größe von ca. 150 kg/mol und „linear M“ bis ca. 1×10^6 g/mol. Linear L oder XL Säulen wurden nicht verwendet.

4.4.1. Flussraten

Wie im Kapitel 2.2.3 beschrieben existiert für die Gelpermeationschromatographie keine optimale Flussrate. Für die LAC verschlechtern sich die Trennungen bei langsameren oder schnelleren Flussraten. Bei der GPC verschlechtert sich die Trennleistung nur bei schnelleren Flussraten, daher ist die Wahl der Flussrate im Wesentlichen ein Kompromiss zwischen Messzeit und Trennleistung. Normalerweise wird eine Flussrate von 1 mL/min für analytische Säulendimensionen ($\varnothing = 8$ mm) und eine Flussrate von 6,25 mL/min für semipräparative Säulen ($\varnothing = 20$ mm) genutzt. Beides entspricht einem linearen Fluss u von 2 cm/min.

Für die Kopplung mit Infrarotspektroskopie sind langsamere Flussraten aus zwei Gründen besser. Erstens eluieren die Peaks auf Grund der verbesserten Trennleistung schmaler und damit höher. Dieser Signalgewinn verbessert das Signal-zu-Rausch-Verhältnis. Zweitens führt eine längere Messzeit zu mehr Spektren oder Scans, die aufaddiert werden können. Nach Gl. 2.5 und Gl. 2.6 wird auch dadurch das Signal-zu-Rausch-Verhältnis verbessert, wobei die längere Messzeit die bessere Trennleistung in der Verbesserung des S/N deutlich überwiegt.

Um den Einfluss der verbesserten Trennleistung auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu untersuchen wurde folgendes Experiment durchgeführt. Eine PS-Probe mit einem Molekulargewicht von $M_w = 8900$ g/mol und einem $PDI = 1,03$ wurde auf einer analytischen (8 mm \times 300 mm) SDV-Säule mit einer als „linear S“ bezeichneten Porengrößenverteilung bei zwei unterschiedlichen Flussraten in THF getrennt. Neben der Standardflussrate von 1 mL/min, bei der die Gesamtmesszeit ca. 14 min bis 15 min beträgt, wurde die Flussrate um einen Faktor 6,25 auf 0,16 mL/min entsprechend einem linearen Fluss von 0,32 cm/min reduziert. Dadurch verlängerte sich die Gesamtmesszeit auf ca. 90 min, was als noch akzeptable Zeit für eine Messung betrachtet wurde. Die resultierenden Eluogramme des DRI-Detektors wurden an-

4. Methodenentwicklung

schließlich verglichen, sowie aus der Verteilung die Anzahl theoretischer Böden N berechnet. Dabei ist zu beachten, dass N normalerweise an Hand einer monodispersen, niedermolekularen Substanz bestimmt wird, wobei viel höhere Werte erhalten werden. Ein Vergleich mit Literaturangaben o.Ä. ist daher nicht sinnvoll. Alle Werte werden daher nur relativ zueinander angegeben.

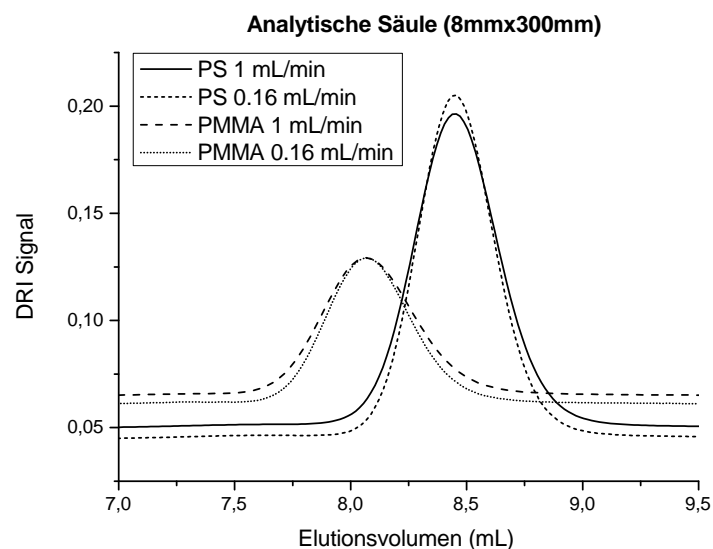


Abbildung 4.12.: Vergleich verschiedener Flussraten bei Messungen mit einer analytischen Säule. Langsamere Messungen führen zu schmaleren und damit höheren Peaks, d.h. nicht nur zu einer besseren Trennung, sondern auch zu einer höheren Sensitivität im Detektor. GPC-Parameter: $M_w(\text{PS}) = 8900 \text{ g/mol}$, $PDI(\text{PS})=1,03$, $M_w(\text{PMMA}) = 12,5 \text{ kg/mol}$, $PDI(\text{PMMA})=1,03$, analytische (8 mm \times 300 mm) SDV-Säule linear S.

Das Experiment wurde identisch mit einer PMMA-Probe ($M_w = 12\,500 \text{ g/mol}$ und $PDI = 1,03$) wiederholt. Außerdem wurden beide Proben auf einer semipräparativen Säule (20 mm \times 300 mm), die mit dem gleichen Trennmaterial gefüllt war, bei Flussraten von 4 mL/min und 1 mL/min, entsprechend 1,3 cm/min und 0,32 cm/min linearem Fluss, getrennt. Der Fluss wurde nicht über 4 mL/min erhöht, da die FTIR-Flusszelle (s. Kap. 4.2.2) dem Gegendruck bei höheren Flüssen nicht standhält. Die Abbildungen 4.12 und 4.13 zeigen die erhaltenen Elugramme.

Die Peaks sind bei den jeweils niedrigeren Flussraten deutlich schmaler und auch etwas höher. Die Ergebnisse für die Anzahl theoretischer Böden N und die Signalthöhe S aus einer *Gauß*-Anpassung finden sich in Tab. 4.4.

Im Mittel beträgt die Signalvergrößerung ca. 5%. Das entspricht einer Verbesserung im $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ um ebenfalls 5%, was einer Messzeitersparnis von etwas über 9% gleichkommt. Zusammen mit der deutlich verlängerten Messzeit folgt eine Verbesserung im Signal-zu-Rausch-Verhältnis um einen Faktor 2,6.

4. Methodenentwicklung

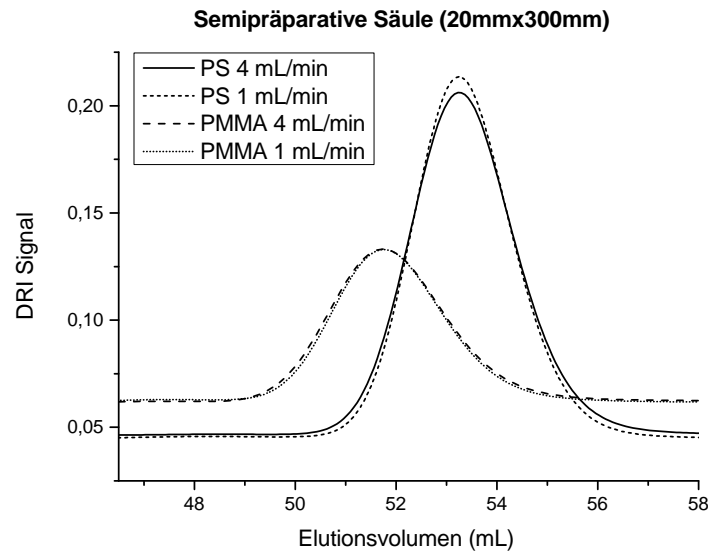


Abbildung 4.13.: Vergleich verschiedener Flussraten bei Messungen mit einer semipräparativen Säule. Langsamere Messungen führen zu schmalere- ren und damit höheren Peaks, d.h. nicht nur zu einer besseren Trennung, sondern auch zu einer höheren Sensitivität im Detektor. GPC-Parameter: $M_w(\text{PS}) = 8900 \text{ g/mol}$, $PDI(\text{PS})=1,03$, $M_w(\text{PMMA}) = 12,5 \text{ kg/mol}$, $PDI(\text{PMMA})=1,03$, semipräparative (20 mm \times 300 mm) SDV-Säule linear S. Die Flussrate wurde nicht über 4 mL/min erhöht, da die verbundene FTIR-Messzelle einem höheren Gegendruck nicht standhielt.

Probe	Säule	Flussrate in mL/min	u in cm/min	Zunahme von N	Zunahme von S
PS	8 mm \times 300 mm	1	2		
PS	8 mm \times 300 mm	0,16	0,32	20 %	9 %
PMMA	8 mm \times 300 mm	1	2		
PMMA	8 mm \times 300 mm	0,16	0,32	17 %	6 %
PS	20 mm \times 300 mm	4	1,3		
PS	20 mm \times 300 mm	1	0,32	9 %	5 %
PMMA	20 mm \times 300 mm	4	1,3		
PMMA	20 mm \times 300 mm	1	0,32	7 %	0 %

Tabelle 4.4.: Übersicht über die Messungen bei verschiedenen Flussraten sowie die dadurch erzielten Verbesserungen der Trennleistung bzw. der Anzahl der theoretischen Böden N und in der Signalthöhe S , welche der Verbesserung im Signal-zu-Rausch-Verhältnis entspricht.

4.4.2. Säulendimensionen

Bei der Auswahl der Säulendimension gibt es zwei veränderbare Größen: den Durchmesser und die Länge. Die Länge beeinflusst die Trennleistung: je länger, je besser. Der Säulendurchmesser muss in erster Näherung nach der zu trennenden Substanzmenge gewählt werden. Es haben sich zwei Standardgrößen durchgesetzt. Säulen mit einem Durchmesser von $\varnothing = 8$ mm werden „analytisch“ genannt und sind für Substanzmengen von ca. 0,1 mg geeignet. Die etwas größeren „semipräparativen“ Säulen mit einem Durchmesser von $\varnothing = 20$ mm trennen, entsprechend der 6,25-fach größeren Querschnittsfläche, 6,25 Mal mehr Substanz. Als Faustregel geben die meisten Säulenhersteller ca. 10 mg an. Das genaue Limit ist auch von der Probe – insbesondere deren Molekulargewicht und dem Lösungsmittel – abhängig (s. Kap. 4.4.3). Die anderen Betriebsparameter der GPC ergeben sich als Folge aus den Dimensionen. So werden analytische Säulen üblicherweise mit einer Flussrate von 1 mL/min und semipräparative Säulen mit 6,25 mL/min betrieben, was in beiden Fällen einem linearen Fluss von $u = 2$ cm/min entspricht. Nicht nur der Gegendruck der Säulen ist unter diesen Bedingungen vergleichbar sondern theoretisch auch die Konzentration am Detektor. Es wird zwar mehr Probe injiziert, wegen der höheren Flussrate verteilt sich diese aber in einem größeren Lösungsmittelvolumen und passiert auch schneller den Detektor. Üblicherweise wird auch das Injektionsvolumen angepasst, sodass auch die Probelösung für beide Säulen die gleiche Konzentration haben kann. Es gibt folglich zwei sehr ähnliche Systeme zwischen denen man wählen kann, im Normalfall allein auf Grund der Probenmenge.

Für die Kopplung mit der Infrarotspektroskopie ist bei der Auswahl zwischen analytischen und semipräparativen Säulen daher die Frage nach den Parametern entscheidend, die nicht angepasst werden können. Das ist hauptsächlich die Flusszelle. Die 6-fach-ATR-Zelle hat ein Innenvolumen von ca. 170 μ L wohingegen die Transmissionszelle ein Volumen von nur ca. 10 μ L hat. Die Messzellen von gängigen GPC-Detektoren wie UV oder DRI liegen meist zwischen 20 μ L und 60 μ L. Eine funktionierende Transmissionszelle könnte daher besser für analytische Säulen geeignet sein, während die ATR-Zelle besser zu semipräparativen Säulen passt.

Um letzteres zu demonstrieren wurden folgende Messungen durchgeführt. Eine PS-Probe ($M_w = 8900$ g/mol und $PDI = 1,03$) wurde mit einer Konzentration von 2 g/L in THF gelöst. Davon wurden 80 μ L auf eine analytische Säule (SDV, linear S) bei einem Fluss von 0,16 mL/min injiziert. Als Detektoren wurden das FTIR-Spektrometer sowie der DRI-Detektor nacheinander angeschlossen und zeitgleich genutzt. Anschließend wurde die Säule gegen eine semipräparative Säule des selben Typs getauscht, der Fluss auf 1 mL/min erhöht und von der selben Probe-

4. Methodenentwicklung

lösung 500 μL injiziert. Das Experiment wurde identisch mit einer PMMA-Probe ($M_w = 12\,500\text{ g/mol}$ und $PDI = 1,03$) wiederholt. Die erhaltenen Chromatogramme des DRI-Detektors müssen zum Vergleich, wie in Abb. 4.14 dargestellt, gegen die Elutionszeit aufgetragen werden. Eine Auftragung gegen das sonst übliche Elutionsvolumen unterscheidet sich in diesem Fall. Im DRI-Detektor zeigt sich vor allem die Verbreiterung, die durch Vermischung der Lösung in der FTIR-Flusszelle hervorgerufen wird (vgl. Kap. 4.2.4). Eine Verbreiterung bei Einsatz der analytischen Säule ist zu erkennen. Berechnet man die Anzahl der theoretischen Böden aus einer *Gauß*-Anpassung, so erhöht sich bei Verwendung semipräparativer Säulen N um 13 % für PS und um 15 % für PMMA. Die Peakhöhen und damit die Signalintensität sind um 5 % bzw. 6 % besser.

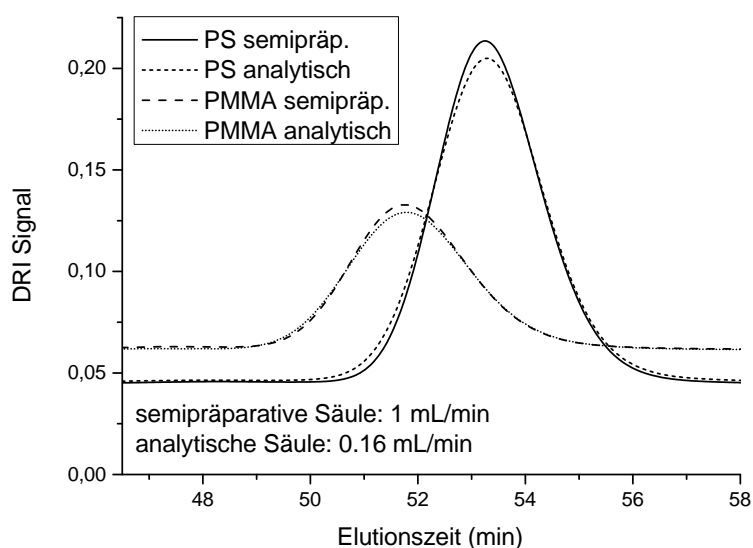


Abbildung 4.14.: Theoretisch haben die Säulendimensionen keinen Einfluss auf die Trennleistung und die Elutionszeit, wenn alle Parameter (s. Text) entsprechend angepasst werden. Bei den semipräparativen Säulen wirkt sich jedoch die Peakverbreiterung durch die FTIR-Zelle weniger aus, sodass diese zu bevorzugen sind. Der lineare Fluss ist bei allen gezeigten Chromatogrammen 0,32 cm/min. GPC-Parameter: $M_w(\text{PS}) = 8900\text{ g/mol}$, $PDI(\text{PS})=1,03$, $M_w(\text{PMMA}) = 12,5\text{ kg/mol}$, $PDI(\text{PMMA})=1,03$, SDV, linear S Säule mit identischem Trennmateriale und unterschiedlichen Dimensionen, injizierte Masse 1 mg auf semipräparative Säule und 0,16 mg auf analytische Säule).

Betrachtet man die Chromatogramme, die aus dem TIMO-Detektor bei 700 cm^{-1} für PS und 1730 cm^{-1} für PMMA erhalten werden, so erkennt man primär die Erhöhung der Signalintensität. Die Verbreiterung ist wegen der Zeitauflösung von 15s nicht so deutlich. Die Chromatogramme sind in Abb. 4.15 ebenfalls gegen die Elutionszeit aufgetragen.

4. Methodenentwicklung

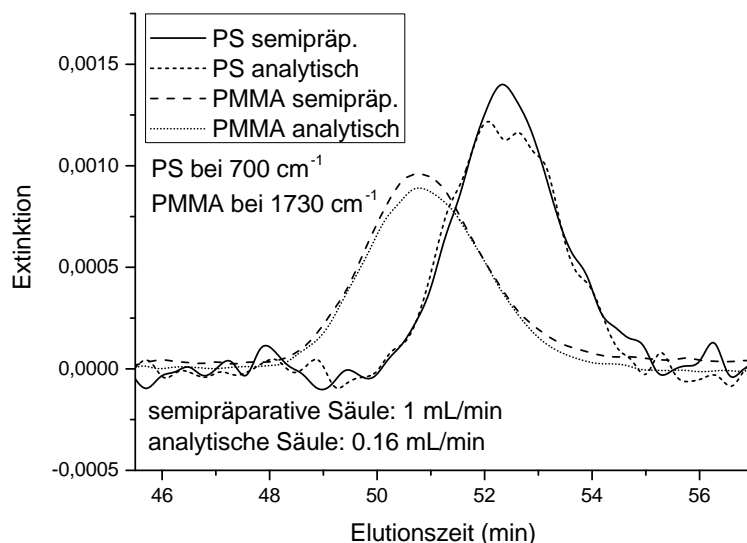


Abbildung 4.15.: Vergleich von analytischer und semipräparativer Säule an Hand der FTIR-Chromatogramme. Auf Grund des erhöhten Rauschens und der geringeren Datenpunktdichte ist die Bandenverbreiterung nicht so deutlich zu erkennen wie in den DRI-Signalen (vgl. Abb. 4.14). GPC-Parameter: $M_w(\text{PS}) = 8900 \text{ g/mol}$, $PDI(\text{PS})=1,03$, $M_w(\text{PMMA}) = 12,5 \text{ kg/mol}$, $PDI(\text{PMMA})=1,03$, SDV, linear S Säule mit identischem Trennmateriale und unterschiedlichen Dimensionen, injizierte Masse 1 mg auf semipräparative Säule und 0,16 mg auf analytische Säule.

Durch Anpassen der Säulendimensionen kann das $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ um ca. 5 % verbessert werden, was einer Messzeitersparnis von etwa 9 % entspricht.

4.4.3. Überladung

Die größte Herausforderung bei der GPC-IR-Kopplung ist der große Unterschied von GPC und Spektroskopie in Bezug auf die Konzentration der Probe. Bei der Spektroskopie führt eine höhere Konzentration immer zu einem besseren Signal-zu-Rausch-Verhältnis. Deshalb ist es sinnvoll die größtmögliche Probemenge zu injizieren, die in der GPC trennbar ist. Eine Erhöhung der Konzentration führt jedoch zu einer schlechteren GPC-Trennung und damit zu einer unerwünschten Verbreiterung der GPC-Peaks (vgl. Kap. 2.2.3). Der Effekt wird stark von der Probe selbst und deren Molekulargewichtsverteilung beeinflusst. Daher ist dieser schwer abschätzbar und es lässt sich kein generelles Limit festlegen. Folglich werden in der Literatur und von Säulenherstellern Grenzwerte mit einer gewissen Sicherheit angegeben. Normalerweise wird ca. 0,1 mg Probe auf eine analytische Säule injiziert. Bei semipräparativen Säulen liegt der Fokus mehr auf der Substanzmenge, als auf guter Trennung, weshalb

4. Methodenentwicklung

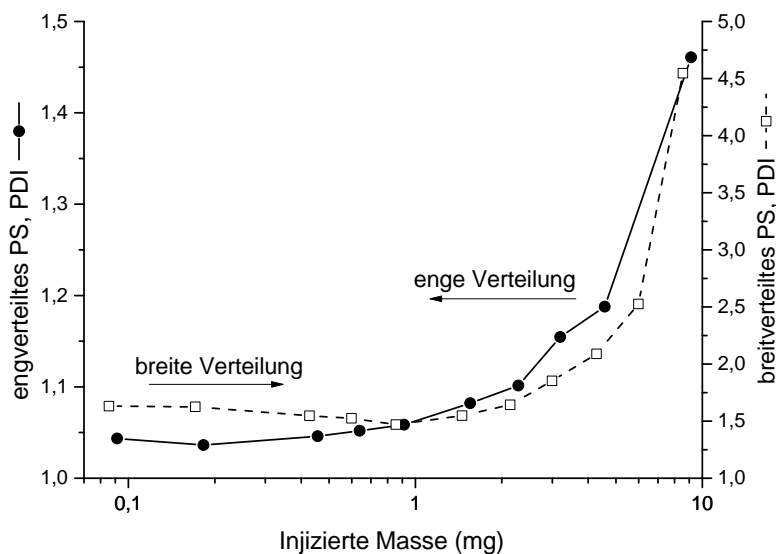


Abbildung 4.16.: Überladung, gezeigt an der Veränderung des gemessenen PDI abhängig von der injizierten Masse. Bei engverteilten Proben (z.B. $PDI = 1,03$) wirkt sich eine Überladung früher aus als bei breiter verteilten Proben. Da breite Proben durch die GPC-Auftrennung stärker verdünnt werden, ist bei engen Proben die lokale Konzentration in der Säule viel höher und die Überladung wirkt sich stärker aus. GPC-Parameter: $M_w(\text{PS}_{eng}) = 8900 \text{ g/mol}$, $PDI(\text{PS}_{eng})=1,03$, $M_w(\text{PS}_{breit}) = 10 \text{ kg/mol}$, $PDI(\text{PS}_{breit})=1,7$, analytische (8 mm \times 300 mm) SDV-Säule, linear S, THF bei 1 mL/min.

meist 1 mg Probe aufgetragen wird. Der tatsächliche Grenzwert der Probenmenge liegt höher und es kann daher sinnvoll sein diesen in der Kopplung für jede Probe individuell über eine Konzentrationsreihe (oder unterschiedliche injizierte Massen über unterschiedliche Injektvolumina) zu bestimmen um ein bestmögliches S/N bei optimaler Trennung zu erhalten.

Als Maß für die Verbreiterung kann der gemessene PDI dienen. Um diesen Sachverhalt zu verdeutlichen wurde eine PS-Probe mit einem angegebenen PDI von 1,03 mit verschiedenen Injektvolumina und damit verschiedenen injizierten Massen auf einer GPC Säule (analytisch, linear S) in THF bei 1 mL/min getrennt. Die Chromatogramme wurden mit einer PS-Kalibrierung über die Software *WinGPC* (*PSS GmbH*, Mainz) ausgewertet und die PDI -Werte berechnet. Analog wurde mit einer zweiten, breiter verteilten PS-Probe verfahren, deren PDI bei ca. 1,7 lag. Die erhaltenen PDI -Werte wurden gegen die injizierte Masse aufgetragen. Zur besseren Vergleichbarkeit sind beide Kurven mit unterschiedlichen Achsen für den PDI in Abb. 4.16 dargestellt. Dabei beginnt die Achse jeweils bei $PDI = 1$, was einer Uneinheitlichkeit von $U = 0$ entspricht. Man erkennt für den PDI der engverteil-

4. Methodenentwicklung

ten Probe schon bei niedrigen Säulenbeladungen einen Anstieg abhängig von der injizierten Polymermenge. Der *PDI* des breiter verteilten Polymers bleibt hingegen über einen weiten Bereich (bis ca. 2 mg) relativ konstant und steigt erst bei höheren Massen stark an. Der Grund hierfür ist, dass für enge Verteilungen die lokale Konzentration in der Säule immer höher ist und daher Überladungseffekte stärker zur Geltung kommen (s. Kap. 2.2.3).

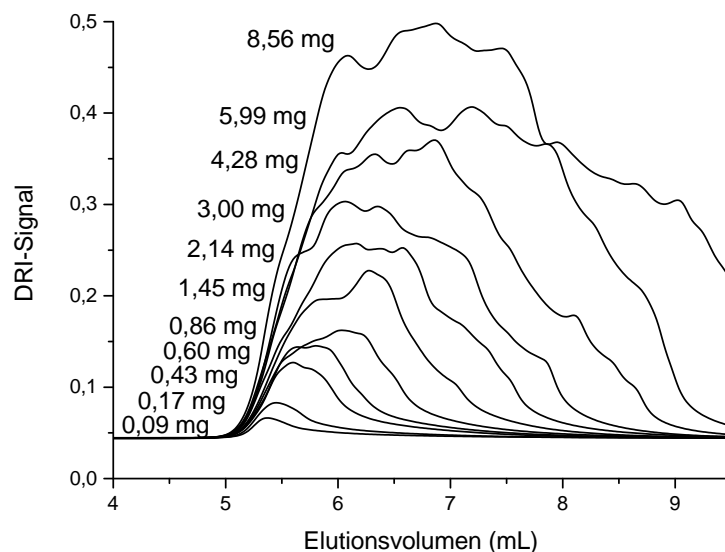


Abbildung 4.17.: Chromatogramme des breitverteilten Polystyrols abhängig von der injizierten Masse. Schon ab 0,43 mg injizierte Masse ist eine Schulter im Peak und damit eine Abweichung von der eigentlichen Form des Chromatogramms zu erkennen. Der *PDI* (vgl. Abb. 4.16) ändert sich hier noch nicht. GPC-Parameter: $M_w(\text{PS}) = 10 \text{ kg/mol}$, $PDI(\text{PS})=1,7$, analytische (8 mm \times 300 mm) SDV-Säule, linear S, THF bei 1 mL/min.

Der *PDI* allein ist allerdings ein eher ungeeignetes Maß für die Überladung. Geringe Überladungen können meist sehr gut an Hand einer qualitativen Betrachtung des Chromatogramms erkannt werden. Es zeigen sich häufig Schultern oder ähnlichen Verzerrungen der Peakform. Kleine Schultern tragen zu den Mittelwerten M_w und M_n und damit zum *PDI* nur wenig bei. Je nach Kalibrierkurve kann auch eine Verschiebung des Peaks über falsche Molmassen zu einem kaum veränderten *PDI* führen. Daher sollte neben dem *PDI* auch immer eine qualitative Chromatogramm-Betrachtung am besten mittels eines Vergleichs mit einem Chromatogramm bei sehr niedriger Konzentration erfolgen. Zur Beurteilung der Überladung genügen Konzentrationsdaten aus z.B. DRI- oder UV-Detektion. Eine chemisch sensitive Detektion ist dazu nicht erforderlich. Die Nutzung eines DRI- oder UV-Detektors zeitgleich zur FTIR-Detektion als Referenz ist deshalb sehr empfehlenswert. Um die Verän-

4. Methodenentwicklung

derung der Form des Chromatogramms zu verdeutlichen sind die Elugramme des breitverteilten Polystyrols aus den oben beschriebenen Experimenten in Abb. 4.17 aufgetragen. Schon im Chromatogramm bei 0,43 mg injizierter Masse sind Schultern zu erkennen, obwohl der *PDI*, ein relatives Maß, noch nicht abweicht.

Nimmt man eine Abweichung von maximal 20 % sowohl für den *PDI* als auch für die Bestimmung des Molekulargewichts in Kauf, so konnte in unseren Experimenten die Säule immer um mindestens Faktor 7 – gegenüber der Herstellerempfehlung von 0,1 mg für analytische Säulen – überladen werden.

In der GPC-Kopplung mit Spektroskopie ist oft nicht die Molmasse oder die tatsächliche Größenverteilung das eigentliche Ziel der Messung, da diese durch GPC mit z.B. Lichtstreu- und DRI-Detektion genauer bestimmt werden können. Gekoppelte Messungen werden durchgeführt, um die Verteilung der chemischen Zusammensetzung zu bestimmen (vgl. Kap. 5.1.2). Der Einfluss der injizierten Masse auf solche Auswertungen von gekoppelten Messungen wurde ebenfalls mit einer Konzentrationsreihe untersucht. Diese werden nach der allgemeinen Vorstellung der Berechnung der Verteilung der chemischen Zusammensetzung im Kapitel 5.1.2 gezeigt. Dort findet sich auch eine empfohlene Vorgehensweise zur Bestimmung des Überladungslimits bei gekoppelten Messungen mit FTIR-Spektroskopie.

4.5. Evaluierung des QCL Spektrometers

Wie in Kapitel 2.1 beschrieben, ist für die Güte von zeitaufgelösten Messungen das Signal-zu-Rausch-Verhältnis dividiert durch die Wurzel der Messzeit ($\frac{S/N}{\sqrt{t}}$) eine Kenngröße für die Sensitivität. Da für die Kopplung mit Gelpermeationschromatographie bestmögliche Sensitivität benötigt wird, wurde untersucht, ob mit einer stärkeren Lichtquelle – einem Quantenkaskadenlaser – im Spektrometer ein besseres *S/N* für die gekoppelte Methode erhalten werden kann.

Das verwendete EC-QCL-Spektrometer ist ein Testgerät, welches von der Firma *Bruker* hergestellt wurde. Der darin verbaute Laser ist eine Spezialanfertigung des *Fraunhofer Instituts IAF*.

Alle Messparameter des EC-QCL-Spektrometers wurden bezüglich ihres Einflusses auf das $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ untersucht. Diese Experimente erfolgten analog zu den Arbeiten am FTIR-Spektrometer. Die Evaluierung des EC-QCL-Spektrometers wurde unter der Anleitung des Autors von *Sascha Morlock* im Rahmen eines „Vertiefungspraktikums“ während seines Masterstudiums im Fach Chemie durchgeführt.^[148]

4.5.1. Aufbau des EC-QCL Spektrometers

Die Besonderheit des Spektrometers ist der Einsatz von zwei pyroelektrischen Detektoren aus Lithiumtantalat (LiTaO_3). Damit ist es möglich die Laserintensität simultan zum Messsignal aufzuzeichnen, wodurch Fluktuationen kompensiert werden können. Im Aufbau, der in Abb. 4.18 schematisch gezeigt ist (ein Foto findet sich im Anhang auf S. 121), ist dafür ein Strahlteiler aus CaF_2 notwendig, über den ein Teilstrahl direkt auf den ersten Detektor, den Referenzdetektor, reflektiert wird. Der Hauptteil des Strahls wird durch die Flusszelle auf einen Spiegel geführt und von dort auf den Signaldetektor reflektiert. Als Flusszelle kommt die für die GPC-FTIR-Kopplung optimierte Transmissionzelle zum Einsatz (s. Kap. 4.2.3), wobei ein $100\ \mu\text{m}$ dicker Abstandshalter verwendet wurde. Einen Großteil des Innenraums nimmt die Elektronik zur Laseransteuerung und zur Datenaufnahme ein.

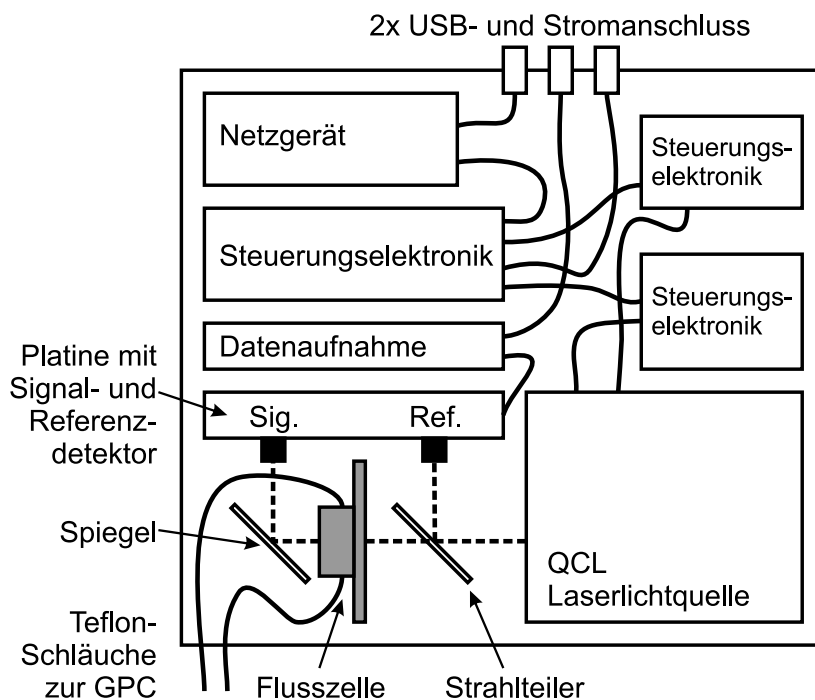


Abbildung 4.18.: Das Spektrometer mit EC-Quantenkaskadenlaser Lichtquelle schematisch dargestellt: Der IR-Strahl des EC-QCLs wird mit einem Strahlteiler aus CaF_2 geteilt. Der schwächere Teilstrahl wird als Referenz direkt auf einen Detektor geführt. Der Hauptteil des Lichts wird zuerst durch die Flusszelle und dann über einen Spiegel auf einen zweiten Detektor geleitet. Einen Großteil des Innenraums im Spektrometer nimmt die Elektronik zur Ansteuerung und zur Datenaufnahme ein. Ein Foto des Spektrometerinnenraums findet sich im Anhang auf S. 121.

Der QCL selbst ist mit einem externen Resonator im sog. *Littrow*-Aufbau, d.h. mit einem drehbaren Gitter ($g = 1/150\ \text{mm}$) zur Frequenzselektion, ausgestattet. Das

4. Methodenentwicklung

Lasermaterial wird auf 22 °C temperiert. Der Laser wird mit 400 kHz gepulst betrieben, wobei die Pulslänge 200 ns beträgt. Damit liegt der Duty Cycle bei 8%. Für den Lock-In-Verstärker wird das Signal zusätzlich mit 300 Hz moduliert. Der Laser kann über einen Bereich von 300 cm⁻¹ zwischen 1090 cm⁻¹ und 1390 cm⁻¹ durchgestimmt werden. Die Intensität des Lasersignals ist wellenzahlabhängig. Um diesen Sachverhalt zu verdeutlichen ist in Abb. 4.19 ein am Referenzdetektor aufgenommenes Spektrum gezeigt. Die Datenaufnahme sowie die Gerätesteuerung erfolgen mit einem von der Firma *Bruker* entwickelten *LabView*-Programm. Darüber lassen sich die Scangeschwindigkeit, d.h. die Drehgeschwindigkeit des Gitters bis zu 30 cm⁻¹/s, der Lock-In sowie die Spektrenbreite wählen. Die gemessenen Datenpunkte werden von der Software automatisch zu einer Auflösung von 0,2 cm⁻¹ interpoliert.

Als Flusszelle kam die Transmissionszelle aus Kap. 4.2.3 mit einem 100 µm dicken Teflon-Spacer und CaF₂-Fenstern zum Einsatz. Die ATR-Zellen haben eine zu große Ausdehnung und passen daher nicht in das EC-QCL-Spektrometer. Für ATR-Messungen mit einem Quantenkaskadenlaser wären auch viel mehr Reflexionen (> 50) nötig bzw. sinnvoll, um die höhere Strahlungsleistung voll auszunutzen. Die Transmissionszelle mit unterschiedlich dicken Abstandshaltern ist daher gut für das EC-QCL-Spektrometer geeignet. Über einen austauschbaren Widerstand auf der Detektorplatine kann zudem die Verstärkung des Signaldetektors reguliert und auf die Schichtdicke angepasst werden.

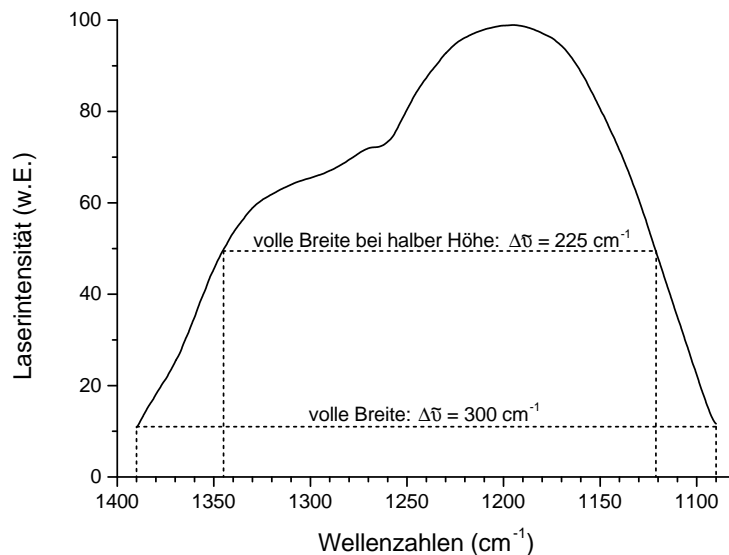


Abbildung 4.19.: Das Spektrum des EC-Quantenkaskadenlasers aufgezeichnet am Referenzdetektor. Es entspricht im Prinzip einem Einkanalspektrum des Hintergrunds in der klassischen Infrarotspektroskopie, wird aber immer zeitgleich mit dem tatsächlichen Spektrum aufgenommen.

4.5.2. Optimierung der Messparameter

Im Rahmen des Vertiefungsprojekts, wurden die Parameter, die über die Software veränderbar sind, ausführlich evaluiert. Dies sind die Grenzen des Spektralbereichs sowie die Drehgeschwindigkeit des Gitters (angegeben als Scangeschwindigkeit in cm^{-1}/s), außerdem die Lock-In-Zeit.

Gemessen wurden statische Lösungen (d.h. ohne Durchfluss in der Messzelle), entweder reines Wasser oder eine wässrige Polyethylenglycol-Lösung (PEG) mit einer Konzentration von ca. 1 g/L, mit unterschiedlichen Spektrometereinstellungen. Es wurden immer mehrere Spektren (> 20) nacheinander aufgenommen, sodass das Rauschen definitionsgemäß (s. Kap. 2.1) in Zeitrichtung bestimmt werden konnte. Als Signal wurde meist ein PEG-Peak bei ca. 1255 cm^{-1} ausgewertet, sodass $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ - Werte verglichen werden konnten. Spektren für PEG in Wasser sind in Abb. 5.15 gezeigt.

In den Experimenten wirkte sich die Breite des Spektrums erwartungsgemäß linear auf die Messzeit aus, sodass in einem schmaleren Spektrum ein besseres $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ erhalten wird. Bei einer Drehbewegung wäre für einen schmaleren Bereich eine Abhängigkeit der Messzeit von der Anfangswellenzahl denkbar, d.h. dass z.B. ein Spektrum zwischen 1100 cm^{-1} und 1150 cm^{-1} schneller (oder langsamer) gemessen werden könnte als ein gleich breites Spektrum zwischen 1300 cm^{-1} und 1350 cm^{-1} . Ein solcher Zusammenhang wurde nicht gefunden. Da der Spektralbereich des EC-QCLs mit 300 cm^{-1} für einen EC-QCL zwar sehr breit, verglichen mit dem FTIR aber sehr schmal ist, ist eine Beschneidung des Spektralbereichs bei der Kopplung mit GPC auf Grund des Verlusts an spektraler Information nur in Ausnahmefällen sinnvoll. Im Gegensatz zur FTIR Spektroskopie konnte für höhere Scangeschwindigkeiten keine starke Zunahme des Rauschens gemessen werden. Möglicherweise existiert ein Optimum außerhalb des einstellbaren Bereichs. Für zeitaufgelöste Messungen ist jedenfalls die höchste Scangeschwindigkeit am besten. Das Spektrometer kann bis zu $30 \text{ cm}^{-1}/\text{s}$ messen, für ein komplettes Spektrum werden damit ca. 10s benötigt. Die Lock-In-Zeit führt zu einer Glättung in spektraler Richtung. Wird sie erhöht erhält man ein glatteres Spektrum, auf das Rauschen in Zeitrichtung zeigte sich ein eher untergeordneter Einfluss. In Zeitrichtung zeigten sich für den Scan-Modus sehr starke Drifts. In sehr langen Messreihen, bei denen reines Wasser mit einer niedrigen Flussrate durch die Messzelle gepumpt wurde, trat eine Stabilisierung erst nach ca. 5 h ein. In Abbildung 4.20 sind die Änderungen der Intensität $I(t)$ analog zu Extinktionswerten relativ zu $I(t_0)$ für verschiedene Wellenzahlen gegen die Zeit aufgetragen. Die Frequenzabhängigkeit der Drifts, die auf einen Einfluss durch die Gitterbewegung im Laser hindeutet, wurde nicht genauer untersucht. Für den Be-

4. Methodenentwicklung

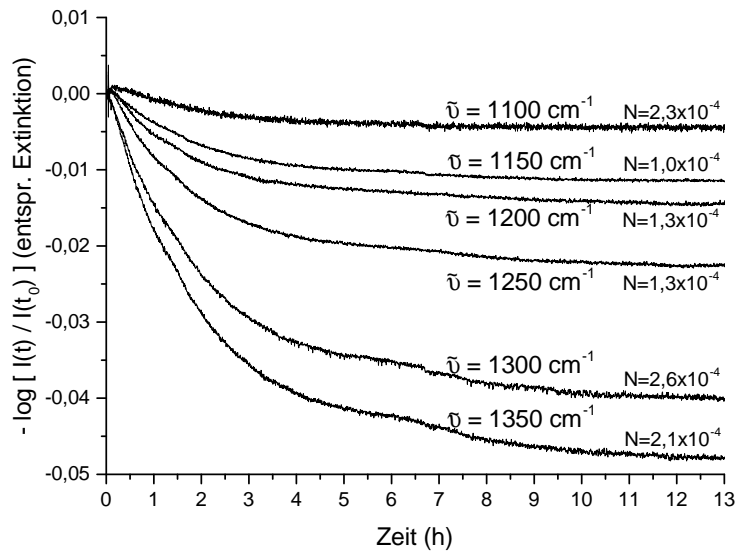


Abbildung 4.20.: Um die Drifts des EC-QCL-Spektrometers im Scan-Modus zu zeigen, wurde die zeitabhängigen Intensitätswerte $I(t)$ als $-\log \left(\frac{I(t)}{I(t_0)} \right)$ gegen die Zeit t aufgetragen. Nach etwa 5 h trat ein stabiler Zustand ein. Die Frequenzabhängigkeit, die Ursachen und die Möglichkeiten, diese Drifts zu beeinflussen oder zu korrigieren, müssen noch untersucht werden. Für den Bereich zwischen 9 h und 12,5 h wurden Rauschwerte als Standardabweichung bestimmt. Diese liegen etwa eine Größenordnung höher als beim FTIR-Spektrometer. Durch höhere Signalintensitäten sind die S/N -Werte (vgl. z.B. Abb. 5.1 und Kap. 5.3) aber ähnlich.

reich zwischen 9 h und 12,5 h wurden die Rauschwerte N als Standardabweichung bestimmt. Sie liegen etwa eine Größenordnung über den Werten des FTIR-Spektrometers (vgl. z.B. Abb. 5.1), jedoch erreicht man mit dem QCL-Spektrometer auch höhere Signalintensitäten für die Polymere, sodass die S/N -Werte vergleichbar sind (s. Kap. 5.3). In wie weit diese Drifts durch Veränderungen am Versuchsaufbau beeinflusst oder mathematisch korrigiert werden können (vgl. Kap. 4.3) muss noch genauer untersucht werden. Ebenso wurde der Einfluss der Schichtdicke in der Zelle und der Einfluss des Widerstands der Detektorverstärkung bislang nicht untersucht.^[148]

4.5.3. S/N Vergleich mit FTIR, Scan Mode, SW Mode

Das EC-QCL-Spektrometer wurde im Scan-Modus, wobei volle Spektren gemessen wurden, und im „single wavelength“ (SW) Modus mit dem FTIR-Spektrometer im ATR-Modus verglichen. Dazu wurden zeitabhängige Messungen durchgeführt, die wie folgt gestaltet wurden um mit einer GPC-Messung vergleichbar zu sein. Zuerst

4. Methodenentwicklung

wurde reines Lösungsmittel in der Zelle vorgelegt, welches während der Messungen mit einer Spritze durch eine PEG-Lösung mit einer Konzentration von $c \approx 1 \text{ g/L}$ ersetzt wurde. Nach einer gewissen Zeit wurde wieder reines Lösungsmittel eingefüllt und so ein GPC-Peak simuliert. Dieses Vorgehen lies sich nicht in allen drei Messmodi identisch umsetzen, sodass die Zeiten im Ablauf z.T. leicht abwichen. Ausgewertet wurden nicht die Flanken, die oft unterschiedlich waren, sondern der Plateauwert des Signals bei 1120 cm^{-1} .

Spektrometer	FTIR	EC-QCL im Scan-Modus	EC-QCL im SW-Modus ¹
bestes $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ im Spektrum	$28,7 \text{ s}^{-1/2}$	$49,5 \text{ s}^{-1/2}$	$221,5 \text{ s}^{-1/2}$
$\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ bei 1120 cm^{-1}	$14,4 \text{ s}^{-1/2}$	$37,7 \text{ s}^{-1/2}$	$221,5 \text{ s}^{-1/2}$

Tabelle 4.5.: Die ermittelten $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ -Werte für die beiden Spektrometer FTIR und EC-QCL im Scan-Modus sowie „single wavelength“ SW-Modus im Vergleich. Gemessen wurde eine PEG Lösung mit $c = 1 \text{ g/L}$ als Signal und Rauschen zeitabhängig mit reinem Wasser.

Tabelle 4.5 stellt die erhaltenen $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ -Werte für die verschiedenen Geräte und Modi gegenüber. Zudem wurden die jeweils besten $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ -Werte aus dem Gesamtspektrum aufgetragen. Im Falle des SW-Modus gab es kein Spektrum, die gemessene Frequenzlinie bei 1120 cm^{-1} wurde aber bereits im Vorfeld an Hand des Spektrums aus dem Scan-Modus so gewählt, dass ein Sensitivitätswert nahe des Optimums erhalten wird.^[148]

¹Es wurde nur bei 1120 cm^{-1} gemessen. Nach den Ergebnissen aus dem Scan-Modus zu urteilen liegt dies nahe am maximalen Wert, ein Optimum bei einer anderen Frequenz ist aber möglich.

5

Exemplarische Anwendungen

In diesem Kapitel sollen mit einigen Beispielen die Anwendungsmöglichkeiten der in dieser Promotion neu entwickelten Kopplungsmethode vorgestellt werden. Im Kapitel 5.1 werden Anwendungen für die GPC mit FTIR-Detektion gezeigt, sowie die Grenzen dieser Methode beleuchtet. Anschließend werden Ergebnisse vorgestellt, die während eines Auslandsaufenthalts in Wien erhalten wurden. Dort wurden die Gehalte von verschiedenen Zuckern in Getränken mit LAC und EC-QCL-Detektion untersucht. Dies war die erstmalige Kopplung von Chromatographie und einem EC-QCL. Im letzten Kapitel wird eine Kopplung von GPC-FTIR und EC-QCL gezeigt. Somit kann ein direkter Vergleich zwischen den Methoden gezogen werden.

5.1. GPC-FTIR

Bei der Entwicklung der GPC-FTIR-Kopplung wurde versucht einen chemisch sensitiven Detektor zu entwerfen, der möglichst universell und online anwendbar ist. Im Prinzip kann damit jedes Polymer in jedem beliebigen Lösungsmittel nach der GPC-Auftrennung nicht nur detektiert, sondern auch quantifiziert und gleichzeitig identifiziert werden. Diese drei Einsatzbereiche sollen in den folgenden Kapiteln beleuchtet werden. Zuerst wird an der Mischung eines PS-PMMA-Blends die Substanzidentifikation demonstriert (s. Kap. 5.1.1). Anschließend wird an einem PS-PMMA-Copolymer gezeigt, wie die Anteile quantifiziert werden und die Verteilung

5. Exemplarische Anwendungen

der chemischen Zusammensetzung berechnet werden kann. In bestimmten Fällen ist der TIMO-Detektor auch für die reine Detektion nützlich. Liegt ein sog. isorefraktives Polymer-Lösungsmittel-Paar vor so versagen DRI- und Lichtstreuendetektor, ist das Polymer zusätzlich UV-inaktiv kann nur der TIMO-Detektor genutzt werden (s. Kap. 5.1.3).

Anschließend sollen die Grenzen der Kopplungsmethode beleuchtet werden. In Kap. 5.1.4 werden Messungen von PEG in THF und PS in Toluol als Beispiele für Polymer-Lösungsmittel-Kombinationen gezeigt, die ein sehr ähnliches Infrarotspektrum haben, also schwierig zu unterscheiden sind. Trotz der Limitierung der Selektivität konnte für alle Beispiele eine Frequenzlinie gefunden werden, mit der das gewünschte Polymer identifiziert und quantitativ detektiert werden kann. Das größere Problem der Methode ist die Sensitivität. Um auch hier die Grenze zu beleuchten wird eine Konzentrationsreihe von Butadienen gezeigt. Diese sind wegen ihres geringes Dipolmoment und der daraus resultierenden geringen Peakintensität nur schwer detektierbar. Nahe der Überladungsgrenze können jedoch auch diese nachgewiesen werden.^[145]

5.1.1. Substanzidentifikation

Infrarotspektroskopie wird in vielen Fällen zur Identifikation von Substanzen eingesetzt. Durch die sehr charakteristische Kombination und Überlappung von vielen Peaks im Fingerprintbereich können fast alle chemischen Substanzen an Hand ihres Infrarotspektrums eindeutig identifiziert werden. Da die Zuordnung der einzelnen Peaks zu den entsprechenden Schwingungen sehr komplex und meist nur mit Quantenmechanischen Rechnungen durchführbar ist, werden bevorzugt Vergleiche mit Bibliotheksspektren vorgenommen.

Im Allgemeinen ist es nicht nötig ein detailreiches Spektrum auch aus der mit GPC gekoppelten Messung zu erhalten. Wird ein solches Spektrum benötigt kann sinnvoller im Bulk oder hoch konzentrierten Lösungen gemessen oder die Probe sogar fraktioniert werden. In der gekoppelten Messung genügt es, wenn die Komponenten über das Spektrum eindeutig zugeordnet werden können. Die Einflüsse durch die Lösungsmittelunterdrückung (s. Kap. 4.3.4) und das schlechtere Signal-zu-Rausch-Verhältnis können daher akzeptiert werden. Nichtsdestotrotz werden Spektren erhalten, die gut genug sind, um auch unbekannte Komponenten bestimmen zu können. Der Aufbau einer entsprechenden Spektrenbibliothek ist für die Zukunft denkbar.

Um das generelle Vorgehen bei der TIMO-GPC-Detektion zu demonstrieren, wurde ein PS-PMMA-Blend ($M_w(\text{PS}) = 8900 \text{ g/mol}$, $PDI(\text{PS}) = 1,03$, $M_w(\text{PMMA}) = 90,6 \text{ kg/mol}$, $PDI(\text{PMMA}) = 1,04$) analysiert. Die gleiche Polymermischung wurde

5. Exemplarische Anwendungen

bereits in der Diplomarbeit^[47] untersucht und das Ergebnis ist auch in [137] veröffentlicht. Das Experiment hier wurde so durchgeführt, dass die Ergebnisse verglichen werden können und daran die Entwicklung der Methode abgelesen werden kann. Von dem genannten Blend wurde 1 mg auf eine semipräparative (20 mm × 300 mm) SDV Säule vom Typ linear M (*PSS Polymer Standards Service GmbH*, Mainz) injiziert und dort in THF bei 1 mL/min getrennt. Die injizierte Masse liegt damit deutlich unter dem Überladungslimit. Die im TIMO-Detektor mit der 6-fach ATR-Zelle mit 170 μL Totvolumen gemessenen Daten sind als Konturplot in Abb. 5.1 gezeigt. Aus diesen Daten lassen sich Chromatogramme für die beiden Komponenten extrahieren, die z.T. in den Konturplot integriert wurden. Für das Polystyrol ist bei 700 cm^{-1} die Phenylschwingung sehr charakteristisch, PMMA hingegen wird am besten bei 1735 cm^{-1} an Hand der Carbonylschwingung detektiert. Auch weitere charakteristische Chromatogramme lassen sich entnehmen und damit die Peaks des DRI-Signals, welches als Referenz ebenfalls gezeigt ist, eindeutig zuordnen. Alleine aus den DRI-Daten ist eine Zuordnung der Peaks nicht möglich. Zu beachten ist ferner, dass die Chromatogramme außer der Rauschreduzierung der TIMO-Software keine weitere Glättung erfahren haben und dennoch ein sehr niedriges Rauschlevel im Bereich 1×10^{-5} aufweisen.

Dem gezeigten Konturplot können prinzipiell auch Infrarotspektren entnommen werden. In Abb. 5.2 sind die Schnitte bzw. Spektren am jeweiligen chromatographischen Peakmaximum der Messung gezeigt. In den Spektren können auch die in Kap. 4.3.4 aufgezählten störenden Einflüsse erkannt werden: CO_2 -Signale, negative Lösungsmittelpeaks und ein erhöhtes Rauschlevel bei höheren Wellenzahlen. Trotzdem genügt die Qualität zur eindeutigen Identifizierung. Zum Vergleich sind in Abb. 5.2 ATR-Spektren der pulverförmigen Feststoffe gezeigt. Diese wurden auf einer *MIRacle* ATR-Einheit mit einem Diamant-Kristall für eine interne Reflexion von der Firma *PIKE Technologies* (Madison, WI, USA) gemessen.

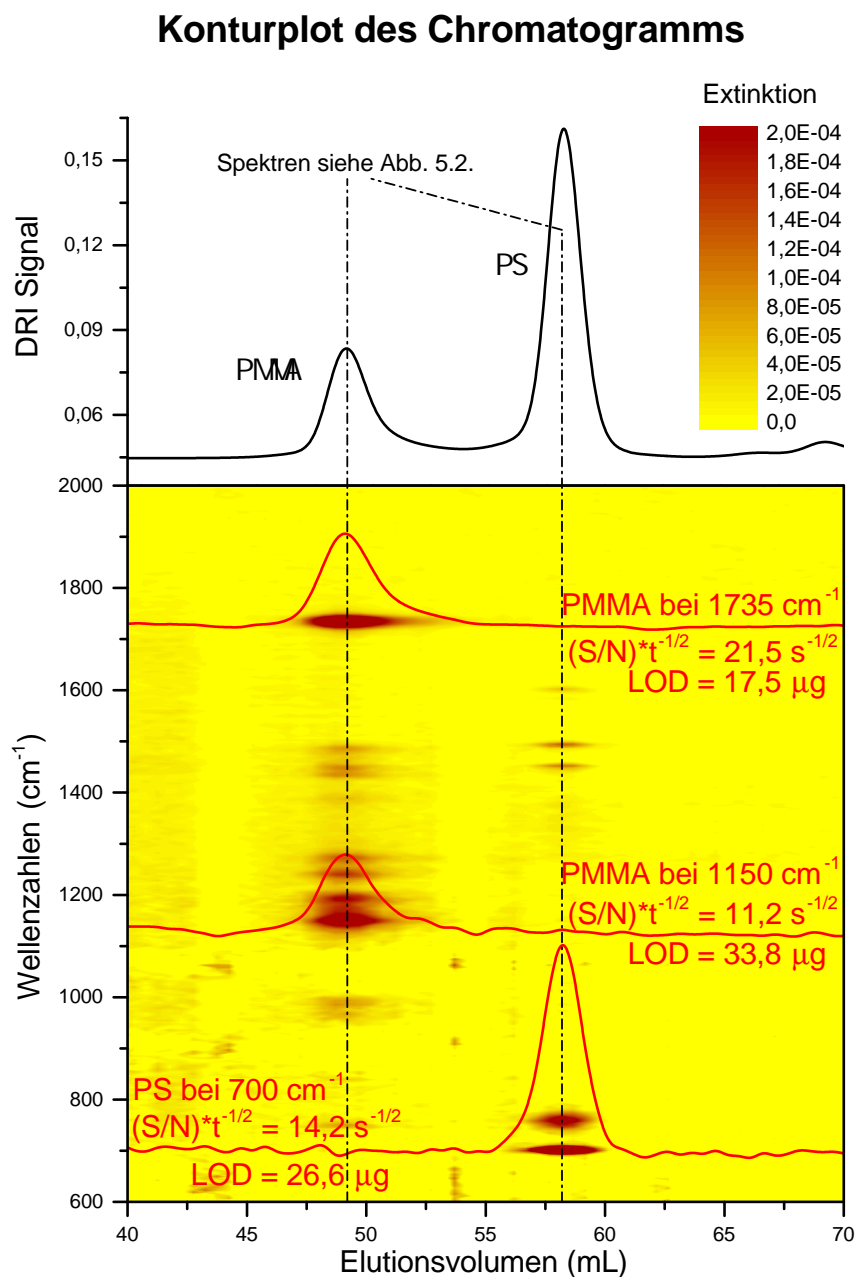


Abbildung 5.1.: Die GPC-Trennung (semipräparative linear M Säule, THF bei 1 mL/min) einer Mischung aus 0,5 mg PS ($M_w = 8900$ g/mol, $PDI = 1,03$) und 0,5 mg PMMA ($M_w = 90,6$ kg/mol, $PDI = 1,04$) wurde mit dem TIMO-Detektor (6-fach ATR-Zelle mit 170 µL) aufgezeichnet und die zweidimensionalen Daten als Konturplot dargestellt. Die injizierte Masse liegt in diesem Fall unterhalb der Überladungsgrenze, durch das extrem niedrige Rauschlevel im Bereich von 1×10^{-5} wurden dennoch ausreichende S/N -Werte erreicht. Für die beiden Komponenten lassen sich spezifische Chromatogramme aus den Daten extrahieren (z.B. bei 700 cm⁻¹, 1150 cm⁻¹ und 1735 cm⁻¹), mit denen die Peaks des DRI-Detektors den Komponenten zugeordnet werden können. Spektren können analog als Schnitte in Frequenzrichtung an den chromatographischen Peakmaxima entnommen werden, sie sind in Abb. 5.2 gezeigt. Eine sehr ähnliche Messung wurde in der Diplomarbeit^[47] durchgeführt und auch in [137] vorgestellt. Ein Vergleich zeigt den Fortschritt der Methodenentwicklung.

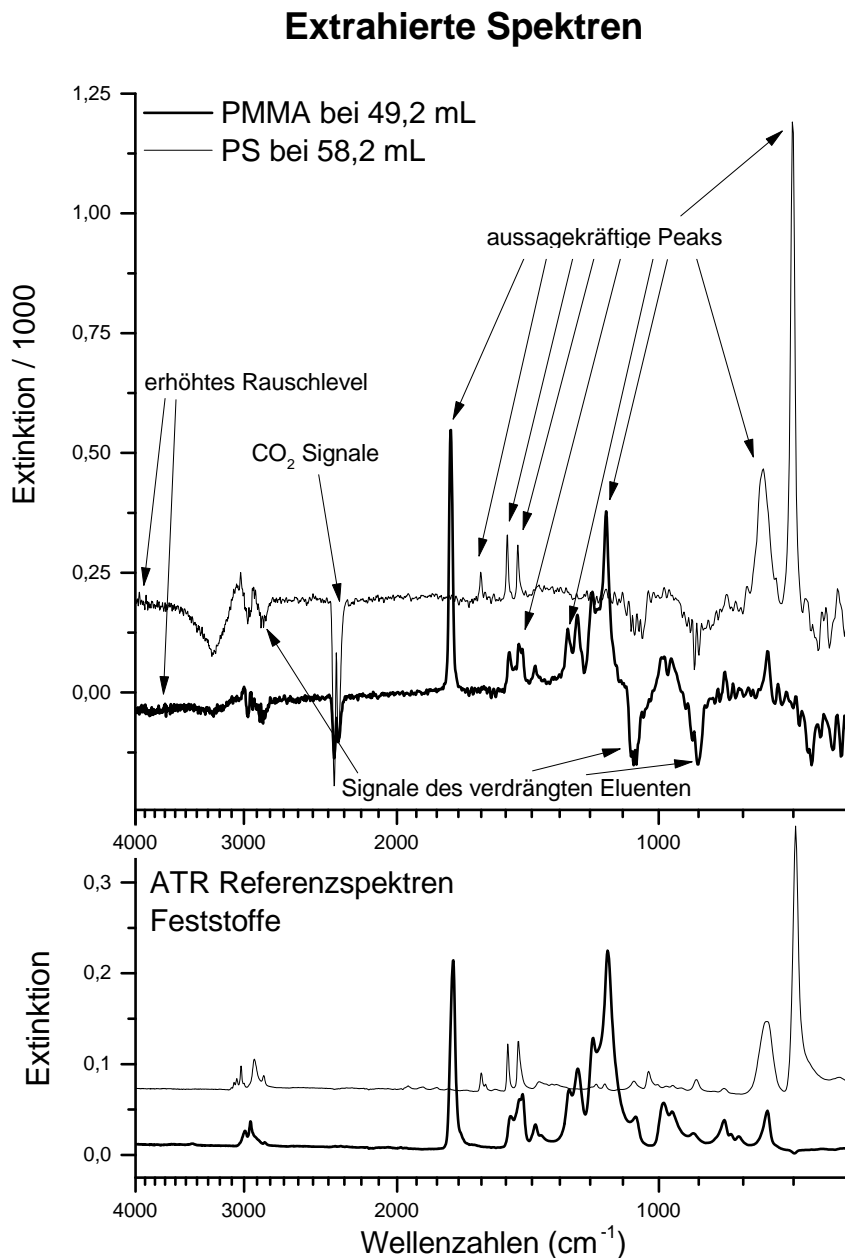


Abbildung 5.2.: Aus einem 2D-Chromatogramm (Abb. 5.1) lassen sich als Schnitte an den chromatographischen Peakmaxima Spektren entnehmen, die auf verschiedene Arten von der Lösungsmittelunterdrückung beeinflusst werden (s. Kap. 4.3.4). Sie haben ausreichende Qualität um damit über einen Vergleich mit ATR-Feststoff-Spektren das jeweilige Polymere eindeutig zu identifizieren. GPC-Trennung: 0,5 mg PS ($M_w = 8900 \text{ g/mol}$, $PDI = 1,03$) und 0,5 mg PMMA ($M_w = 90,6 \text{ kg/mol}$, $PDI = 1,04$) auf einer semipräparative linear M Säule mit THF bei 1 mL/min. TIMO-Detektor: 6-fach ATR-Zelle mit 170 μL .

5.1.2. Verteilung der chemischen Zusammensetzung

Die reine Identifizierung (vgl. Kap. 5.1.1) von GPC-Peaks kann auch sehr gut mit der offline GPC-IR-Kopplung (s. Kap. 3.3.1) durchgeführt werden, die oft detailreichere Spektren liefert. Im Feststoff ist allerdings die Quantifizierung nicht möglich. Mit dem TIMO-Detektor wird in Lösung gemessen, was eine Quantifizierung erlaubt. Eine Alternative ist nur das Multi-Detektor-Verfahren. Dabei wird das unterschiedliche Ansprechverhalten von Konzentrationsdetektoren auf verschiedene Polymere genutzt, um auf das Verhältnis zu schließen.^[149,150] Diese Auswertungsmethode ist als „Copolymer-Modul“ z.B. in die *WinGPC*-Software der *PSS GmbH* implementiert. Dabei ist für jede Komponente ein zusätzlicher Detektor nötig. Das FTIR-Spektrometer zeichnet für jede Frequenz ein Chromatogramm auf und entspricht daher im Prinzip sehr vielen gleichzeitig eingesetzten Konzentrationsdetektoren. In den meisten Fällen findet man für jede Komponente eine spezifische Wellenzahl, theoretisch genügt bei einer Auswertung wie beim Multi-Detektor-Verfahren auch eine unspezifische Wellenzahl, bei der Peaks oder deren Schultern von mehreren Komponenten auftreten.

Um diese spezifischen Frequenzlinien für Copolymere oder Blends zu quantifizieren müssen sie kalibriert werden, da die Intensität vom Extinktionskoeffizienten abhängt, der nicht vorhergesagt werden kann. Dazu ist entweder eine Konzentrationsreihe der einzelnen Komponenten der Probe nötig oder man kennt die Gesamtzusammensetzung der Probe. Diese kann beispielsweise über NMR-Spektroskopie bestimmt werden. Das Integral des chromatographischen Peaks auf einer Frequenzlinie bei einer charakteristischen Wellenzahl entspricht der Gesamtmenge der zugehörigen Komponente und so kann kalibriert werden. Aus den so gewichteten Frequenzlinien kann der Anteil der Komponenten als Massen- oder molarer Anteil abhängig vom Elutionsvolumen berechnet werden. Dies nennt man Verteilung der chemischen Zusammensetzung.

Es wurden 2,2 mg eines PS-PMMA-Blockcopolymers ($M_w = 20,5$ kg/mol, $PDI = 1,14$), welches eine Verteilung der Zusammensetzung zeigt, auf einer linear S SDV-Säule (*PSS GmbH*, Mainz) in THF bei einem Fluss von 1 mL/min getrennt und mit TIMO-Detektion aufgezeichnet. Zur Auswertung wurden die Frequenzlinien bei 700 cm^{-1} für PS und 1735 cm^{-1} für PMMA herangezogen. Die Chromatogramme wurden geglättet, ihr Integral auf die vom Hersteller angegebene Zusammensetzung kalibriert und daraus die Verteilung der chemischen Zusammensetzung als Massenanteil berechnet. Die gewichteten Chromatogramme sowie die Kurven zur elutionsvolumenabhängigen Zusammensetzung sind in Abb. 5.3 gezeigt. An den Peakflanken des Chromatogramms trägt vor allem Rauschen zum berechneten Wert bei, das da-

5. Exemplarische Anwendungen

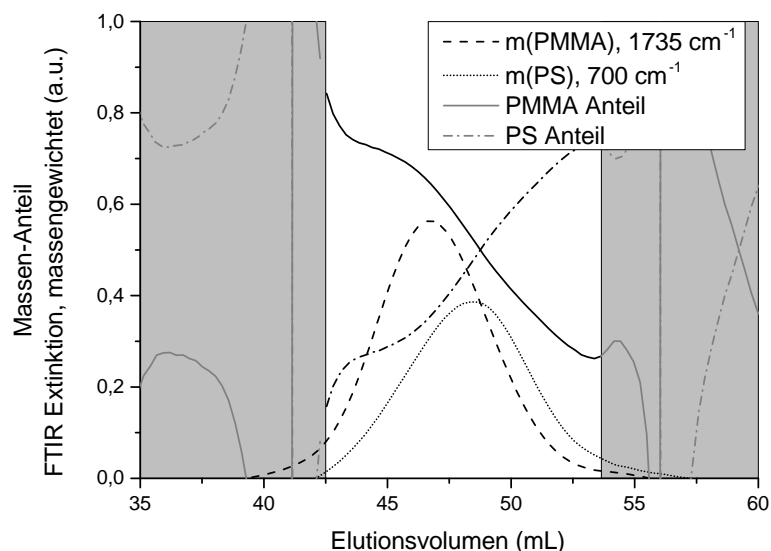


Abbildung 5.3.: Die Chromatogramme aus der TIMO-Detektion wurden für die beiden Komponenten auf die Gesamtzusammensetzung (z.B. über $^1\text{H-NMR}$ bestimmt) kalibriert. Alternativ ist eine Kalibrierung auch über eine Konzentrationsreihe mit Homopolymeren möglich. Aus den kalibrierten Chromatogrammen kann der Massenanteil (oder molare Anteil) der Komponenten als „Verteilung der chemischen Zusammensetzung“ gegen das Elutionsvolumen aufgetragen werden. In Bereichen mit geringer Signalintensität ($< 5\%$ des Peakmaximums) ist eine Auswertung und Interpretation nicht sinnvoll, daher sind diese grau dargestellt.

bei stark verstärkt wird. Die Bereiche mit einer Peakhöhe unter ca. 5% haben daher keine Aussagekraft und sind in der Abbildung grau unterlegt.

Das Ergebnis deutet darauf hin, dass im ersten Schritt dieser anionischen Synthese ein PS-Block entstand, der eine recht enge Molekulargewichtsverteilung aufwies. Im zweiten Syntheseschritt, bei der Addition von Methylmethacrylat, wurden kontinuierlich Ketten terminiert, sodass kleine Moleküle mit hohem PS-Anteil entstanden und große Moleküle mit hohem PMMA-Anteil. Solche Aussagen und detaillierte Rückschlüsse auf die Synthese sind mit anderen Analysemethoden nur schwer zugänglich.

Überladung bei Bestimmung der chemischen Zusammensetzung

Um ein ausreichendes Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei der Bestimmung der molmassenabhängigen chemischen Zusammensetzung zu erhalten liegt es nahe, die Säule zu überladen und eine schlechtere Trennung in Kauf zu nehmen. Wenn die Überladungseffekte (s. Kap. 4.4.3) aber auch die Bestimmung der Verteilung der chemischen Zusammensetzung verhindern, ist dieses Vorgehen unsinnig. Wie auch im Kapitel 4.4.3 ist in diesem Fall der Einfluss der Überladung sehr stark vom Charak-

5. Exemplarische Anwendungen

ter der Probe abhängig, sodass das folgende, veranschaulichende Beispiel nicht als Allgemeinfall betrachtet werden kann. Mit dem Ziel die Veränderung der Messkurve zur Verteilung der chemischen Zusammensetzung darzustellen wurde eine Konzentrationsreihe der oben gezeigten Probe gemessen. Die Chromatogramme sowie die Kurven zur Verteilung der chemischen Zusammensetzung sind in Abb. 5.4 aufgetragen. Bei zu niedrigen Signalintensitäten ($< \text{ca. } 5\%$ des Peakmaximums) ist die Berechnung des Anteils der Komponenten nicht sinnvoll, daher sind diese Bereiche in der Grafik grau unterlegt. Ein Vergleich der Messungen zeigt, dass mit zunehmender Masse die Peaks immer breiter werden. Damit vergrößert sich auch der auswertbare Bereich. Zusätzlich werden die Kurven, die den PS- bzw. PMMA-Anteil wiedergeben, kontinuierlich flacher. Beispielsweise wird für den PMMA-Anteil bei einer injizierten Masse von 2,2 mg ein Veränderung von ca. 70 % bei hohen Molekulargewichten bis zu ca. 30 % am niedermolekularen Ende des Peaks gemessen. In der überladenen Messung mit 50 mg verläuft die Kurve nur noch zwischen 60 % und 50 %. Im Extremfall einer noch größeren Überladung, ist keine Änderung in der Zusammensetzung mehr bestimmbar. Ein derart gemessenes Verhältnis entspräche dem Ergebnis einer Messung der Probe ohne vorherige Auftrennung in der GPC. Folglich wird der Vorteil einer gekoppelten Messung – die korrelierte Information über Chemie und Molekulargewicht – mit zu großer Überladung zunichte gemacht. Aus diesem Grund ist eine große Überladung der Säule nur mit Bedacht und Kenntnis der Probe durchzuführen. Wenn ohne große Überladung kein ausreichendes S/N erhalten wird muss abgeschätzt werden, ob die gekoppelte Messung gegenüber der getrennten Messung von GPC und Spektroskopie noch einen Informationsgewinn liefert.

Für die Praxis lässt sich daraus folgende Empfehlung zum Vorgehen ableiten. Die Probe wird mit einer Konzentration, die für sehr schmale Proben (PDI zwischen 1,0 und 1,1, normalerweise aus anionischer Polymerisation) die Empfehlung des Säulenherstellers nicht wesentlich übersteigt gemessen. Für breitere Proben kann, abhängig vom PDI , eine höhere Konzentration gewählt werden (bei der Probe mit $PDI = 1,7$ z.B. um den Faktor 2). Resultiert aus dieser FTIR-Messung ein Chromatogramm mit ausreichendem S/N so vergleicht man sicherheitshalber die Peakform aus dem DRI-Referenzdetektor mit einer davor oder danach aufgenommenen Messung bei niedriger Konzentration. Diese sollte auf einer Säule des selben Typs gemessen werden. Unter Berücksichtigung der Veränderungen (s. Kap. 4.4.1) kann durch eine höhere Flussrate bei der Referenzmessung Zeit gespart werden. Messungen auf anderen GPC-Anlagen mit anderen Säulen unterliegen zu vielen beeinflussenden Faktoren, sodass diese nicht verglichen werden können. Der Einfluss der Kalibrierung verbie-

5. Exemplarische Anwendungen

tet zudem den Vergleich der Molekulargewichtsverteilung anstatt der Rohdaten oder Elugramme. Ist die Sensitivität der Messung nicht ausreichend, wird die injizierte Masse schrittweise erhöht bis ein zufriedenstellender Kompromiss aus Sensitivität und Überladungseffekten gefunden wird.

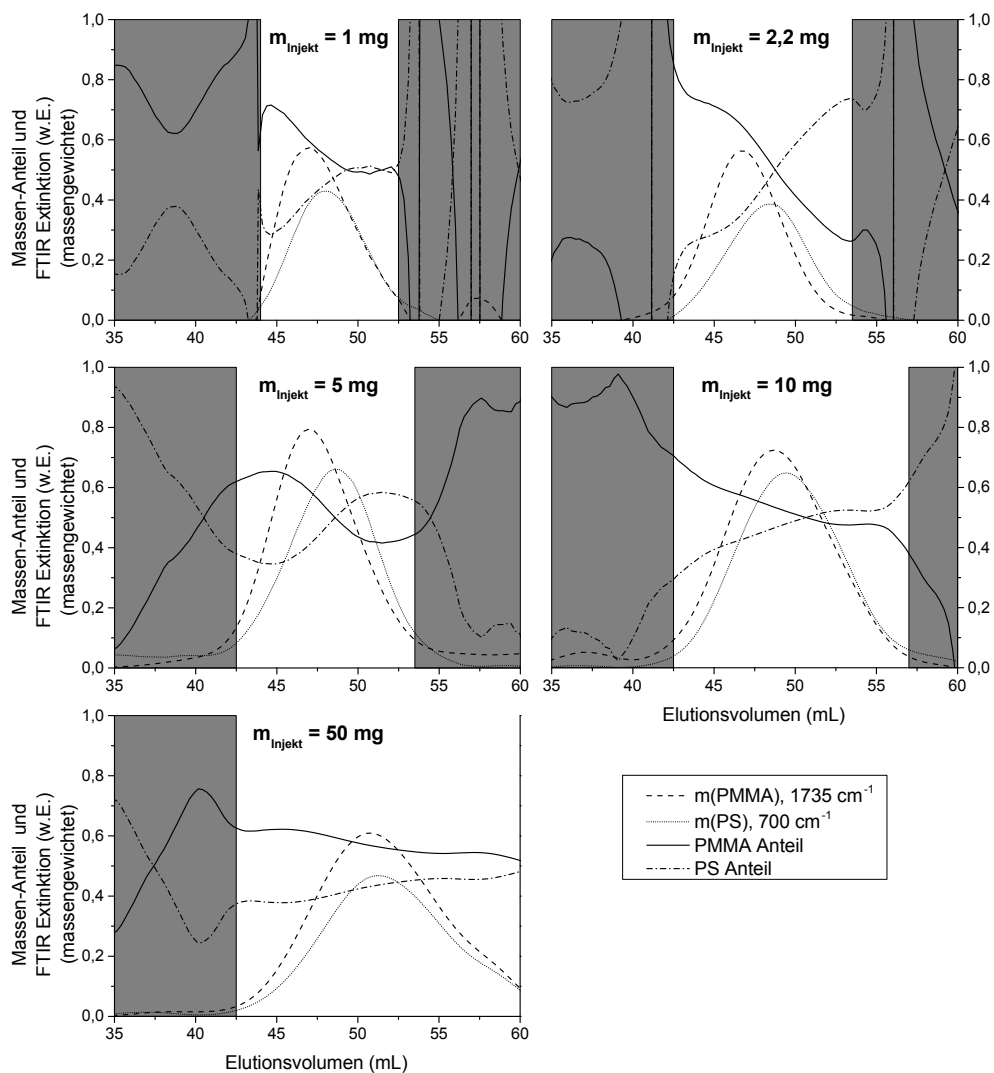


Abbildung 5.4.: Mit einer Konzentrationsreihe wurde der Einfluss der Säulenüberladung auf die berechnete Messkurve der Verteilung der chemischen Zusammensetzung verdeutlicht. Gemessen wurde ein PS-PMMA-Blockcopolymer ($M_w = 20,5 \text{ g/mol}$, $PDI = 1,14$) auf einer semipräparativen ($20 \text{ mm} \times 300 \text{ mm}$) liner S SDV-Säule in THF bei 1 mL/min . Bei hohen injizierten Massen flacht die Kurve der Massen-Anteile ab. Im Extremfall zu hoher injizierter Masse ist kein Unterschied mehr in der Verteilung zu bestimmen, eine Messung im Bulk ist dann vorzuziehen. Aus dieser Reihe wurde die Messung von $2,2 \text{ mg}$ der Probe als optimal betrachtet, da sie ausreichende Sensitivität mit wenig Überladungseffekten vereint.

5.1.3. Isorefraktive GPC-Proben

Isorefraktive GPC-Proben sind Polymere, die den gleichen Brechungsindex haben wie das Lösungsmittel der GPC. Solche Kombinationen sind zwar eher selten, stellen bezüglich der Detektion aber ein großes Problem dar. Ist $\frac{dn}{dc} \approx 0$ so liefert nicht nur der Brechungsindexdetektor kein Signal, sondern auch der Lichtstredetektor ist für solche Proben blind. Zeigt das Polymer auch keine Absorptionen im UV-VIS-Bereich so ist nicht nur der UV-Detektor unbrauchbar auch die Signale des Viskositätsdetektors lassen sich ohne Konzentrationsdetektor nicht mehr auswerten. Ein Beispiel ist Polydimethylsiloxan (PDMS) in THF. Normalerweise wird dieses in Toluol getrennt, damit es auch detektiert werden kann. Der Lösungsmittelwechsel einer GPC-Anlage ist aufwändig und belastet zudem das Säulenmaterial.

Der TIMO-Detektor kann auch solche isorefraktiven Proben detektieren. Folgende Messung zeigt dies. Eine Probe die als Polyisopren-b-Polydimethylsiloxan-Copolymer in einer sequentiellen anionischen Polimersitationsreaktion synthetisiert worden war, wurde in THF bei 1 mL/min auf einer semipräparativen (20 mm × 300 mm) linear S SDV-Säule getrennt und mit dem FTIR-Spektrometer detektiert. Es wurden 4,5 mg injiziert. Das genaue Überladungslimit wurde nicht ermittelt, da die resultierende chromatographische Auflösung in diesem Fall aussagekräftig genug war. Zu erwähnen ist noch, dass diese Messung eine der wenigen erfolgreichen Messungen mit der Transmissionzelle bei 12 µm Schichtdicke im FTIR-Spektrometer war. Abb. 5.5 zeigt die erhaltenen Chromatogramme für PDMS bei 1260 cm⁻¹ und für Polyisopren (PI) bei 1377 cm⁻¹. Zu erkennen ist erstens, dass das DRI-Signal nur mit dem PI-Signal überlappt, PDMS wird tatsächlich nicht registriert, weil es isorefraktiv ist. Zweites handelt es sich bei der Probe nicht wie gedacht um ein Copolymer, sondern um ein Blend. Die Frage, warum bei der Herstellung die PI-Moleküle vorzeitig terminiert wurden und keine Blockcopolymere entstanden und warum das eingesetzte Hexamethylcyclotrisiloxan dennoch polymerisierte, geht über den Rahmen dieser Arbeit hinaus. Bemerkenswert ist jedoch, dass die PI-b-PDMS-Copolymere nicht (oder nur mit sehr viel höherem Aufwand) auf andere Weise analysiert werden konnten. Weitere TIMO-GPC-Messungen von PI-b-PDMS-Copolymeren, die ebenfalls im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, sowie quantifizierende Auswertungen finden sich in der Dissertation von Frau *Dr. Kathrin Reinheimer*, Kapitel 8.5.1.^[151]

Polymilchsäure (PLA) in Chloroform gilt ebenfalls als isorefraktives Polymer-Lösungsmittelpaar und wurde ebenfalls während der Promotion mit der neuartigen GPC-FTIR-Kopplung untersucht. Das Brechungsindexinkrement $\frac{dn}{dc}$ ist in diesem Fall so nahe bei Null, dass im DRI nur stark verrauschte Chromatogramme erhalten werden. Da es sich mit dem UV-Detektor nachweisen lässt, ist es kein so plakatives

5. Exemplarische Anwendungen

Beispiel wie PDMS in THF. Die Ergebnisse der erfolgreichen TIMO-Detektion dieser Proben finden sich in der Dissertation von Frau *Dr. Alicia Malek-Luz* [152] und in [153].

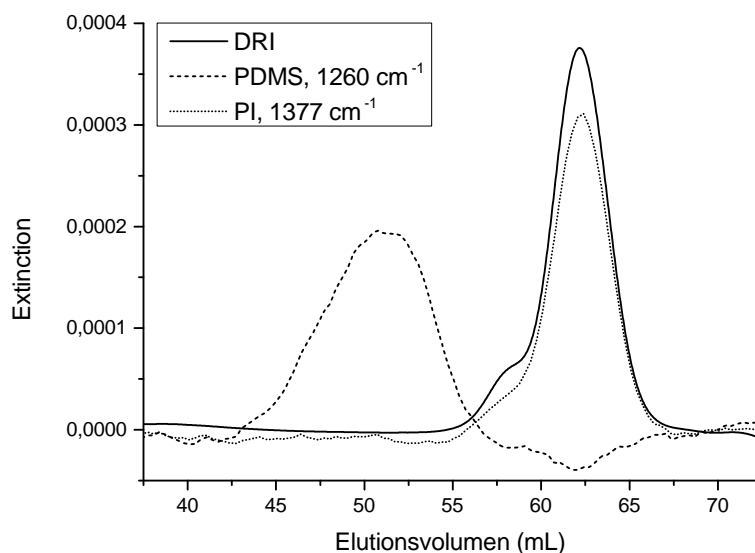


Abbildung 5.5.: Polydimethylsiloxan (PDMS) ist isorefraktiv zum Lösemittel THF und kann daher im DRI-Detektor nicht nachgewiesen werden. Auch der UV-Detektor (nicht gezeigt) misst kein Signal. Nur mit TIMO-Detektion konnte auf einfache Art nachgewiesen werden, dass es sich bei dieser PI-PDMS-Kombination um ein Blend und nicht um ein Copolymer handelt.

5.1.4. Selektivitätslimit

Wenn die Banden von Lösungsmittel und Polymer überlappen, so verschlechtert sich – wie in Kap. 4.3.4 erklärt – auf den entsprechenden Frequenzen die Sensitivität. Die Signale können sich bei vollständiger Überlappung auch komplett aufheben. Ist das Infrarotspektrum des Polymers sehr ähnlich zum Infrarotspektrum des verwendeten GPC-Lösungsmittels so kann es schwierig werden für die Detektion eine Frequenzlinie mit ausreichendem Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu finden. Von den für die GPC-Analytik relevanten Polymer-Lösungsmittel-Paaren sind dies vor allem Polystyrol in Toluol sowie Polyethylenglycol und Polytetrahydrofuran (Polytetra-methylenetherglykol, PTMEG) in THF.

Um diese Limitierung der Methode genauer zu beleuchten wurde 1 mg eines PEG-Kalibrierstandards ($M_w = 2010$ g/mol, $PDI = 1,09$) auf der semipräparativen linear S Säule getrennt und mit dem TIMO-Detektor analysiert. In Abb. 5.6 sind die Frequenzlinien bei 1115 cm⁻¹, 1297 cm⁻¹, 1241 cm⁻¹ und 1348 cm⁻¹ als Chromato-

5. Exemplarische Anwendungen

gramme aufgetragen. Alle vier haben ein ausreichendes Signal-zu-Rausch-Verhältnis zur Detektion von PEG in THF.

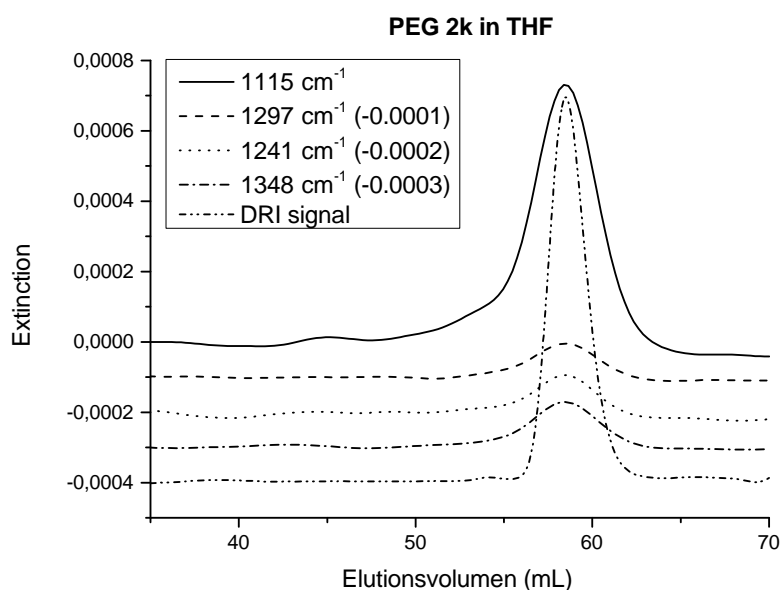


Abbildung 5.6.: Polyethylenglycol (PEG) hat ein ähnliches Spektrum wie das Lösemittel THF. Es stehen daher zur Unterscheidung der beiden und zur selektiven Bestimmung von PEG nur wenige Frequenzlinien zur Auswahl. Die aufgetragenen Chromatogramme zeigen jedoch, dass ein Nachweis mit ausreichender Sensitivität möglich ist. GPC-Parameter: 1 mg injizierte Masse, $M_w(\text{PEG}) = 2010 \text{ g/mol}$, $PDI(\text{PEG}) = 1,09$, semipräparative lineare S SDV-Säule, THF bei 1 mL/min.

Der Nachweis von PS in Toluol war tatsächlich schwieriger, aber dennoch möglich. Von einer PS-Probe ($M_w = 3460 \text{ g/mol}$, $PDI = 1,06$) wurden 0,2 mg auf einer analytischen Säule (SDV, $5 \mu\text{m}$ Partikelgröße und 50 \AA Porengröße) bei einer Flussrate von $0,16 \text{ mL/min}$ getrennt. Die Phenylschwingung bei 700 cm^{-1} die in anderen Lösemitteln sehr gut zum Nachweis von Polystyrol genutzt werden kann, ist hier stark verrauscht. Dennoch erreicht z.B. der Peak bei 760 cm^{-1} ein $S/N > 3$, also über dem LOD. PS ist bei 1450 cm^{-1} auch in Toluol unter den oben genannten Messbedingungen (keine Überladung) quantifizierbar. Abb. 5.7 zeigt die Chromatogramme der drei Frequenzlinien und das DRI-Signal als Vergleich.

Auch die letzte der drei Kombinationen, PTMEG in THF, lässt sich mit TIMO-Detektion bestimmen. Dies wurde bereits in [154] und [155] gezeigt und soll hier nicht noch einmal vorgestellt werden.

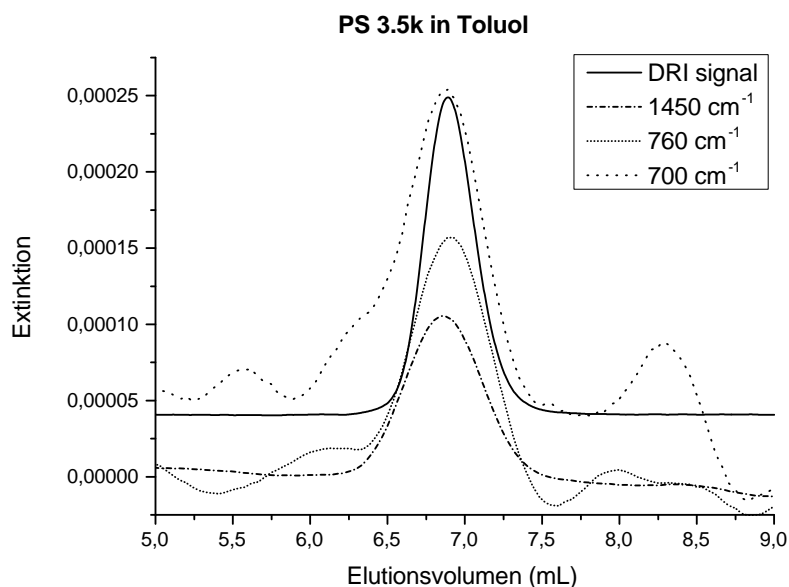


Abbildung 5.7.: Polystyrol und das Lösungsmittel Toluol haben wie PEG und THF (s. Abb. 5.6) ein sehr ähnliches Spektrum. Ein Nachweis war qualitativ bei 760 cm^{-1} und quantitativ (d.h. $S/N > 10$) bei 1450 cm^{-1} möglich. Die sonst gerne zum Nachweis von PS genutzte Phenylschwingung bei 700 cm^{-1} zeigte jedoch einen zu großen Einfluss vom Lösemittel und war daher zu verunsichert. GPC-Parameter: 0,2 mg injizierte Masse, $M_w(\text{PS}) = 3460\text{ g/mol}$, $PDI(\text{PS}) = 1,06$, analytische SDV-Säule mit $5\text{ }\mu\text{m}$ Partikelgröße und 50 \AA Porengröße, THF bei $0,16\text{ mL/min}$.

5.1.5. Sensitivitätslimit

Die im Folgenden beschriebenen Messungen wurden von Frau *Dr. Jennifer Kübel* durchgeführt und ausgewertet.

Neben den im vorangegangenen Abschnitt beschriebenen Grenzen der Methode bei sehr ähnlichen Spektren von Lösungsmittel und Probe hat die TIMO-GPC-Detektion eine zweite Limitierung: die Sensitivität. Um das Ausmaß dieser Begrenzung zu untersuchen wurde nach einem Polymer mit sehr kleinen Peaks gesucht. Kleine Peaks finden sich bei Polymeren mit nur geringen Dipolmomenten. Ein bei Raumtemperatur mit GPC in THF trennbares Beispiel sind Polybutadiene (PB). Diese enthalten je nach Herstellungsverfahren unterschiedliche Anteile der folgenden Konstitutions- und Konfigurationsisomere: cis-1,4-PB, trans-1,4-PB und 1,2-PB. Diese sind chemisch sehr ähnlich und besitzen daher auch ein sehr ähnliche Infrarotspektrum. Als Herausforderung mit praktischer Relevanz wurde die Detektion von cis-1,4-PB an Hand eines spezifischen Peaks betrachtet. Dieses Isomer lässt sich mit seiner Absorption bei 735 cm^{-1} von den anderen unterscheiden.

Das Detektionslimit wurde mittels einer Konzentrationsreihe, für die ein 1,4-PB mit 97,5 % cis-Konfiguration bei verschiedenen Konzentrationen mit der GPC in

5. Exemplarische Anwendungen

THF (semipräparative linear M Säule bei Flussrate 1 mL/min) aufgetrennt wurde, ermittelt. Die erhaltenen S/N -Werte sind in Abb. 5.8 aufgetragen und werden dort mit einer PS-Probe verglichen. Das LOD liegt mit 1,8 mg zwar sehr hoch, ist aber klein genug, sodass keine zu starken Überladungseffekte auftreten. Das Quantifizieren des cis-Anteils in einer mit geringerem cis-PB-Anteil ist ohne starke Überladung der Säule nicht möglich und sollte bevorzugt im Feststoff, d.h. ohne Molmassenabhängigkeit, erfolgen.

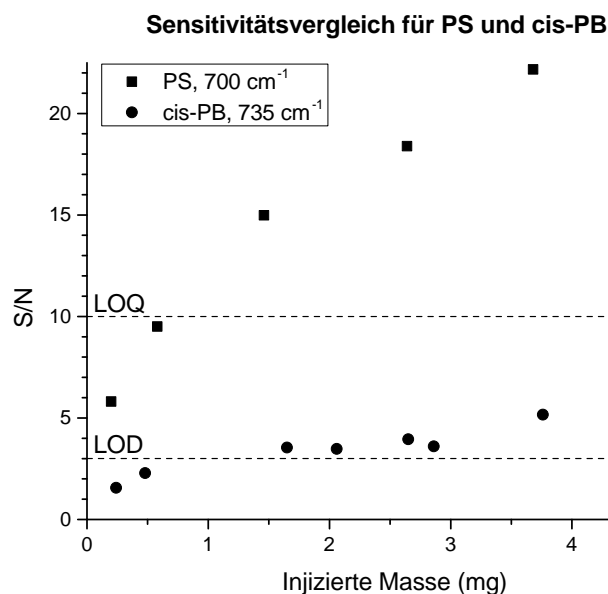


Abbildung 5.8.: Die S/N -Werte für Polystyrol bei 700 cm^{-1} und für cis-Polybutadien wurden gegen die injizierte Masse aufgetragen. Polybutadien wurde spezifisch für die cis-Konfiguration bei 735 cm^{-1} analysiert. Die Signalhöhen überstiegen das Detektionslimit auch ohne Überladung der Säule, sodass ein Nachweis möglich ist.

5.2. Adsorptionschromatographie mit QCL-Detektion

In einem dreimonatigen Projekt wurde in der Arbeitsgruppe *Lendl* an der *TU Wien* erstmalig versucht eine EC-QCL-Detektion an einer HPLC-Anlage zu verwirklichen. Die Experimente wurden so gestaltet, dass sie mit den Arbeiten in Ref. [133], welche mit einem FTIR-Spektrometer durchgeführt wurden, verglichen werden können. Daher wurde eine LAC-Trennung verschiedener Limonaden zur Bestimmung der Zuckergehalte vorgenommen. Dabei kam eine $7,8\text{ mm} \times 300\text{ mm}$ Säule mit einem als „RCM-Monosaccharide Ca^{2+} (8 %)“ bezeichneten Trennmateriale der Firma *Pheno-*

5. Exemplarische Anwendungen

menex (Torrance, USA) bei 80 °C zum Einsatz. Als Lösungsmittel wurde Wasser bei einer Flussrate von 0,6 mL/min verwendet.

Zur Detektion wurde ein QCL der Firma *Daylight Solutions* (USA) genutzt, der bereits in einem Detektionssystem verbaut war und zuvor für die Messung von Glucose und anderen Stoffen in Blut genutzt wurde. Das Gerät wurde von *Dr. Markus Brandstetter* entwickelt und ist in [87, 156, 157] genauer beschrieben. Für die Blutuntersuchungen wurde die Messzelle aus CaF₂-Fenstern (Schichtdicke 165 µm) mit einer Option zur automatisierten Reinigung und Spülung mit verschiedenen Lösungen ausgestattet. Da aus der Chromatographie keine Verunreinigungen zu erwarten sind, wurde die LAC-Säule direkt mit der Flusszelle verbunden und deren Ausgang mit dem Referenz-DRI-Detektor. Weitere Veränderungen wurden am QCL-System für die Kopplung nicht vorgenommen.

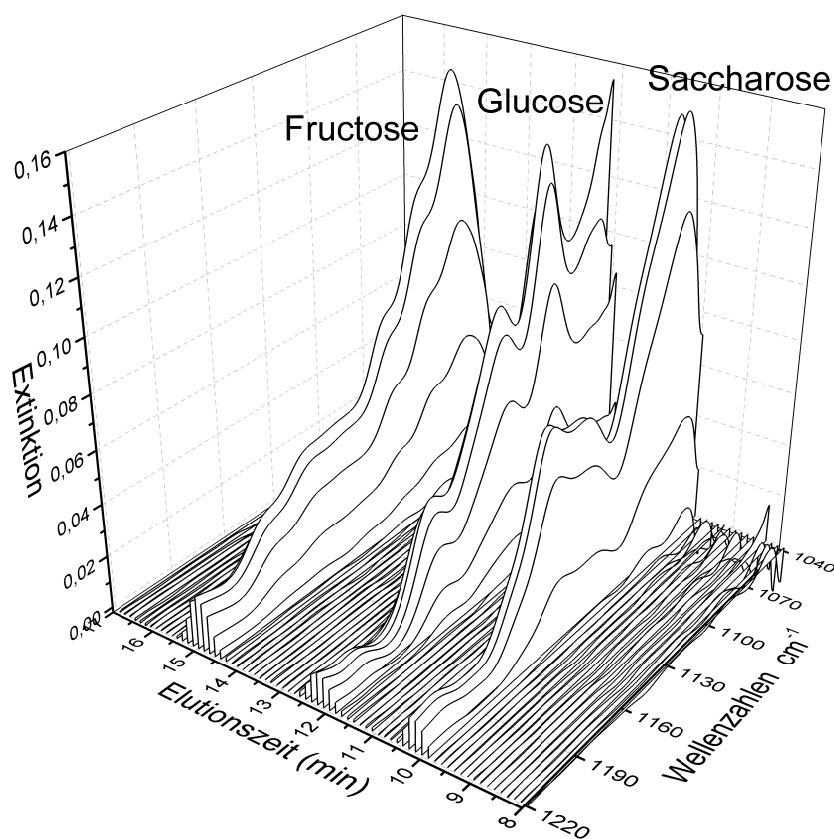


Abbildung 5.9.: Aus einer LAC-Trennung von Saccharose, Glucose und Fructose mit EC-QCL-Detektion erhält man ein zweidimensionales Chromatogramm, das hier als Wasserfallplot dargestellt ist. Man erkennt eine saubere Basislinientrennung der chromatographischen Peaks, die über ihr Profil in Frequenzrichtung spektroskopisch identifiziert werden können.

Der EC-QC-Laser wurde mit einer Pulsfrequenz von 100 kHz und 500 ns Pulslänge

5. Exemplarische Anwendungen

betrieben. Das entspricht einem Duty Cycle von 5 %. Der druckstimbare Bereich war ca. 1030 cm^{-1} bis 1230 cm^{-1} mit einer maximalen Intensität bei ca. 1180 cm^{-1} . Dort betrug die Maximalleistung eines Pulses 350 mW. Als Detektor kam in diesem System ein *Peltier*-gekühlter MCT-Detektor (-58 °C , $D^* = 4 \times 10^9\text{ cm}\sqrt{\text{Hz}}/\text{W}$) zum Einsatz. Damit konnte für den „single wavelength“-Modus (SW), bei dem die Frequenz nicht geändert wird, eine Zeitauflösung von 4/s erreicht werden. Im Scan-Modus dauerte die Messung eines Spektrums ca. 7 s.

Um einen generellen Eindruck zu geben ist in Abb. 5.9 ein Wasserfall-Plot eines EC-QCL-Chromatogramms gezeigt. Für die gezeigte Messung wurde von den Zuckern Glucose, Fructose und Saccharose jeweils ca. 2 mg injiziert. Man beachte dabei, dass LAC-Säulen generell größere Substanzmengen trennen können als GPC-Säulen und das Überladungslimit folglich wesentlich höher liegt.

Mit dem oben beschriebenen Setup wurden Kalibrierlösungen für Saccharose, Glucose und Fructose gemessen und daraus eine Kalibriergerade erstellt. Mit dieser Kalibrierung wurden anschließend die Zuckergehalte in drei verschiedenen Limonaden sowie in einem regionalen Birnensüßwein bestimmt. Die Ergebnisse wurden in [134] veröffentlicht. Im Folgenden sollen nur die für die Methodenentwicklung relevanten Aspekte der Arbeiten beschrieben werden.

5.2.1. Quantifizierung

In [134] wird die Gesamtmethode der HPLC mit EC-QCL-Detektion an Hand der Standardabweichung beurteilt und mit Ergebnissen eines FTIR-Spektrometers aus [133] verglichen. Der Wert für die Standardabweichung der Methode wird auch stark von der Leistung der Chromatographie beeinflusst. Daher soll hier eine Messung nochmals gezeigt und in Hinblick auf das S/N betrachtet werden, da dies für den Einsatz eines QCLs als Chromatographiedetektor relevant ist.

Bei der Messung handelt es sich um eine der Kalibrierlösungen. Die injizierten Massen betragen 0,398 mg für Saccharose, 1,36 mg für Glucose und 0,843 mg für Fructose. In dieser genannten Reihenfolge eluieren die verschiedenen Zucker von der Säule. Die Chromatogramme sind in Abb. 5.10 gezeigt. Dabei wurden die Frequenzlinien bei 1080 cm^{-1} sowohl im SW-Modus als auch aus dem Scan-Modus den DRI-Daten gegenübergestellt. Da keine standardisierte Methode zur Wellenzahlkalibrierung des EC-QCLs existiert, können die tatsächlichen Frequenzen geringfügig abweichen. Die Chromatogramme sind auf das Peakmaximum von Glucose normiert und versetzt aufgetragen. In der Detailansicht sind deutlich die verschiedenen Rauschlevel sowie auch die unterschiedliche Zeitauflösung zu erkennen.

Aus einem Rauschwert, der als die Standardabweichung zwischen 0 min und 9 min

5. Exemplarische Anwendungen

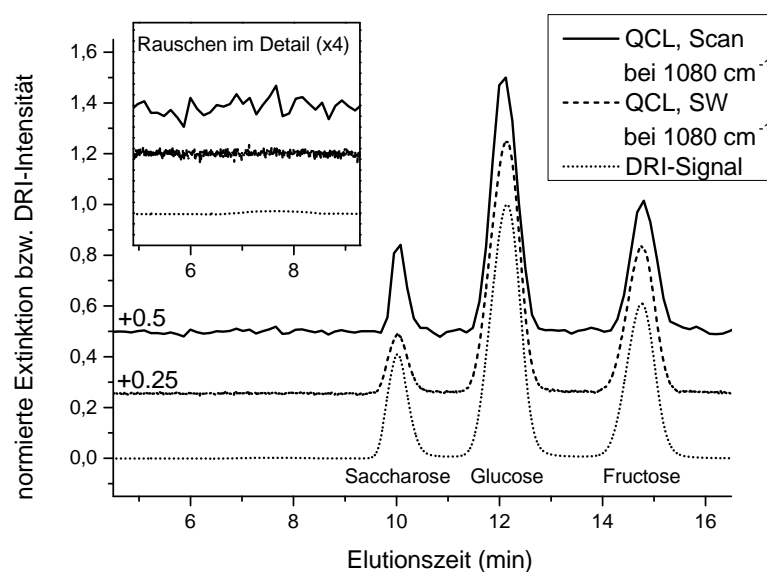


Abbildung 5.10.: Die Ergebnisse zweier LAC-EC-QCL-Messungen sind hier in Form von QCL-Chromatogrammen bei 1080 cm^{-1} im Scan- und SW-Modus neben dem DRI-Chromatogramm dargestellt. Es handelt sich um eine Kalibrierlösung mit $0,398\text{ mg}$ Saccharose, $1,36\text{ mg}$ Glucose und $0,843\text{ mg}$ Fructose im Injektvolumen von $20\text{ }\mu\text{L}$. Die Chromatogramme sind auf das Peakmaximum des Glucosepeaks normiert, sodass die Sensitivität an Hand der Rauschlevel verglichen werden kann. Die unterschiedliche Zeitauflösung der Messmodi ist ebenfalls zu erkennen. Die aus dieser Messung bestimmten Detektionslimits werde in Tab. 5.1 aufgelistet und mit FTIR-Messungen aus der Literatur verglichen.

Elutionszeit bestimmt wurde, und der Peakhöhe von Glucose in dieser Messung berechnen sich folgende Werte. Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis für die SW-Messung betrug $S/N = 427$ und für den Scan-Modus $S/N = 109$. Berücksichtigt man die unterschiedlich lange Messzeit pro Datenpunkt, so ergibt sich ein $\frac{S/N}{\sqrt{t}} = 854/\text{s}$ für den SW-Modus und $\frac{S/N}{\sqrt{t}} = 41/\text{s}$ für den Scan-Modus. Damit ist der SW-Modus im S/N um einen Faktor 3,9 besser und im $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ um einen Faktor 20,8, das Chromatogramm beinhaltet dann keine spektrale Information. Als Detektionslimit ergibt sich für Glucose ein Wert von $LOD = 0,037\text{ mg}$ und $0,12\text{ mg}$ für das LOQ im Scan-Modus. Für SW gilt $LOD = 0,0095\text{ mg}$ und $LOQ = 0,032\text{ mg}$. Diese und die entsprechenden Werte für Saccharose und Fructose sind in Tab. 5.1 nochmals den Ergebnissen aus [133] gegenübergestellt.

Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse ist zu beachten, dass die Werte in [133] nach einer Mittelung über alle Frequenzen berechnet wurden. Sie sind also unter Verlust der spektroskopischen Information berechnet worden und daher eher mit dem QCL im SW-Modus zu vergleichen als mit dem Scan-Modus. Ein direkter Vergleich zwischen einem QCL und einem FTIR-Spektrometer wurde für die Kopplung von GPC

5. Exemplarische Anwendungen

Substanz	Saccharose	Glucose	Fructose
<i>LOD</i> mit FTIR aus [133] (μg)	4,4	5,5	6,5
<i>LOD</i> aus EC-QCL, SW (μg)	11,7	9,5	10,1
<i>LOD</i> aus EC-QCL, Scan (μg)	32	37	45

Tabelle 5.1.: Die aus der Kalibriermessung berechneten Detektionslimits (*LOD*) im Vergleich mit FTIR-Referenzdaten aus [133].

und EC-QCL-Spektrometer in Kap. 5.3 durchgeführt, wobei beide Detektoren direkt hintereinander dieselbe Messung erfassten.

5.2.2. Identifizierung

Wie jedes FTIR-Spektrometer können mit dem QCL-System auch Substanzen identifiziert werden. Dazu muss es im Scan-Modus betrieben werden, sodass Spektren aufgenommen werden. Aus einer LAC-QCL-Messung von Glucose, Fructose und Saccharose mit einer injizierten Masse von je ca. 2 mg (s. a. Abb. 5.10) wurden jeweils die Daten am chromatographischen Peakmaximum als Spektren extrahiert.

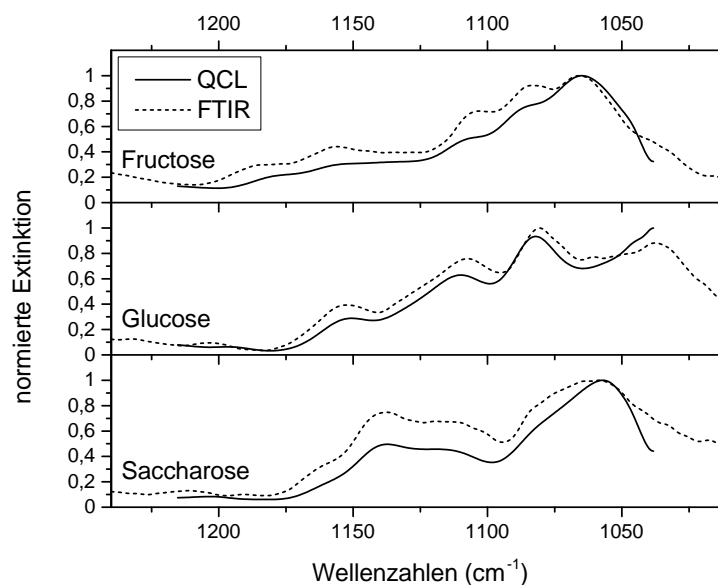


Abbildung 5.11.: Dargestellt sind die Spektren aus der LAC-QCL-Kopplung im Vergleich mit Referenzspektren aus statischen FTIR-Messungen. Eine Identifikation ist mit sehr guter Korrelation ($r(\text{Glucose}) = 0,9847$, $r(\text{Fructose}) = 0,9712$ und $r(\text{Saccharose}) = 0,9619$) möglich.

Zum Vergleich wurden an einem *Tensor27* FTIR-Spektrometer der Firma *Bruker* (Ettlingen, Deutschland) in einer Flüssigkeitszelle mit 50 μm Schichtdicke Referenzlösungen der Zucker mit jeweils ca. 50 g/L gemessen. Alle Spektren sind in Abb. 5.11

5. Exemplarische Anwendungen

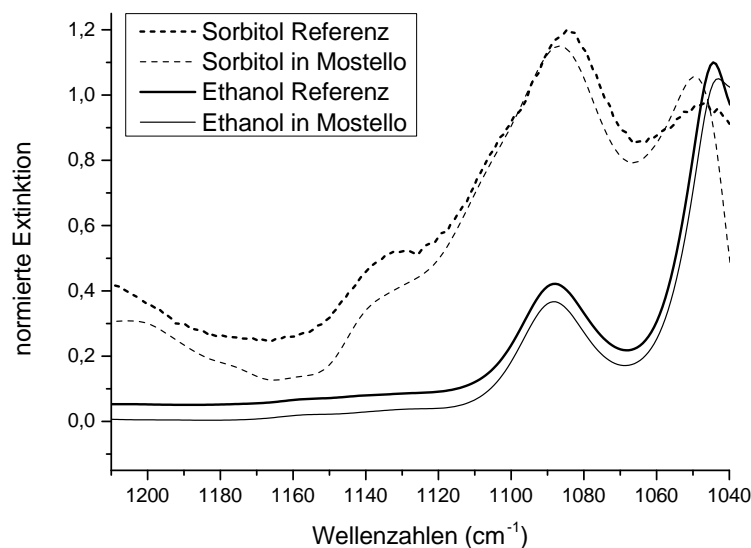


Abbildung 5.12.: In den Getränkeprobe, die mit der LAC-QCL-Kopplung untersucht wurden, liesen sich neben den kalibrierten Zuckergehalten auch noch weitere Inhaltsstoffe qualitativ nachweisen. Hier sind als Beispiele die Spektren von Sorbitol und Ethanol aus dem Birnensüßwein jeweils mit einem Referenzspektrum gezeigt.

gezeigt. Sie lassen sich eindeutig zuordnen und weichen nur bei niedrigen Wellenzahlen im QCL-Spektrum leicht ab. Hier ist die Intensität des Lasers sehr schwach und daher die Unsicherheit groß. Die Übereinstimmung kann in Form des Korrelationskoeffizienten r angegeben werden, der in diesem Fall für den Bereich zwischen 1040 cm^{-1} und 1215 cm^{-1} berechnet wurde. Die beste Übereinstimmung erreicht Glucose mit $r = 0,9847$. Fructose ($r = 0,9712$) und Saccharose ($r = 0,9619$) sind nur unwesentlich schlechter.

In den Getränkeproben konnten neben den Zuckern noch weitere Inhaltsstoffe nachgewiesen werden. Für den Birnensüßwein „Mostello“ sind in Abb. 5.12 die Spektren von Sorbitol und Ethanol aus dem Chromatogrammen aufgetragen. Als Referenz diente für Ethanol die Messung einer 20%igen Lösung, die ebenfalls im LAC-EC-QCL-System gemessen wurde, für Sorbitol eine FTIR-Messung, wie bei den Zuckerlösungen, jedoch mit 10 g/L und $25 \mu\text{m}$ Schichtdicke in der Messzelle. Da die Ethanolreferenz mit dem selben System gemessen wurde, ist der Korrelationskoeffizient entsprechend gut, $r = 0,9972$. Für Sorbitol ergab sich $r = 0,9824$.

In [134] sind zusätzlich noch die Spektren für Taurin und Ethanol aus der Probe „Red Bull“ gezeigt. Die Datenauswertung wurde durch eine chemometrische Analyse bestätigt, welche von *Dr. Julia Kuligowski* und *Dr. Guillermo Quintás* durchgeführt wurde.

5.3. GPC mit QCL-Detektion

Das QCL-Spektrometer, welches von der Firma *Bruker* als Testgerät gebaut und dessen Evaluierung in Kap. 4.5 beschrieben wurde, sollte ebenfalls als GPC-Detektor dienen. Es wurde daher in das chromatographische System zwischen TIMO-Detektor (FTIR-Spektrometer) und UV- bzw. DRI-Referenz-Detektor eingekoppelt. Die Verbindung erfolgte mit Teflonschläuchen analog dem übrigen GPC-Aufbau.

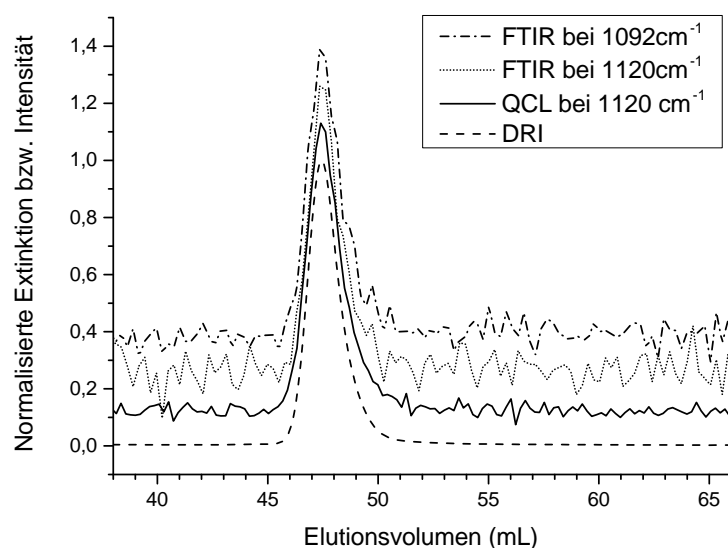


Abbildung 5.13.: Die Sensitivität zwischen FTIR- und EC-QCL-Spektrometern lässt sich qualitativ an Hand der Rauschlevel der auf das Peakmaximum normierten Chromatogramme vergleichen. Die gezeigten Chromatogramme entstammen einer GPC-Messung von PEG in Wasser, die mit FTIR und EC-QCL gleichzeitig detektiert wurde. GPC-Parameter: 0,75 mg Injektvolumen, $M(\text{PEG}) \approx 8 \text{ kg/mol}$, semipräparative SUPREMA-Säule mit 100 \AA Porengröße, Wasser bei 1 mL/min . Bei 1120 cm^{-1} erreicht der QCL für PEG ein optimales S/N , das FTIR hingegen bei 1092 cm^{-1} , was außerhalb des EC-QCL-Spektrums liegt. Für weitere S/N -Werte siehe Abb. 5.14.

Zur Demonstration wurde folgendes Experiment durchgeführt. Etwa $0,75 \text{ mg}$ einer PEG-Probe ($M \approx 8 \text{ kg/mol}$) wurden auf einer semipräparativen SUPREMA-Säule der Firma *PSS Polymer Standards Service GmbH* (Mainz, Deutschland) mit einer Porengröße von 100 \AA in Wasser bei einer Flussrate von 1 mL/min getrennt. Die Detektion im TIMO-Detektor erfolgte in der 170 \mu L ATR-Zelle. Im EC-QCL-Spektrometer war die Transmissionzelle mit CaF_2 -Fenstern und 100 \mu m Schichtdicke verbunden. Es wurde der volle Spektralbereich von 1090 cm^{-1} bis 1390 cm^{-1} mit einer Scangeschwindigkeit von $30 \text{ cm}^{-1}/\text{s}$ und einer Lock-In-Zeit von $0,4 \text{ s}$ gescannt. Aus den Messdaten wurden Extinktionsspektren berechnet und diese mit der TIMO-Software behandelt. Die erhaltenen Chromatogramme für ausgewählte Frequenzli-

5. Exemplarische Anwendungen

nien und das DRI-Signal sind in Abb. 5.13 aufgetragen. Im EC-QCL wurde das beste S/N bei 1120 cm^{-1} erhalten. Für einen direkten Vergleich ist diese Frequenz auch aus den FTIR-Daten aufgetragen. Die höchste Sensitivität erreichte das FTIR-Spektrometer für PEG in Wasser bei 1092 cm^{-1} , was außerhalb des Spektralbereichs des EC-QCLs liegt. Die Messzeit pro Spektrum betrug mit dem EC-QCL etwa 12 s, was der minimal möglichen Wert für ein volles Spektrum ist. Im FTIR waren es etwa 16 s, die den sonst üblichen Messparametern entsprechen. Darin sind 67 Scans enthalten. Die Chromatogramme sind auf das Peakmaximum normiert, sodass die Rauschlevel verglichen werden können.

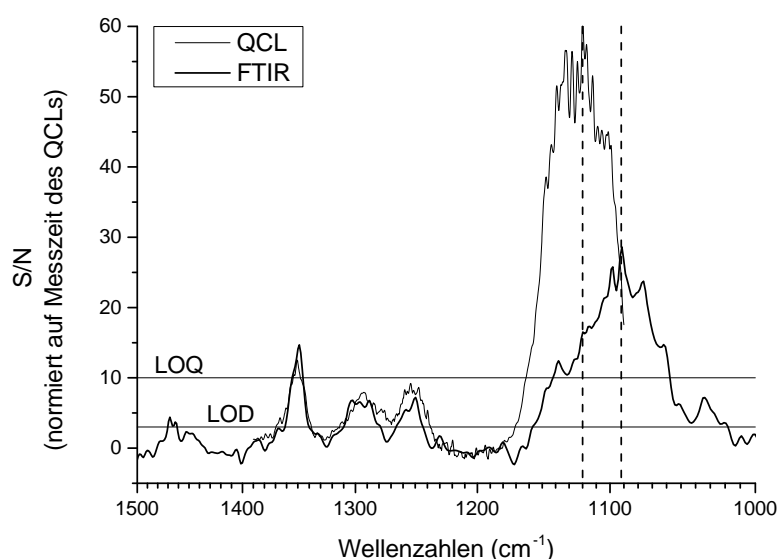


Abbildung 5.14.: Aufgetragen sind die S/N -Werte, die abhängig von der Frequenz mit dem EC-QCL-Spektrometer bei der Detektion einer GPC-Messung von PEG in Wasser erhalten wurden. Zum Vergleich sind die S/N -Werte des gleichzeitig eingesetzten FTIR-Spektrometers dargestellt. Diese wurden unter Annahme eines konstanten $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ -Werts auf die Messzeit eines EC-QCL-Spektrums umgerechnet. Der QCL erreicht sein Maximum bei 1120 cm^{-1} , welches Faktor 2,14 über dem Maximum des FTIR-Spektrometers bei 1092 cm^{-1} liegt. GPC-Parameter: 0,75 mg Injektvolumen, $M(\text{PEG}) \approx 8\text{ kg/mol}$, semipräparative SUPREMA-Säule mit 100 \AA Porengröße, Wasser bei 1 mL/min .

In Abb. 5.14 ist für beide Spektrometer das S/N in Abhängigkeit von der Wellenzahl aufgetragen (analog Kap. 4.2.4). Die Werte des FTIR-Spektrometers wurden nach $\frac{S/N}{\sqrt{t}} = \text{const.}$ auf die Messzeit des QCLs (ca. 12 s) angepasst, sodass die Werte direkt vergleichbar sind. Bei Wellenzahlen größer als 1200 cm^{-1} sind die Werte für beide Spektrometer fast identisch. Darunter weicht der EC-QCL deutlich nach oben ab. Am Maximum des QCLs bei 1120 cm^{-1} übersteigt dessen $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ -Wert das

5. Exemplarische Anwendungen

FTIR-Spektrometer um das 3,7-fache. Vergleicht man die jeweiligen Maxima (QCL bei 1120 cm^{-1} und FTIR bei 1092 cm^{-1}) so bleibt immer noch ein Unterschied um Faktor 2,14. Damit ergibt sich ein Detektionslimit für PEG von $LOD = 37,5\text{ }\mu\text{g}$ für den QCL und $LOD = 80,3\text{ }\mu\text{g}$ für das FTIR.

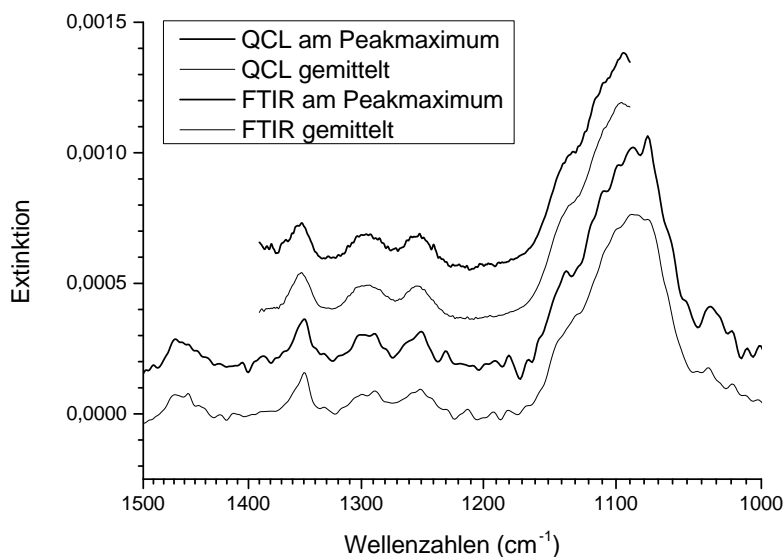


Abbildung 5.15.: Aus den Messdaten der Kopplung von GPC mit FTIR- und EC-QCL-Spektrometer lassen sich Spektren extrahieren. Hier ist dies am Beispiel von PEG in Wasser gezeigt, sowohl das Spektrum am Peakmaximum sowie eine Mittelung mehrerer Spektren im Chromatogramm. Eine eindeutige Identifikation des PEGs ist mit beiden Spektrometern möglich.

Aus dieser Messung lassen sich nicht nur Chromatogramme extrahieren, sondern auch Spektren. In Abb. 5.15 sind die Spektren des Peakmaximums aufgetragen, sowie ein aus mehreren Schnitten durch den chromatographischen Peak gemitteltes Spektrum. Alle Spektren wurden in der Intensität auf das Spektrum aus dem Peakmaximum des FTIR angepasst und sind zur besseren Übersicht versetzt dargestellt.

6

Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassung

Der Hauptfokus dieser Arbeit lag auf der Entwicklung und Optimierung der Online-GPC-FTIR-Kopplungsmethode mit Lösemittelunterdrückung, deren Grundprinzip schon in der Diplomarbeit vorgestellt wurde. Diese Arbeiten wurden hier weitergeführt, vielfältig ergänzt und vervollständigt. So konnten drei weitere ATR-Messzellen mit sechs internen Reflexionen und unterschiedlichen Totvolumina sowie eine Transmissionszelle gebaut, deren Leistungsfähigkeit für die Kopplung bestimmt und verglichen werden. Mit dem besten Design (ATR-Zelle mit 170 μL) konnte gegenüber der ATR-Zelle aus der Diplomarbeit abhängig von der Wellenzahl ein zwei- bis viereinhalbfaches $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ erreicht werden (s. Kap. 4.2). Die Lösungsmittelunterdrückung (s. Kap. 4.3) wurde so weiterentwickelt, das sie nun in drei Schritten das Lösungsmittel subtrahiert, Drifts korrigiert und Rauschen unterdrückt. Dadurch wird das $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ bis zu einem Faktor 1,4 verbessert. Die komplette Datenverarbeitung wurde benutzerfreundlich in eine einfach bedienbare Software mit grafischer Oberfläche implementiert. Aus einer detaillierten Analyse verschiedener Störfaktoren konnten Interpretationsanweisungen für so behandelte Daten abgeleitet werden (s. Kap. 4.3.4). Die Methodenentwicklung wurde mit der Untersuchung der GPC-Parameter, die für die Kopplung angepasst werden können, abgeschlossen. Werden die daraus abgeleiteten Anweisungen konsequent umgesetzt so wird die universelle Einsetzbarkeit der

6. Zusammenfassung und Ausblick

FTIR-Detektion nicht eingeschränkt und das Signal-zu-Rausch-Verhältnis kann um einen weiteren Faktor 5 oder mehr verbessert werden (s. Kap. 4.4). Alle wesentlichen Schritte, die zur Verbesserung des S/N seit Beginn der Methodenentwicklung beigetragen haben, sind in nachfolgender Tabelle zur Übersicht zusammengestellt. Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis konnte seit der Diplomarbeit weiter um einen Faktor 35 verbessert werden, abhängig von der Probe ist auch mehr möglich. Der damals gewünschte Faktor 5 zur universellen Anwendbarkeit der Kopplungsmethode wurde also übertroffen und chemisch sensitive Detektion mittel FTIR-Spektroskopie und mathematischer Lösungsmittelunterdrückung lässt sich tatsächlich bei vielen chromatographischen Fragestellungen anwenden.

Parameter	Empfohlene Einstellung	Verbesserung im S/N
Detektor im FTIR	Halbleiterdetektor, MCT	11
FTIR Messeinstellungen	Rapid Scan, Spiegelgeschwindigkeit: 20 kHz oder 40 kHz, Auflösung: 4 cm^{-1} , obere Grenzwellenzahl: 5200 cm^{-1} (Sonst. s. S. 120)	6
FTIR Strahlengang	Prüfen und Optimieren	4
Anzahl der ATR-Reflexe	6	1,5 – 3,3 gegenüber 1ATR
Zellgröße	klein, 170 μL	1,4 gegenüber 500 μL
Flussrate der GPC	1 mL/min	2,6
Injizierte Masse	Nahe der Überladung, > 2 mg für semipräparative Säulen	2 oder mehr
Säulendimension	semipräparativ (20 mm \times 300 mm)	1,05
Driftkorrektur	Parabel (oder Polynom vom Grad 3), ausreichend Referenzdaten (s. Kap. 4.3)	–
Rauschreduktion	Signalfreier Bereich, z.B. 1800 cm^{-1} bis 2000 cm^{-1}	1,4
Gesamtverbesserung		> 9000

Mit der so erreichten Sensitivität können mit dem FTIR-Spektrometer viele verschiedene GPC-Trennung chemisch sensitiv detektiert werden. Während der Promotion wurden ca. 200 gekoppelte Messungen von unterschiedlichen Polymeren in verschiedenen Lösungsmitteln durchgeführt. Durch ein niedriges Rauschlevel der Extinktion im Bereich von 10^{-5} konnten Detektionslimits (LOD) zwischen 17 μg

6. Zusammenfassung und Ausblick

(PMMA in THF) und 80 μg (PEG in Wasser) erreicht werden. Die generellen Anwendungsfelder Identifikation, Quantifizierung und Detektion wurden in Kapitel 5.1 an exemplarischen Messungen gezeigt. Die Grenzen der Methode bzgl. Selektivität und Sensitivität wurden evaluiert und an Beispielen aufgezeigt (s. Kap. 5.1.4 und 5.1.5).

Die Methode wurde zudem schon erfolgreich auf wissenschaftliche und industrielle Fragestellungen angewandt – meist bei der Analytik zu neuartigen Synthesen oder Synthesewegen. So konnten mit GPC-FTIR-Messungen drei Dissertationen unterstützt werden,^[151,152,155] deren Ergebnisse z.T. auch veröffentlicht wurden.^[153,154] Für eine synthetisch orientierte Bachelor- und eine Diplomarbeit im Arbeitskreis wurden die hergestellten Polymere analysiert.^[158,159] Beim Projektpartner *PSS Polymer Standards Service GmbH* in Mainz wurde eine zweite Messapparatur analog aufgebaut, wo die Methode in Zukunft kommerzialisiert werden soll. Eine weitere Masterarbeit beschäftigte sich ausschließlich mit GPC-Messungen an dieser Anlage in Mainz.^[160] Für mehrere große Chemiefirmen wurden im Rahmen von Kooperationen bereits Messungen getätigt. Weiterhin konnte auch die Idee der Lösungsmittelunterdrückung mittels angepasster Parabeln unabhängig von den FTIR-Messungen überzeugen. Sie wurde in [112, 113] übernommen und für die Subtraktion verbleibender Lösungsmittelsignale bei Auswertung zu GPC-MR-NMR-Messungen von PMMA in Chloroform genutzt.

Neben den Arbeiten zur Entwicklung der GPC-Kopplung mit Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie wurden die Möglichkeiten von External-Cavity-Quantenkaskadenlasern (EC-QCLs) beim Einsatz zur spektral aufgelösten GPC-Detektion evaluiert. Erstmals 1994 gebaut haben QCLs als Laserlichtquelle auf Halbleiterbasis eine wesentlich höhere Strahlungsleistung als die thermischen Lichtquellen von FTIR-Spektrometern. Als durchstimmbare EC-QCLs existieren sie seit 2001 und wurden bisher wegen der immer noch eingeschränkten spektralen Bandbreite eher selten zur Messung von Infrarotspektren eingesetzt. In einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe *Lendl* konnte an der *TU Wien* eine erste Kopplung aufgebaut und erstmalig HPLC-Messungen mit EC-QCL detektiert werden (s. Kap. 5.2). Mit dieser Kopplung wurden in Analogie zu einer veröffentlichten Arbeit mit FTIR-Spektroskopie^[133] die Gehalte verschiedener Zucker (im Bereich zwischen 5 g/L und 100 g/L) in Getränken bestimmt.^[134]

Mit einem zweiten EC-QCL, der von der Firma *Bruker Optik GmbH* in einem Testgerät implementiert wurde, konnte eine Kopplung auch mit GPC aufgebaut werden. In diesem Laserspektrometer wurde ein zweiter Detektor verbaut, mit dem Fluktuationen im Lasersignal aufgezeichnet werden. Dies ermöglicht eine mathema-

6. Zusammenfassung und Ausblick

tische Korrektur zur Rauschminimierung. Die erhaltene Sensitivität wurde ermittelt und mit dem FTIR-Spektrometer verglichen. Beim Einsatz als chemisch sensitiver Detektor sind beide Spektrometer etwa gleich empfindlich. Unterschiede bestehen daher vor allem bei den einsetzbaren Flusszellen und im Spektralbereich, der beim EC-QCL-Spektrometer eingeschränkt ist. Diese Messungen erlauben Abschätzungen für weitere mögliche Einsatzzwecke von QCL-Spektrometern in der GPC-Kopplung, die im Kapitel „Ausblick“ näher erläutert werden.

Zusammenfassend ermöglichen diese Arbeiten eine chemisch sensitive GPC-Detektion mit FTIR-Spektroskopie und/oder mit dem EC-QCL-Spektrometer. Dadurch wird die molekulargewichtsabhängige chemische Zusammensetzung zugänglich, die sonst nur schwer ermittelt werden kann. Proben mit geringer Infrarotabsorption können bei niedrigen Konzentrationen schwer detektiert werden, jedoch müssen keinerlei grundlegende Einschränkungen bei der Wahl des Lösungsmittels oder des zu untersuchenden Polymers gemacht werden. Auch die GPC-Bedingungen können frei gewählt werden, sodass die IR-Kopplung universell zur chemisch sensitiven Detektion, Identifikation und Quantifizierung in der Gelpermeationschromatographie eingesetzt werden kann. Damit kann neben der Molekulargewichtsverteilung in Zukunft standardmäßig auch die Verteilung der chemischen Zusammensetzung besonders auch bei hohen Molekulargewichten bestimmt werden.

Ausblick

Die Entwicklung der in dieser Arbeit beschriebenen Online-GPC-FTIR-Kopplung mit Lösungsmittelunterdrückung ist für die momentan vorhandenen Spektrometer im Wesentlichen abgeschlossen. Sollten in Zukunft FTIR-Spektrometer mit höherer Sensitivität entwickelt werden, so kann auch die Kopplung mit Gelpermeationschromatographie davon profitieren. Für die Entwicklung im Bereich der Quantenkaskadenlaser, die eine noch recht junge Technologie sind, ist eine solche Verbesserung mittelfristig zu erwarten. Auch könnte das vorhandene EC-QCL-Spektrometer mit Halbleiterdetektoren aufgerüstet werden, die bei der FTIR zu einer erheblichen Verbesserung der Sensitivität führten. Durch eine Optimierung der Schichtdicke in der Transmissionszelle und durch eine Anpassung der mathematischen Driftkorrektur kann die Sensitivität des EC-QCL-Spektrometers noch weiter erhöht werden.

Wenn weitere Ursachen für das Rauschen in den FTIR-Spektren ausgemacht werden können, so kann dieses eventuell mathematisch korrigiert und damit die Rauschreduktion in der Datenverarbeitung verbessert werden. Besonders hilfreich wäre es, wenn die auftretende Korrelation im Rauschen (vgl. Kap. 4.3.3) kompensiert würde,

6. Zusammenfassung und Ausblick

da dann auch eine Mittelung mehrere Frequenzlinien möglich wäre. Chemometrische Ansätze zur Lösungsmittelunterdrückung, wie sie in der Kopplung mit LAC realisiert wurden, sind auch für die GPC-Kopplung denkbar und könnten näher untersucht werden.

Chromatographiesäulen werden von den Herstellern auf Trennleistung und Analysezeit hin optimiert. Für gekoppelte Messungen mit Spektroskopie ist aber auch die Substanzmenge entscheidend. Durch Kombination verschiedener Säulendurchmesser oder durch speziell geformte Trennsäulen kann in Zukunft ein Optimum aus Substanzmenge und chromatographischer Auflösung erreicht werden.

Kleinere Flusszellen verursachen weniger Bandenverbreiterung und haben daher auch eine höhere Sensitivität (vgl. Kap. 4.2.4). Eine mechanisch robuste und gleichzeitig für das Lösemittel dichte Konstruktion wird mit einer Miniaturisierung schwieriger. Die hier konstruierte Flusszelle ist ein guter Kompromiss für semipräparativen Säulen. Wenn eine stabile und robuste, gleichzeitig kleinere und bzgl. der Infrarotmessung genauso sensitive Flusszelle konstruiert werden könnte, wäre ein vermehrter Einsatz auch mit analytischen Säulen möglich. Diese sind durch die geringere Menge an benötigtem Trennmateriale kostengünstiger und daher in der Anwendung viel weiter verbreitet.

Eine weitverbreitete Verwendung der Methode in der Routineanalytik sowie eine Kommerzialisierung sind auch mit semipräparativen Säulen denkbar. Viele weitere Polymere in beliebigem Lösemittel können analysiert und deren molekulargewichtsabhängige chemische Zusammensetzung bestimmt werden.

Besonders im Bereich der Biomakromoleküle und Proteine könnte sich eine nähere Untersuchung der Einsatzmöglichkeiten lohnen. Hier können mit Infrarotspektroskopie wertvolle Informationen gewonnen werden z.B. die Sekundärstruktur von Proteinen an Hand der Amidbanden. Diese Substanzklassen verhalten sich bekanntermaßen in Lösung anders als im Feststoff (vgl. z.B. Proteinfaltung), zusätzlich sind sie meist nur wasserlöslich und hitzeempfindlich. Eine Lösungsmittelverdampfung in einem Ofen wie bei der Offline-GPC-FTIR-Kopplung (vgl. Kap. 3.3.1) würde sehr sicher die Struktur und ggf. auch die Moleküle zerstören. Die hier vorgestellte TIMO-Detektion könnte sich als wertvolle Alternative erweisen.

Beispielsweise auch in der 2D-Chromatographie kann ein chemisch sensitiver Detektor, d.h. eine LAC-GPC-FTIR- bzw. EC-QCL-Kopplung, zusätzliche Informationen liefern. Die LAC trennt die verschiedenen chemischen Substanzen, mit IR-Detektion wäre zusätzlich eine Zuordnung oder Identifikation möglich. Allerdings sind die Konzentrationen in der 2D-Chromatographie wesentlich niedriger, sodass hier einige weitere Veränderungen der Methode nötig wären, um eine ausreichende

Sensitivität sicherzustellen.

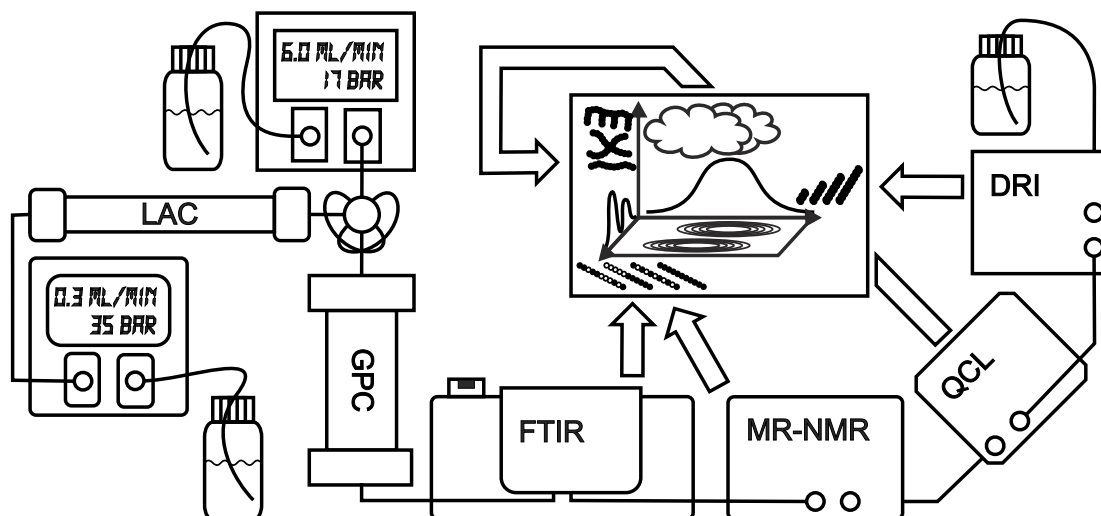


Abbildung 6.1.: Schematische Darstellung einer LAC-GPC-Kopplung mit FTIR und MR-NMR als chemisch sensitiven Detektoren und einem QCL-Detektor zur Bestimmung der topologischen Eigenschaften.

Generell entstehen durch die Kombination mehrerer Kopplungsmethoden vielfältige Möglichkeiten, die eine bessere Polymeranalytik ermöglichen. Hier sind vor allem zwei Kombinationen mit FTIR interessant: Niederfeld-NMR und mit QCLs. Für die Berechnung der molekulargewichtsabhängigen, chemischen Zusammensetzung wird eine Kalibrierung oder das Massenverhältnis der Komponenten in der Gesamtprobe benötigt. Da die Signale der ^1H -NMR-Spektroskopie direkt proportional zur Anzahl der Protonen sind, kann daraus die Zusammensetzung abgeleitet werden. Diese für die FTIR-Quantifizierung zusätzlich benötigte Information könnte mit einem Niederfeld-NMR-Detektor direkt online erhalten werden. Quantenkaskadenlaser liefern unter Einschränkung des Spektralbereichs eine bessere Sensitivität als das FTIR. Schränkt man den Bereich auf nur eine Frequenz ein und nutzt einen EC-QCL im „single wavelength“-Modus (wählbare Frequenz) oder einen DFB-QCL (feste Frequenz), könnte die Sensitivität ausreichen um die in der Polymerkette seltenen Verknüpfungsstellen zu detektieren. Damit gewinnt man topologische Informationen, wie es ähnlich in der Hochtemperatur-GPC für die Verzweigung von Polyolefinen praktiziert wird. Mit FTIR können momentan Anteile bis ca. 5% gemessen werden, die EC-QCL erreichen im SW-Modus eine etwa 5-fach höhere Sensitivität. Ein Austausch des Detektors ergab beim FTIR eine Verbesserung um Faktor 11, damit könnte ein EC-QCL Nachweisgrenzen von 0,1 mol% erreichen. Das entspricht 1 Verzweigung pro 1000 Monomereinheiten, einer typischen Verzweigungsdichte. Eine einzelne Frequenzlinie kann genügen, um die Verzweigungsstellen und damit die

6. Zusammenfassung und Ausblick

Topologie zu detektieren. Somit wären – im Bild aus der Einleitung gesprochen (s. S. 4) – alle drei Eigenschaftsdimensionen von Polymeren in einer Messung zugänglich: Größe, Chemische Zusammensetzung und Topologie. Abbildung 6.1 illustriert einen möglichen Aufbau mit zweidimensionaler Trennung – d.h. zuerst nach „chemischer Information“ (LAC) und nach Größe (GPC) – mit anschließender chemisch sensitiver Detektion mittels FTIR und MR-NMR sowie einem QCL-Detektor für Verzweigungsstellen.

Nicht nur die Gesamtmethode als solches hat viele mögliche Einsatzgebiete, auch für die Lösungsmittelunterdrückung, speziell die Driftkorrektur, sind weitere Anwendungen denkbar. Überall, wo Referenzmessungen und Probemessungen gemacht werden müssen und eine automatisierte Probengabe möglich ist, könnte theoretisch die Sensitivität verbessert werden, wenn der Gerätedrift auf ähnliche Weise interpoliert wird. Im einfachsten Fall einer routinemäßigen FTIR-Messung könnte die Probe z.B. auf einem Schlitten aufgebracht werden, sodass bei geschlossenem Spektrometer und automatisiert zwischen Hintergrundmessung und Probemessung gewechselt werden kann. Misst man statt vieler zu einem Hintergrundspektrum gemittelter Scans zeitaufgelöst zuerst Hintergrund, dann Probe, dann wieder Hintergrundspektren, so kann die Driftkorrektur ganz analog zu einer GPC-Messung angewendet und die Sensitivität evt. verbessert werden. Basierend auf diesem Prinzip sind noch viele weitere Experimente denkbar.

A

Anhang

A.1. Fotos

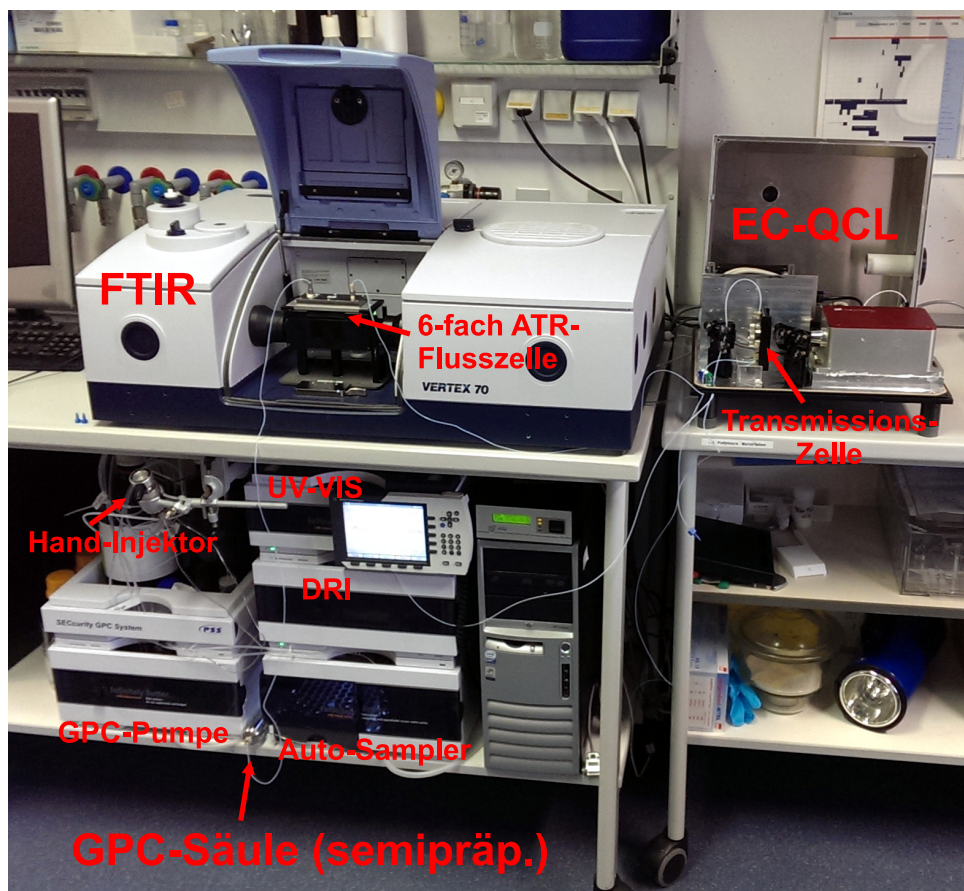


Abbildung A.1: Foto des Aufbaus der GPC-FTIR-EC-QCL-Kopplung.

A. Anhang

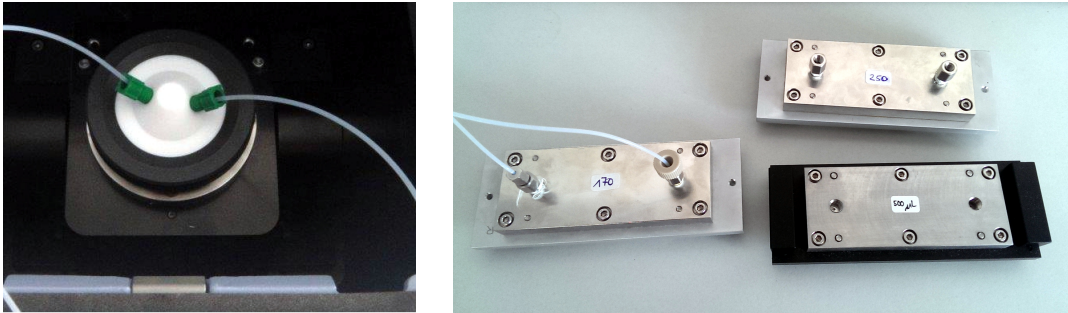


Abbildung A.2: Foto der ATR-Zelle mit einer Reflexion im Spektrometer auf der *Pike MIRacle* (vgl. Kap. 4.2.1) und Foto der drei ATR-Zellen mit 6 Reflexionen (vgl. Kap. 4.2.2).

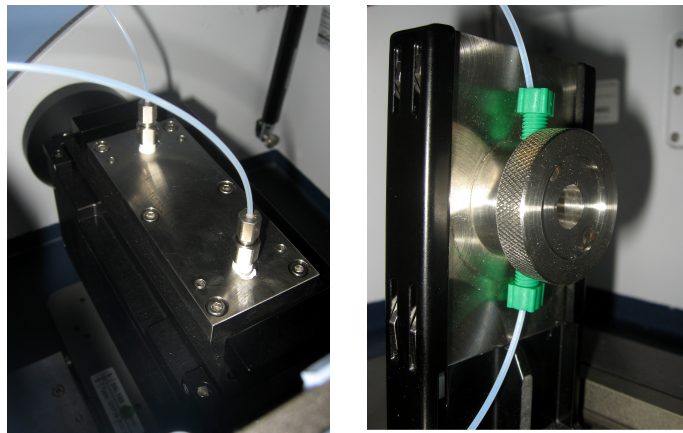


Abbildung A.3: Foto der ATR-Zelle mit 6 Reflexionen im Spektrometer (vgl. Kap. 4.2.2) und der Transmissionszelle (vgl. Kap. 4.2.3) ebenfalls im FTIR-Spektrometer.



Abbildung A.4: Innenansicht des QCL-Spektrometers, vgl. Schema in Abb. 4.18.

A.2. Liste mit OPUS Messparametern

Parameter	Wert bzw. Einstellung	Bemerkungen
Auflösung	4 cm ⁻¹	höher, wenn möglich
Messzeit Probe	67 Scans	
Messzeit Hintergrund	67 Scans	
Daten speichern von ... bis	4000 cm ⁻¹ 600 cm ⁻¹	
Resultatspektrum	Absorbance	=Extinktion
Zusätzliche Datenbehandlung	keine	TIMO-Software erfolgt anschließend
Atmosphärische Kompensation	keine	zusätzliches Trockenmittel im Spektrometer
Zu Speichernde Datenblöcke	alle	
TRS-Methode	Start loop 380; Measure 67; End loop	Zeitauflösung und Gesamtmessdauer sind variabel
Externe Synchronisation	Off	in Zukunft möglich ¹
Quelle	MIR	
Strahlteiler	KBr	
Optisches Filter	Open	
Apertur	8 mm	
Zubehör	Beliebig	
Messkanal	Sample Compartment	
Kanal Hintergrundmessung	Sample Compartment	
Detektor	LN-MCT Mid 12H [Internal Pos. 1]	
Vorverstärker	Ref	
Spiegelgeschwindigkeit	40 kHz	
Verstärkung der Probe	x1	
Verstärkung der Referenz	x1	
Wartezeit nach Änderung	0 s	
Wartezeit vor der Messung	0 s	
Warten auf Bereit	OFF	
Gewünschte obere Frequenz	5200 cm ⁻¹	

Gewünschte untere Frequenz	0	
Hochpass Filter	Open	
Tiefpass Filter	40 kHz	
Akquisitionsmodus	Double Sided, Forward-Backward	
Korrelationsmodus	OFF	
Externe analoge Signale	No Analog Value	
Phasenauflösung	16	
Phasen-Korrekturmodus	Mertz	
Apodisierungsfunktion	Blackman-Harris 3-Term	
Zerofilling Faktor	2	

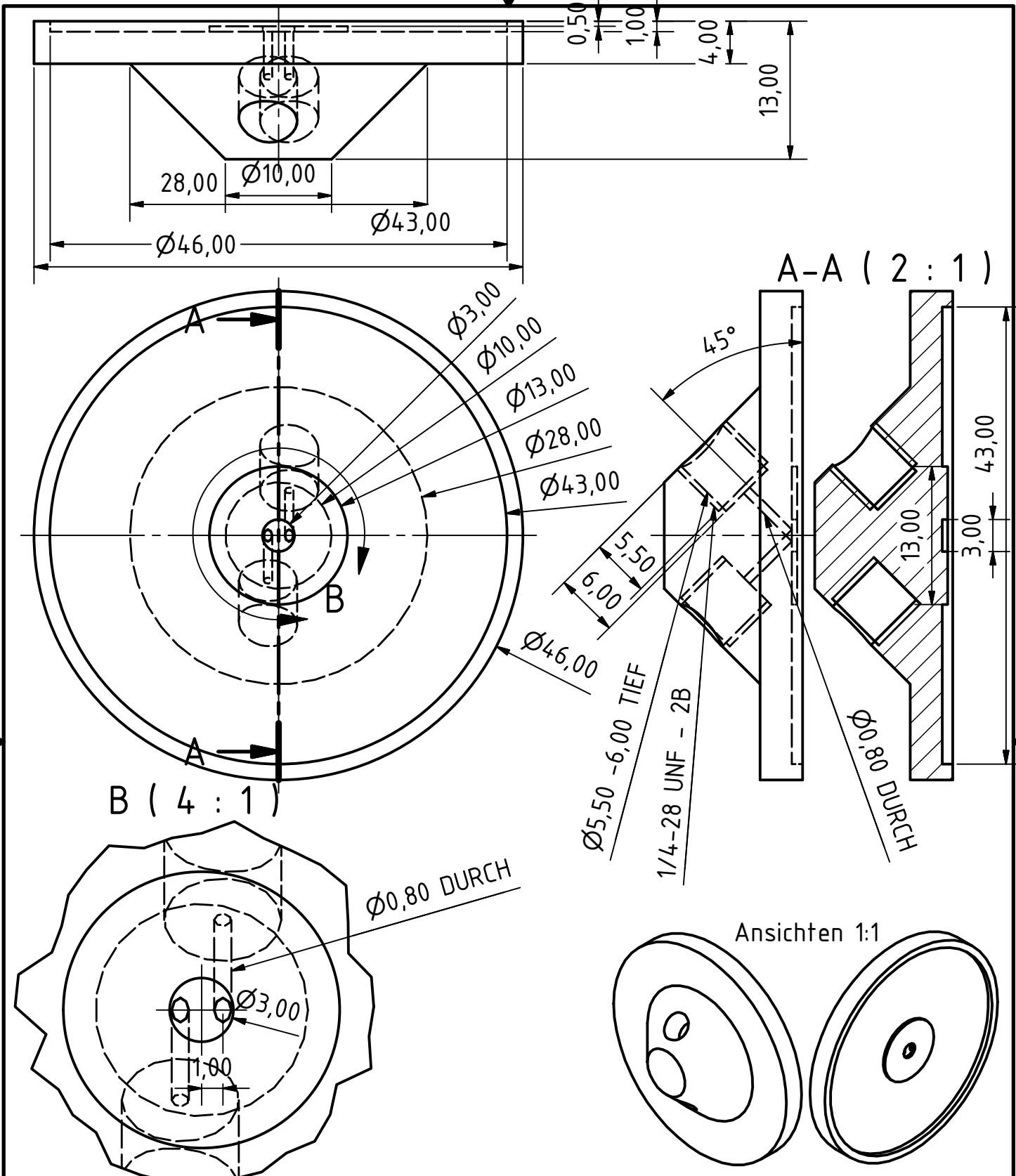
1

A.3. Technische Zeichnungen der Flusszellen

Auf den folgenden Seiten finden sich die technischen Zeichnungen, nach denen die verschiedenen Flusszellen gefertigt wurden.

1. Zelle für *Pike MIRacle* ATR-Einheit mit Diamantkristall und einer Reflexion
2. Transmissionszelle
 - Grundplatte
 - Basis
 - Führung
 - Schraubring
 - Übersicht 1
 - Übersicht 2
3. Zelle analog zu *Specac Gateway* ATR-Einheit mit ZnSe Kristall und 6 Reflexionen
 - Deckplatte
 - Trägerplatte
 - Pressplatte
 - ZnSe-Kristall ist kommerziell erhältlich, die Dichtungen (vgl. Abb. 4.4) wurden ohne Zeichnung aus einer FFKM-Platte geschnitten

¹Im Entwicklungsstadium wurden die Messungen von GPC und FTIR von Hand gleichzeitig gestartet, da eine Abweichung <1 s problemlos hinnehmbar war. Eine Synchronisation zur Automatisierung ist sinnvoll und möglich, muss aber auch in der TRS-Methode eingepflegt werden.



VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

		Maßstab: 2:1	Gewicht:												
		Material: PTFE													
<table border="1"> <tr> <td></td> <td>Datum</td> <td>Name</td> </tr> <tr> <td>Gezeichnet</td> <td>01.06.2010</td> <td>Timo Beskers</td> </tr> <tr> <td>Kontrolliert</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Norm</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>			Datum	Name	Gezeichnet	01.06.2010	Timo Beskers	Kontrolliert			Norm			GPC-ATR 1	
	Datum	Name													
Gezeichnet	01.06.2010	Timo Beskers													
Kontrolliert															
Norm															
		1/1	1 A4												
Status	Änderungen	Datum	Name												

ungefähr R3,00, keine scharfen Kanten genügt

3mm-Löcher bitte für Senkkopfschrauben ansenken

Ø3,00

38,10

76,20

Ø3,00

Ø12,00

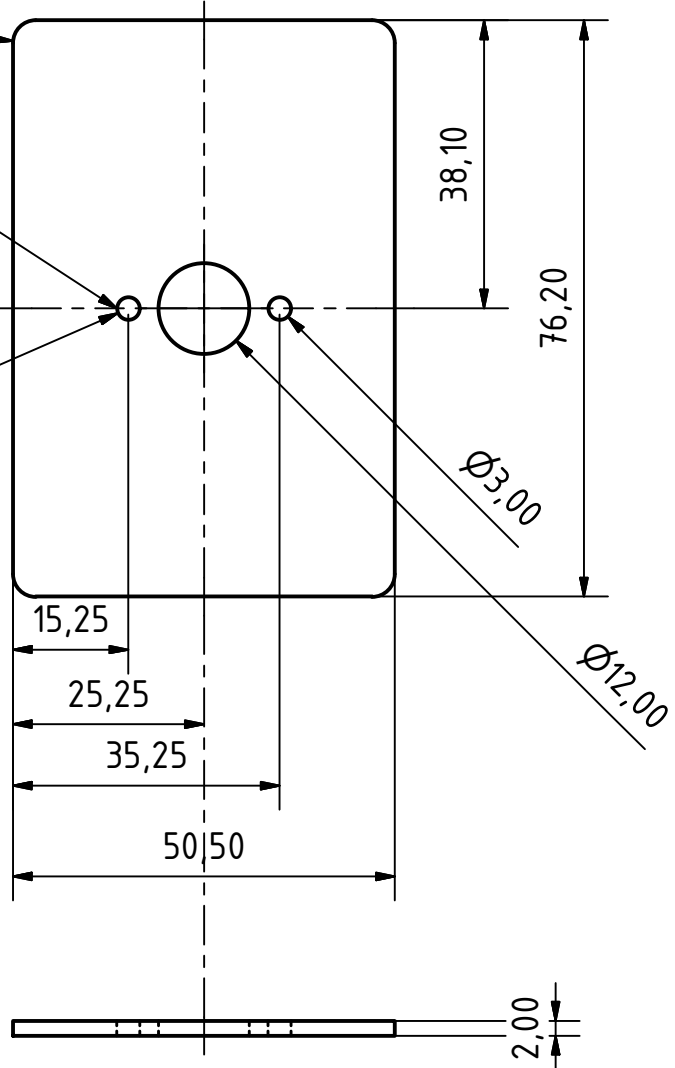
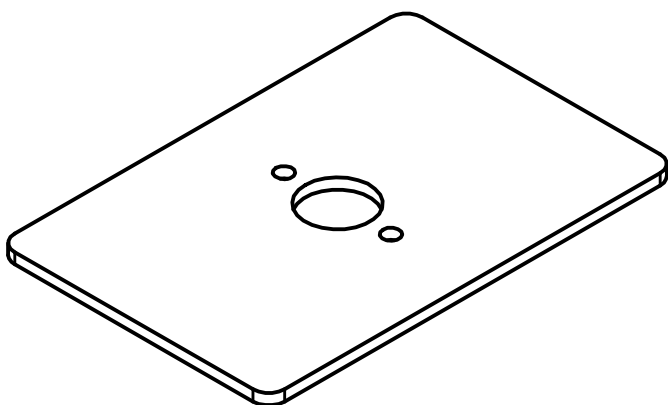
15,25

25,25

35,25

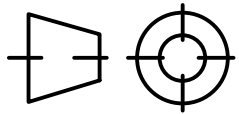
50|50

2,00



VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT



Maßstab: 1:1

Gewicht:

Material: V2A

	Datum	Name
Gezeichnet	04.08.2011	Timo
Kontrolliert		
Norm		

GPC-IR Trans Grundplatte



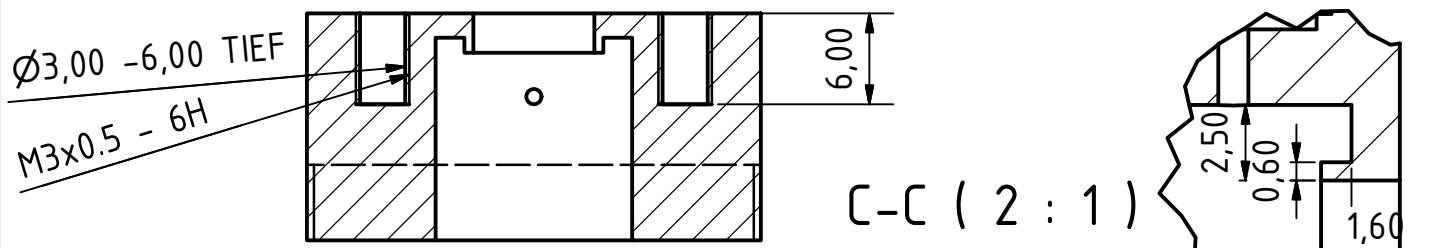
1

1
A4

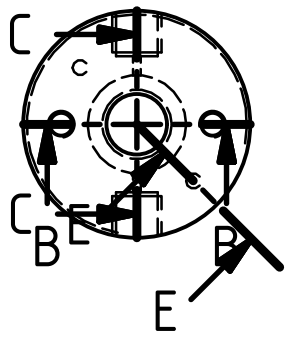
Status	Änderungen	Datum	Name

B-B (2:1) ↓

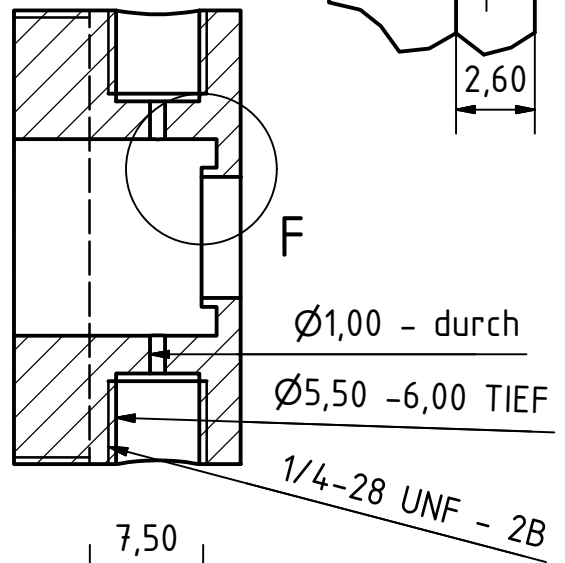
F (4:1)



C-C (2:1)



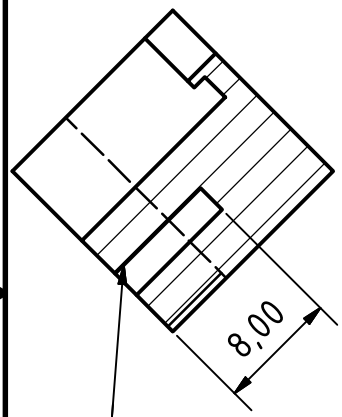
E-E (2:1)



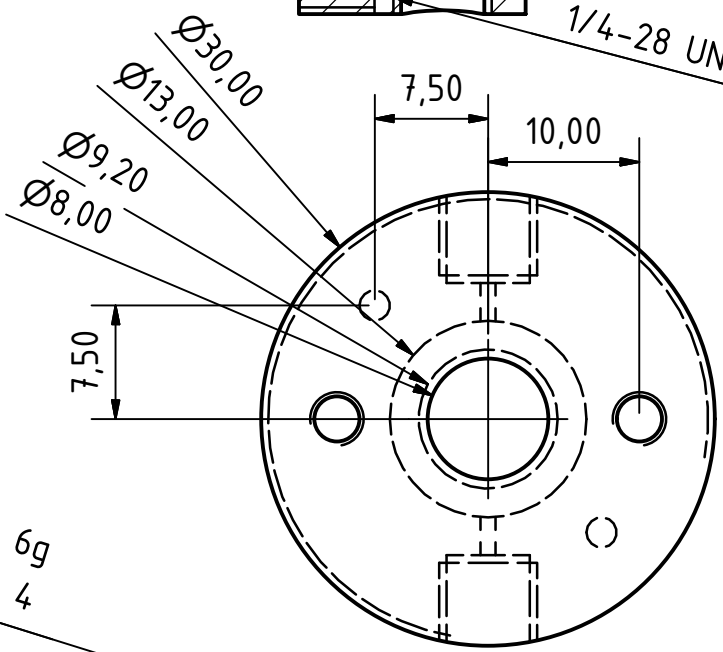
Ø1,00 - durch

Ø5,50 - 6,00 TIEF

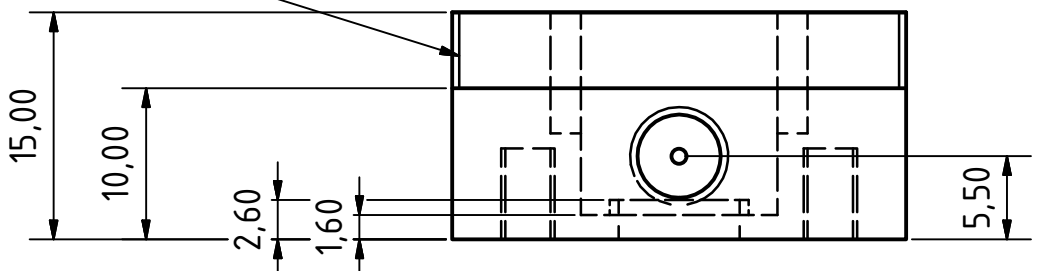
1/4-28 UNF - 2B



Ø2,00 - 8,00 TIEF



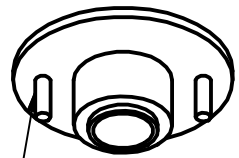
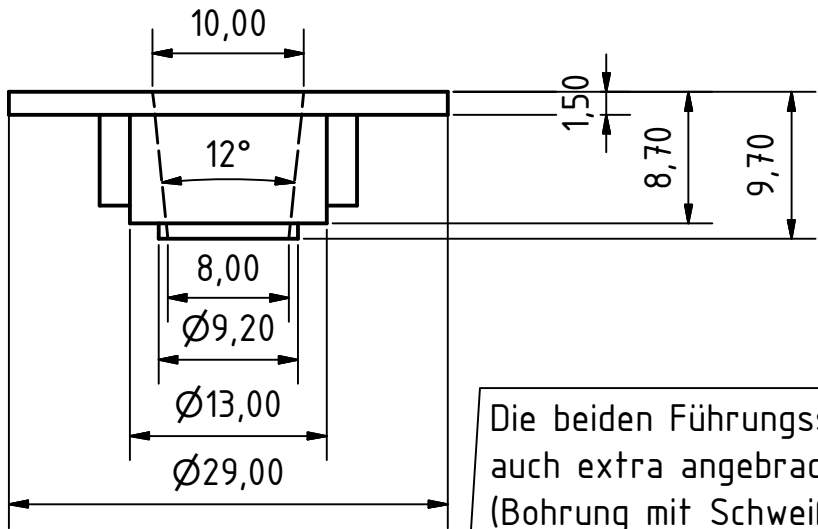
M30x0.75 - 6g
passend zu Bauteil 4



VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

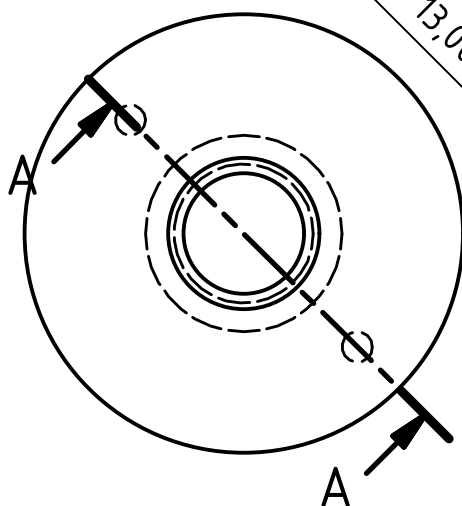
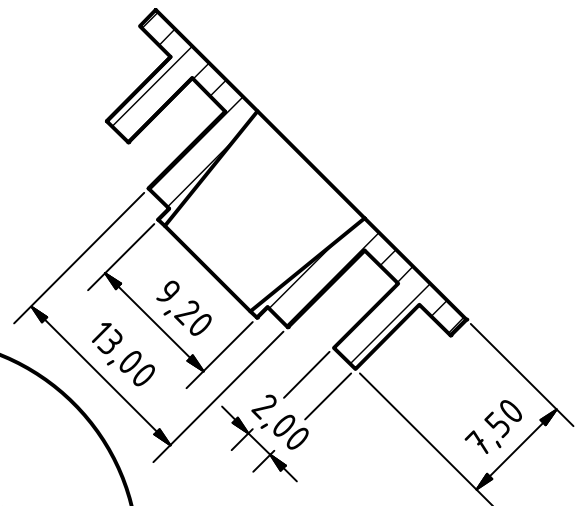
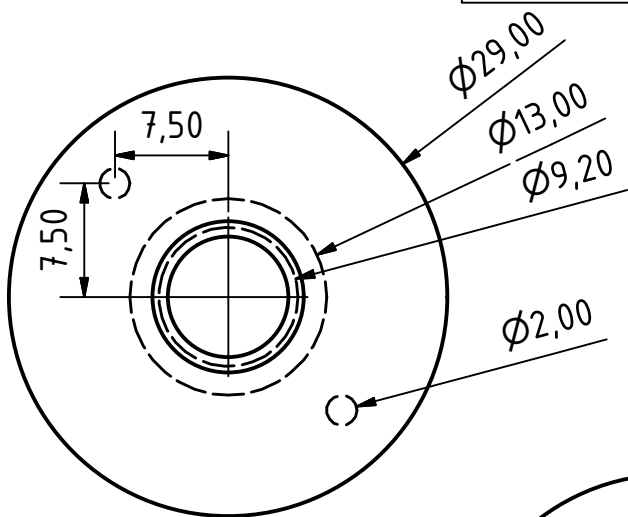
VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

		Maßstab: 2:1	Gewicht:								
		Material: V2A									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Datum</th> <th>Name</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Gezeichnet 04.08.2011</td> <td>Timo Beskers</td> </tr> <tr> <td>Kontrolliert</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Norm</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		Datum	Name	Gezeichnet 04.08.2011	Timo Beskers	Kontrolliert		Norm		GPC-IR Transmissionszelle Basis	
Datum	Name										
Gezeichnet 04.08.2011	Timo Beskers										
Kontrolliert											
Norm											
		2	1 A4								
Status	Änderungen	Datum	Name								



Die beiden Führungsstifte dürfen auch extra angebracht werden (Bohrung mit Schweißpunkt o.ä. auf Rückseite). Sie verhindern nur ein Verdrehen beim Zusammenbau, wenn's klemmt Bohrung auf 2,5mm aufbohren.

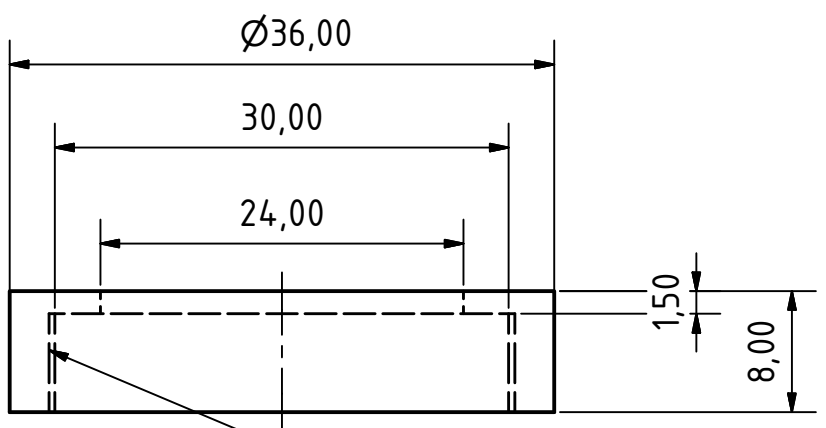
A-A (2 : 1)



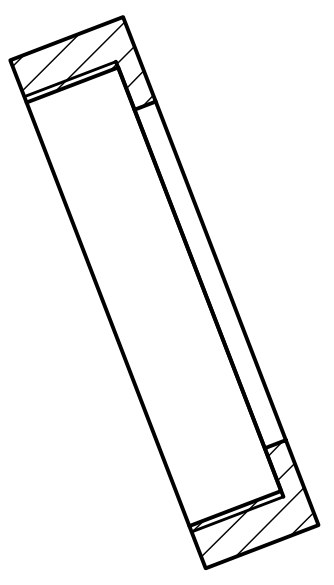
VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

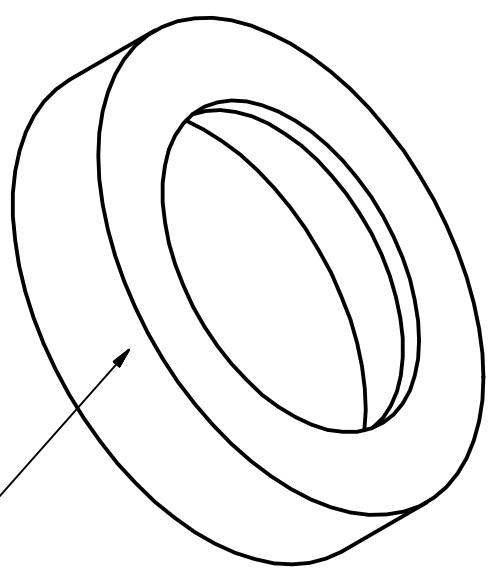
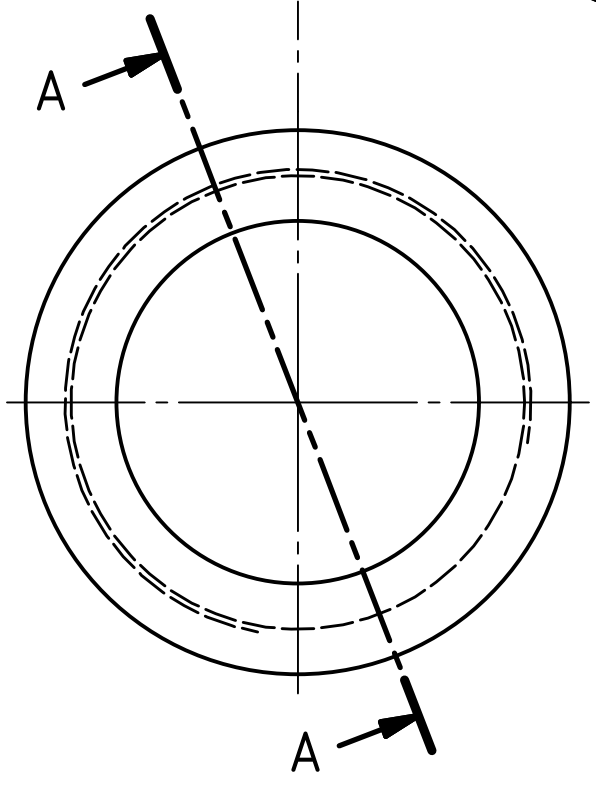
		Maßstab: 2:1	Gewicht:								
		Material: V2A									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Datum</th> <th>Name</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Gezeichnet 04.08.2011</td> <td>Timo Beskers</td> </tr> <tr> <td>Kontrolliert</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Norm</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		Datum	Name	Gezeichnet 04.08.2011	Timo Beskers	Kontrolliert		Norm		<p>GPC-IR Transmissionszelle Führung</p>	
Datum	Name										
Gezeichnet 04.08.2011	Timo Beskers										
Kontrolliert											
Norm											
Status	Änderungen	Datum	Name	3	1						
					A4						



A-A (2 : 1)



M30x0.75 - 6H
passend für Bauteil 2

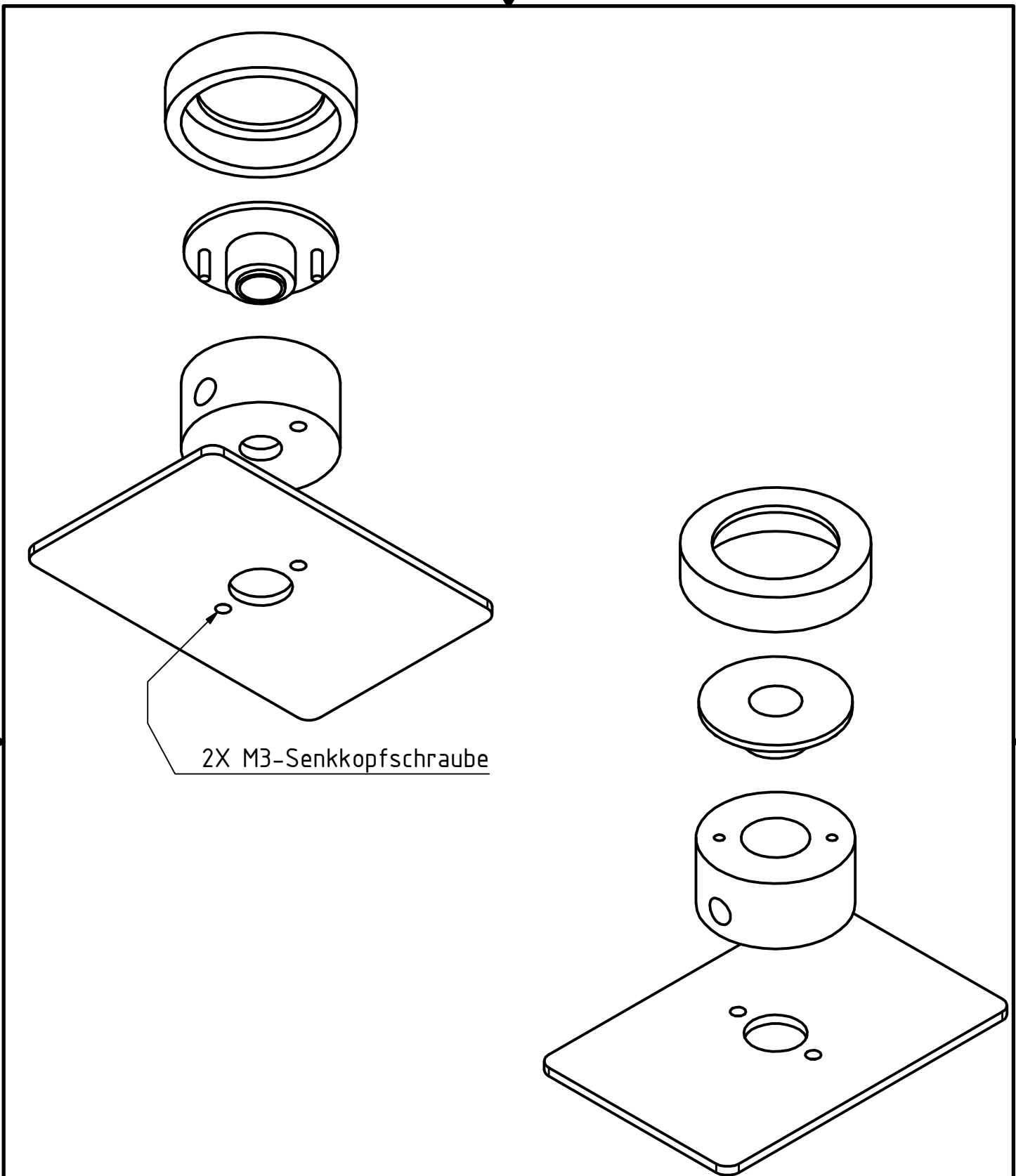


Rauhe Oberfläche für
Verschraubung von Hand möglich?

VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

				Maßstab: 2:1	Gewicht:
				Material: V2A	
		Datum	Name	GPC-IR Transmissionszelle Schraubring	
		Gezeichnet	04.08.2011 Timo Beskers		
		Kontrolliert			
		Norm			
				4	1
Status	Änderungen	Datum	Name		A4

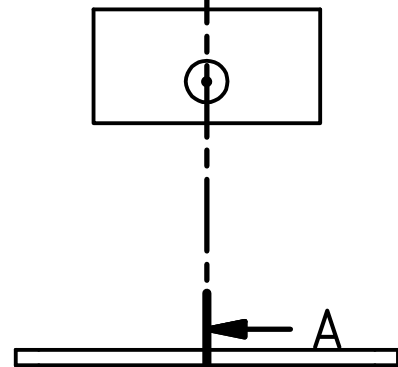
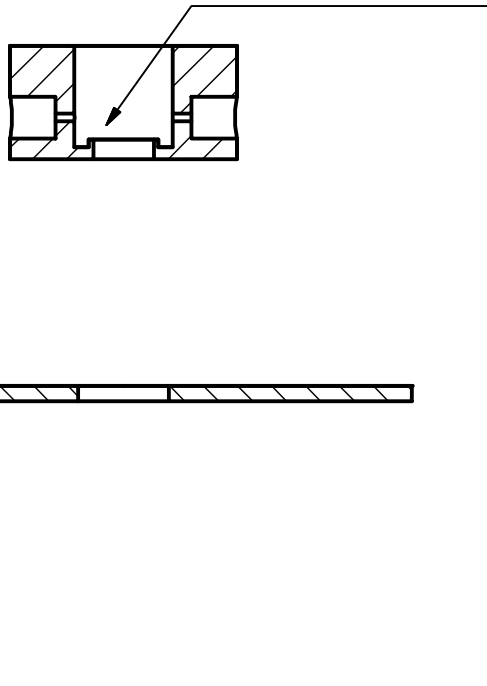
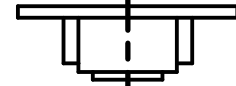
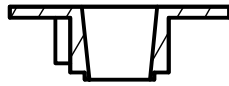


2X M3-Senkkopfschraube



				Maßstab: 1:1	Gewicht:
				Material:	
		Datum	Name	GPC-IR Transmissionszelle Übersicht 1	
		Gezeichnet	04.08.2011 Timo Beskers		
		Kontrolliert			
		Norm			
Status	Änderungen	Datum	Name	1 A4	





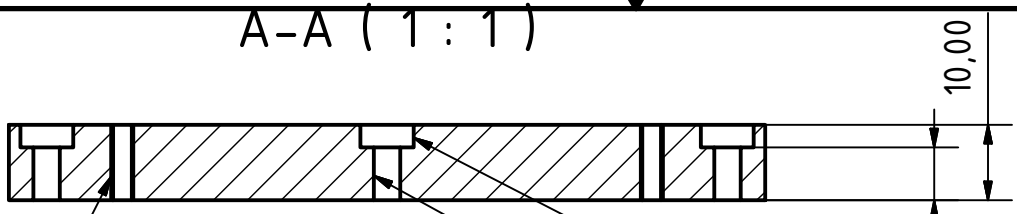
Hier wird ein Aufbau aus O-Ringen, Kristallfenstern und Abstandshaltern eingeklemmt. Wichtig ist, dass die 13mm Führung möglichst genau passt, damit keine Flüssigkeit ausläuft!

VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

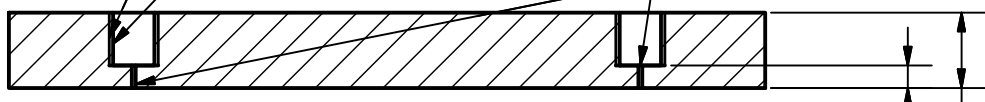
				Maßstab: 1:1	Gewicht:
				Material:	
		Datum	Name	GPC-IR Transmissionszelle Übersicht 2	
		Gezeichnet	05.08.2011 Timo Beskers		
		Kontrolliert			
		Norm			
Status	Änderungen	Datum	Name	1 A4	

A-A (1:1)



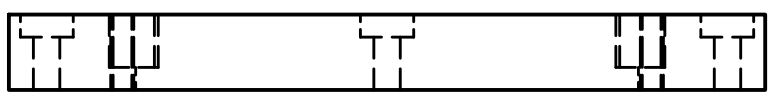
M3x0.5 - 6H
1/4-28 UNF - 2B
Ø5.50 - 7.00 TIEF

B-B (1:1)



Ø3.50 - 10.00 TIEF
Ø7.00 - 3.00 TIEF
Ø0.50 - 10.00 TIEF

Boden sollte flach sein.



3,00
10,00

100,00

95,00

85,00

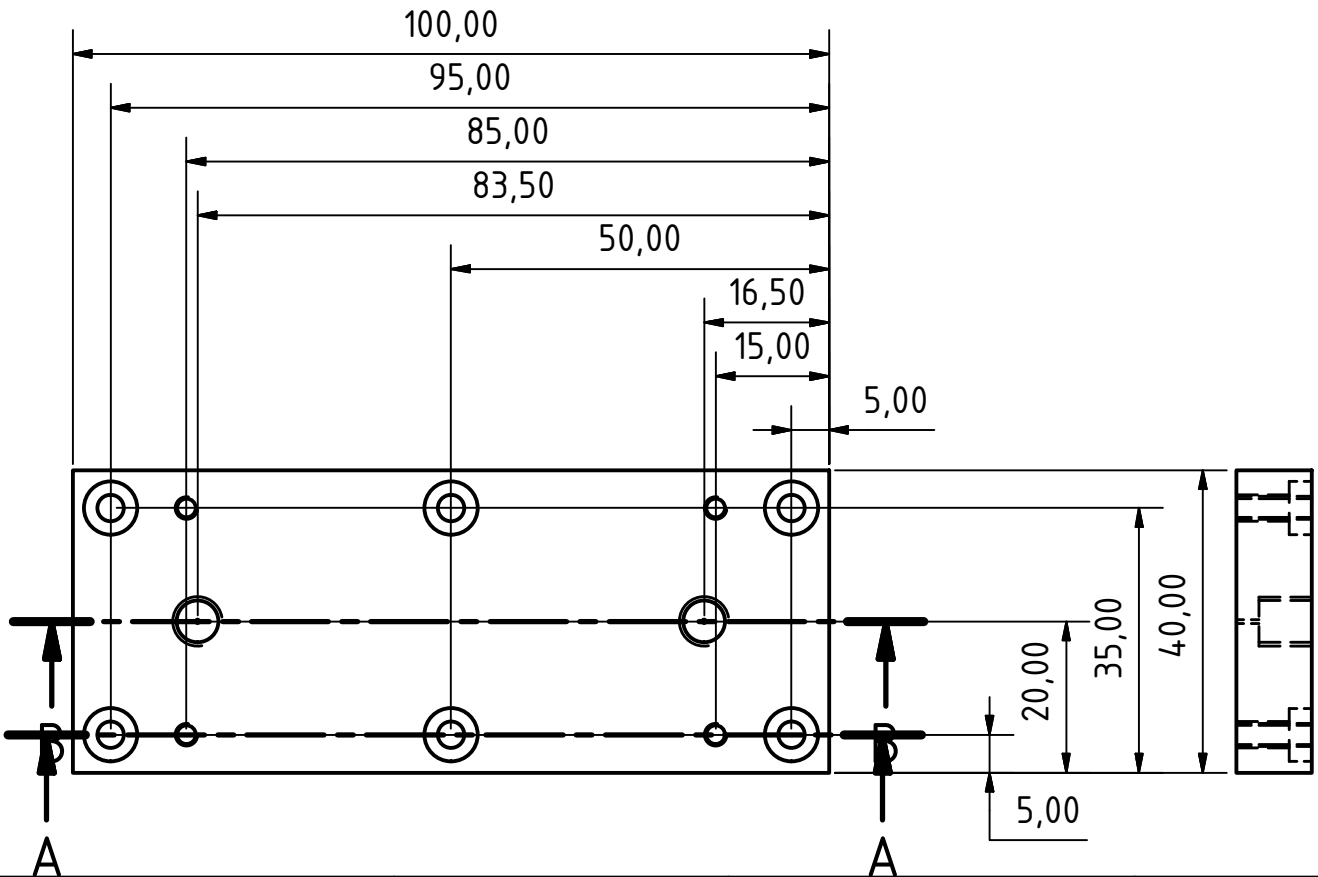
83,50

50,00

16,50

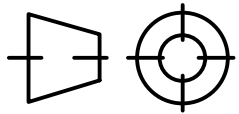
15,00

5,00



A

A



Maßstab: 1:1

Gewicht:

Material: V2A

ATR6 - Deckplatte



1

A4

Status	Änderungen	Datum	Name

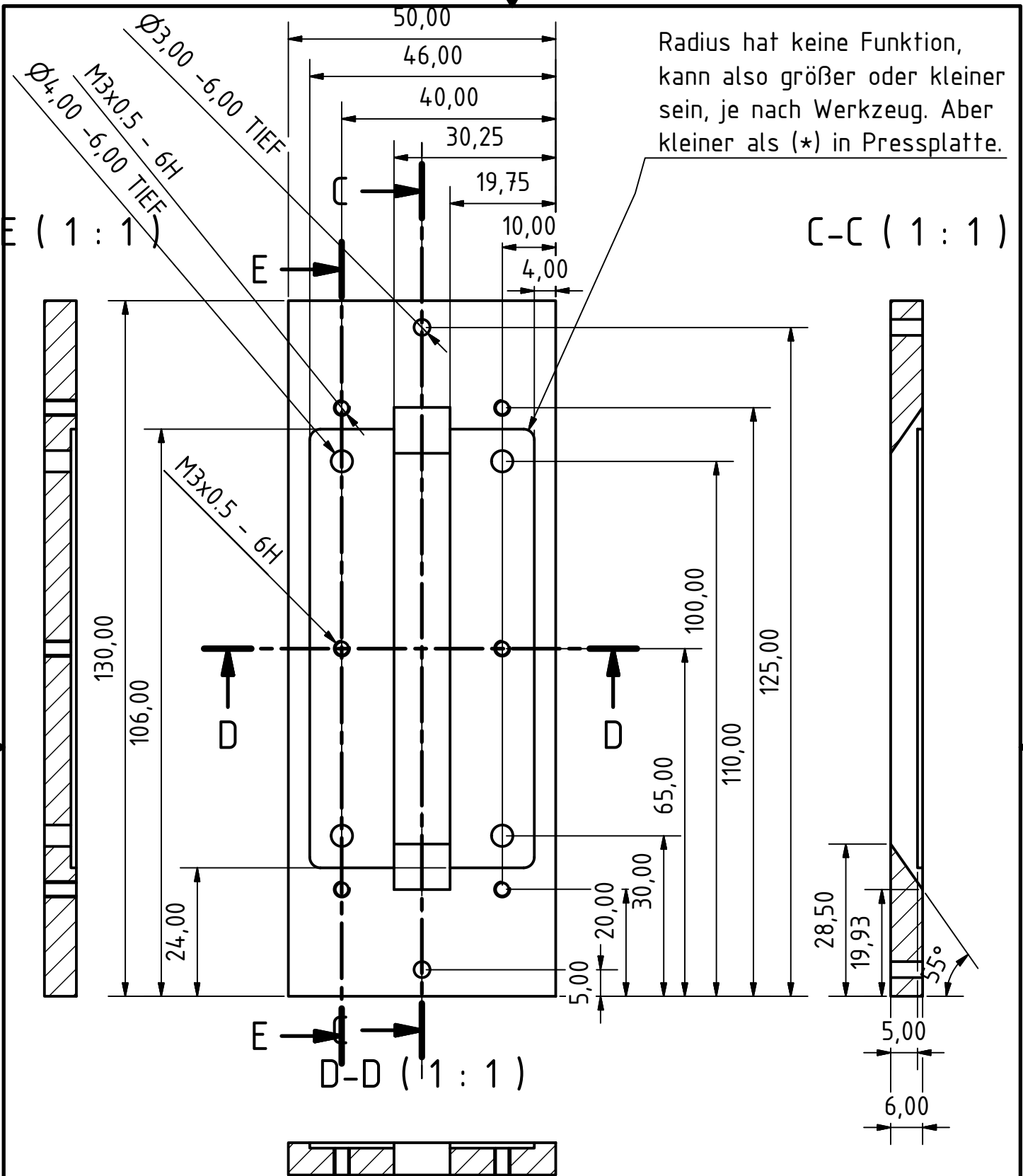
VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT



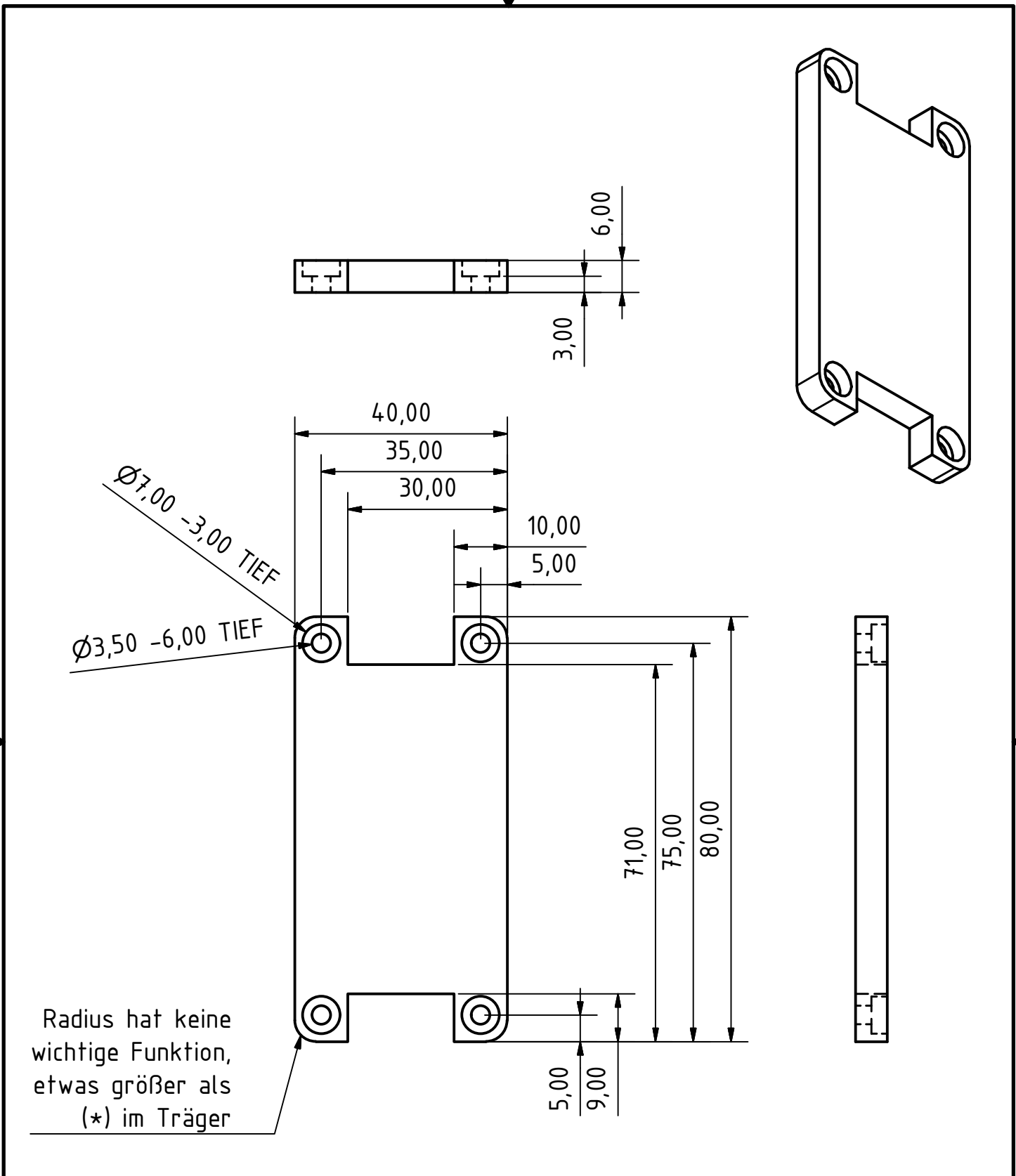
VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT

VON EINEM AUTODESK-SCHULUNGSPRODUKT ERSTELLT



		Maßstab: 1:1	Gewicht:
		Material: Aluminium	
Datum		Name	
Gezeichnet	12.07.2013	Timo Beskers	
Kontrolliert			
Norm			
		ATR6 - Träger	
Status	Änderungen	Datum	Name
		A4	





		Maßstab: 1:1	Gewicht:
		Material: Aluminium	
		ATR6 - Pressplatte	
		1	
		A4	
Status	Änderungen	Datum	Name



A.4. Quellcode der TIMO-Software

Listing A.1: Hauptfile

```

1 function varargout = QCLTIMO(varargin)
2 % QCLTIMO MATLAB code for QCLTIMO.fig
3 % QCLTIMO, by itself, creates a new QCLTIMO or raises the
4 % existing
5 % singleton*.
6 % H = QCLTIMO returns the handle to a new QCLTIMO or the
7 % handle to
8 % the existing singleton*.
9 % QCLTIMO('CALLBACK', hObject, eventData, handles, ...) calls
10 % the local
11 % function named CALLBACK in QCLTIMO.M with the given input
12 % arguments.
13 % QCLTIMO('Property', 'Value', ...) creates a new QCLTIMO or
14 % raises the
15 % existing singleton*. Starting from the left, property
16 % value pairs are
17 % applied to the GUI before QCLTIMO_OpeningFcn gets called.
18 % An
19 % unrecognized property name or invalid value makes property
20 % application
21 % stop. All inputs are passed to QCLTIMO_OpeningFcn via
22 % varargin.
23 % *See GUI Options on GUIDE's Tools menu. Choose "GUI
24 % allows only one
25 % instance to run (singleton)".
26 % See also: GUIDE, GUIDATA, GUIHANDLES
27 % Edit the above text to modify the response to help QCLTIMO
28 % Last Modified by GUIDE v2.5 02-Sep-2013 13:05:29
29 % Begin initialization code – DO NOT EDIT
30 gui_Singleton = 1;
31 gui_State = struct('gui_Name', mfilename, ...
32 'gui_Singleton', gui_Singleton, ...
33 'gui_OpeningFcn', @QCLTIMO_OpeningFcn, ...
34 'gui_OutputFcn', @QCLTIMO_OutputFcn, ...
35 'gui_LayoutFcn', [] , ...
36 'gui_Callback', []);

```

A. Anhang

```
27 if nargin && ischar(varargin{1})
28     gui_State.gui_Callback = str2func(varargin{1});
29 end
30 if narginout
31     [varargout{1:narginout}] = gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
32 else
33     gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
34 end
35 % End initialization code - DO NOT EDIT
36
37 function QCLTIMO_OpeningFcn(hObject, eventdata, handles, varargin
    )
38 handles.output = hObject;
39 % Grafik1 einfügen
40 axes(handles.axes2);           % Auswahl des entsprechenden Axes-
    Objekts
41 G1=imread('TIMO.dat','bmp');   % Einlesen der Grafik
42 image(G1); axis image;       % Grafik ausgeben, Grafik
    entzerren
43 axis off                       % Koordinatenachsen ausblenden
44 % Standardwerte setzen
45 Standard=load('qclparameters.dat');
46 set(handles.anfang, 'String', Standard(1,:));
47 set(handles.ende, 'String', Standard(2,:));
48 set(handles.flowrate, 'String', Standard(3,:));
49 set(handles.polynom, 'String', Standard(4,:));
50 set(handles.siganfang, 'String', Standard(5,:));
51 set(handles.sigende, 'String', Standard(6,:));
52 set(handles.messzeit, 'String', Standard(7,:));
53 guidata(hObject, handles);
54
55 function varargout = QCLTIMO_OutputFcn(hObject, eventdata,
    handles)
56 varargout{1} = handles.output;
57
58 function berechnen_Callback(hObject, eventdata, handles)
59 set(handles.berechnen, 'String', '⌂Loading...')
60 drawnow;
61 [ArdNas]=FileOpen(get(handles.laden, 'String'));
62 %% Matrix anpassen und Untermatrizen erstellen
```

A. Anhang

```
63 ArdNas=ArdNas';
64 WelZah=ArdNas(:,1);
65 Siz=size(ArdNas);
66 TimSli=0:1:(Siz(1,2)-1);
67 ArdNas=[TimSli;ArdNas];
68 ArdNasRed=ArdNas;
69 ArdNasRed(:,1)=[];
70 MinPeak=ArdNasRed;
71 Siz=size(MinPeak);
72 Aran=rand;
73 if Aran<0.2
74     set(handles.berechnen,'String','Wait_a_second...')
75     drawnow;
76 elseif Aran<0.5
77     set(handles.berechnen,'String','Please_wait.')
78     drawnow;
79 elseif Aran<0.9
80     set(handles.berechnen,'String','Gone_for_Coffee...')
81     drawnow;
82 elseif Aran<0.95
83     set(handles.berechnen,'String','Gone_fishing.')
84     drawnow;
85 else
86     set(handles.berechnen,'String','I''ll_be_back!')
87     drawnow;
88 end
89 SpekVol=60/(str2double(get(handles.flowrate,'String'))*str2double
    (get(handles.messzeit,'String')));
90 PeakAnf=round(str2double(get(handles.anfang,'String'))*SpekVol);
91 PeakEnd=floor(str2double(get(handles.ende,'String'))*SpekVol);
92 KilSpa=PeakAnf;
93 set(handles.ende,'BackgroundColor','white');
94 if PeakEnd > Siz(1,2)
95     set(handles.ende,'String','too_high');
96     set(handles.ende,'BackgroundColor','yellow');
97     set(handles.berechnen,'String','Try_again')
98     return
99 end
100 while PeakAnf<=PeakEnd
101     MinPeak(:,KilSpa)=[];
```

A. Anhang

```

102     PeakAnf=PeakAnf+1;
103 end
104 %% FitNessen und Abziehen von Originaldaten
105 Grad=str2double(get(handles.polynom, 'String'));
106 FitNess=Drift(Grad, ArdNasRed, MinPeak);
107 %% Basislinienkorrektur
108 LBAnf=str2double(get(handles.sigangfang, 'String'));
109 LBEnd=str2double(get(handles.sigende, 'String'));
110 if LBAnf~=LBEnd
111     [MinWer, LBA]=min(abs(WelZah-LBAnf));
112     [MinWer, LBE]=min(abs(WelZah-LBEnd));
113     LeeBer=FitNess(LBE:LBA,:);
114     SprWer=mean(LeeBer);
115     AbZug=repmat(SprWer, size(FitNess, 1), 1);
116     FitNess=FitNess-AbZug;
117 end
118 %% Matrizen zusammenführen und Speichern
119 WelZah=[0; WelZah];
120 ErgNis=[WelZah, FitNess];
121 if get(handles.ascend, 'Value')==1
122     Sf=size(ErgNis);
123     ErgNis=[ErgNis(1,:); flipud(ErgNis(2:Sf(1,1),:))];
124 end
125 ErgNis(1,:)=ErgNis(1,:)./SpekVol;
126 if get(handles.elucheck, 'Value')==1
127     S=size(ErgNis);
128     ErgNis=ErgNis(2:S(1,1),:);
129 end
130 dlmwrite([handles.dateipfad, get(handles.speichern, 'String')],
           ErgNis, 'delimiter', '\t', 'newline', 'pc')
131 clear AbZug DateiName ArdNasRed FitNess Grad KilSpa LBA LBAnf LBE
           LBEnd LeeBer MinPeak MinWer PeakAnf PeakEnd SchnittAnf
           SchnittEnd SinkName Siz SprWer TimSli WelZah Zaehler
132 set(handles.berechnen, 'String', 'Calculate')
133 drawnow;
134
135 function durchsuchen_Callback(hObject, eventdata, handles)
136 [Dateiname, Dateipfad, filterindex] = uigetfile('*.txt', 'Select_
           *.txt_file ...', 'MultiSelect', 'off');
137 Dateidisplay=sprintf('%s', Dateipfad, Dateiname);

```


A. Anhang

```
138 set(handles.laden, 'String', Dateidisplay);
139 Savedisplay=sprintf('%s', 'QCLTIMO-', Dateiname);
140 set(handles.speichern, 'String', Savedisplay);
141 handles.dateipfad=Dateipfad;
142 guidata(hObject, handles)
143
144 function parameters_Callback(hObject, eventdata, handles)
145 Standard=[str2double(get(handles.anfang, 'String'));
146           str2double(get(handles.ende, 'String'));
147           str2double(get(handles.flowrate, 'String'));
148           str2double(get(handles.polynom, 'String'));
149           str2double(get(handles.sigangfang, 'String'));
150           str2double(get(handles.sigende, 'String'));
151           str2double(get(handles.messzeit, 'String'))];
152 dlmwrite('qclparameters.dat', Standard, 'delimiter', '\t', '
newline', 'pc')
```

Listing A.2: Drift

```
1 function [Reduced]=Drift(Order, Matrix, MatrixRed)
2 s=size(Matrix);
3 N=Order+1;
4 t=1:1:s(1,2);
5 Reduced=Matrix;
6 for m=2:s(1,1)
7 P=polyfit(MatrixRed(1,:), MatrixRed(m,:), Order);
8 for n=1:N
9 Reduced(m,:)=Reduced(m,:)-P(1,n).*t.^(N-n);
10 end;
11 end;
```

Listing A.3: FileOpen

```
1 %% FileOpen.m
2 % written by Ingo F.C. Naue, 2009– July–16
3 function [Matrix]=FileOpen(Name)
4
5 fop=fopen(Name, 'r');
6
7 %% Checking the First Data Line for the amount of Columns
8 line=fgets(fop);
```

```
9 SizeLine=size(line);
10 ColNum=1;
11 %% Determination of the amount of columns
12 for s=1:SizeLine(1,2)
13     Letter=line(1,s);
14
15     Compare1=strcmp(Letter,'_');
16     Compare2=strcmp(Letter,'__');
17
18     if Compare1~=0 || Compare2~=0
19         ColNum=ColNum+1;
20     end;
21     s=s+1;
22 end;
23 fclose(fop);
24 fop=fopen(Name,'r');
25 Matrix=fscanf(fop,'%f',[ColNum,inf]);
26 fclose(fop);
27
28 end
```

Abkürzungen, Symbole und Konstanten

ΔG°	freie Gibbs'sche Enthalpie
ΔH°	Standardenthalpie
ΔS°	Standardentropie
D	Dispersität, s. auch <i>PDI</i>
ϵ	Extinktionskoeffizient
η	Viskosität
η_r	relative Viskosität
$[\eta]$	intrinsische Viskosität, Grenzviskosität oder Staudinger Index
λ	Wellenlänge
ν	Frequenz
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl
ADC	Analog-Digital-Wandler
ATR	abgeschwächte Totalreflexion
c	Konzentration in g/L
c	Lichtgeschwindigkeit $c = 2,997\,924\,58 \times 10^8$ m/sek
ca.	circa, etwa
d	Dicke, Distanz, Tiefe
D^*	spezifische Detektivität
D_m	Diffusionskoeffizient
DFT	diskrete Fourier-Transformation
DRI	differentieller Brechungsindexdetektor, engl. „differential refractive index detector“
DTGS	deutერიertes Triglycinsulfat
\mathfrak{F}	Fourier-Transformation
FFKM	DIN-Kurzzeichen für perfluorierte Elastomere Markennamen: Kalrez, Isolast oder Chemraz
FFT	Fast-Fourier-Transform
FIR	fernes Infrarot
FTIR	Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie
Gl.	Gleichung
GPC	Gelpermeationschromatographie häufig synonym zu SEC benutzt
h	Plancksche Konstante $h = 6,626\,08 \times 10^{-34}$ Js
H	Trennstufen- oder Bodenhöhe
HPLC	Hochdruck-Flüssigchromatographie,

A. Anhang

	engl. „high performance/pressure liquid chromatography“
<i>I</i>	Intensität
I_0	Anfangsintensität
IR	Infrarot
<i>K</i>	Gleichgewichtskonstante
LSD	Lichtstreuendetektor engl. „light scattering detector“
<i>M</i>	Molekulargewicht
M_n	Zahlenmittel des Molekulargewichts
M_w	Gewichtsmittel des Molekulargewichts
MALLS	Vielwinkellichtstreuung engl. „multi angle laser light scattering“
MIR	mittleres Infrarot
MS	Massenspektrometrie
<i>n</i>	Brechungsindex
<i>N</i>	Noise, Rauschen
<i>N</i>	Trennstufenzahl HINWEIS: <i>N</i> ist als Bezeichnung sowohl für das Rauschen, als auch für die Trennstufenzahl so weit verbreitet, dass eine Abweichung von der Konvention oder ein ergänzender Index dem Verständnis nicht förderlich wären. Da beide Bezeichnungen nur in unterschiedlichen Zusammenhängen (<i>N</i> z.B. meist als S/N) vorkommen ist eine Verwechslung sehr unwahrscheinlich und auf eine Unterscheidung wurde bewusst verzichtet.
NIR	nahes Infrarot
<i>p</i>	Druck
$P(\theta)$	Partikelstrefaktor
PB	Polybutadiene
PDMS	Polydimethylsiloxan
PE	Polyethylen
PEEK	Polyetheretherketon
<i>PDI</i>	Polydispersitätsindex, s. auch \mathfrak{D}
PMMA	Polymethylmethacrylat
PP	Polypropylen
PS	Polystyrol
PTFE	Polytetrafluorethylen, Teflon
PTMEG	Polytetramethylenetherglykol auch Polytetrahydrofuran genannt
PVC	Polyvinylchlorid
QCL	Quantenkaskadenlaser
RIU	Brechungsindexeinheit, engl. „refractive index unit“
<i>S</i>	Signal
SEC	Größenausschlusschromatographie engl. „size exclusion chromatography“ häufig wird GPC synonym gebraucht
S/N	Signal-zu-Rausch-Verhältnis

A. Anhang

t	Zeit
t_R	Retentionszeit
T	thermodynamische Temperatur
TCB	1,2,4-Trichlorbenzol
THF	Tetrahydrofuran
TIMO	steht für engl. „ <u>T</u> ime resolved <u>I</u> nfrared spectroscopy for <u>M</u> olecular <u>O</u> nline <u>G</u> PC <u>D</u> etection“ und benennt die in dieser Arbeit entwickelte, neuartige Detektionsmethode
u	Fließgeschwindigkeit
UV	ultravioletter Spektralbereich
V	Volumen
V_0	Elutionsvolumen des ersten Peaks der GPC
V_h	hydrodynamisches Volumen
V_t	Totvolumen
VIS	sichtbarer Spektralbereich

Abbildungsverzeichnis

1.1. Eigenschaften von Polymeren	5
2.1. Einteilung der Chromatographie	11
2.2. Aufbau einer HPLC-Anlage	12
2.3. Trennprinzip der GPC	14
2.4. Idealierte Kalibrierkurve einer GPC-Säule	15
2.5. Zimm-Auftragung	20
2.6. Verteilung einer Probe in GPC-Säule	24
2.7. van Deemter-Kurve für LAC und SEC	26
2.8. Schema eines spektroskopischen Experiments.	28
2.9. Prinzip der ATR	34
2.10. Vergleichsspektrum ATR und Transmission	35
2.11. Interband- und Intersubbandübergang	36
2.12. Prinzip der Emission bei QCLs	37
3.1. Offline-GPC-FTIR-Kopplung mittels Lösungsmittelverdampfung	44
4.1. GPC-Aufbau mit FTIR-Detektor	48
4.2. Apodisierung	54
4.3. Zeichnung der ATR Flusszellen mit 1 Reflexion	56
4.4. Explosionszeichnung der ATR-Zellen	58
4.5. Explosionszeichnung der Transmissionzelle	59
4.6. Sensitivitätsspektrum der ATR-Zellen im Vergleich	62
4.7. Bandenverbreiterung durch die Flusszellen in den FTIR-Daten	64
4.8. Bandenverbreiterung durch die Flusszellen in den DRI-Daten	65
4.9. Screenshot der TIMO-Software	68
4.10. Schema zur Auswahl der Referenzdaten zur Lösungsmittelunterdrückung	70
4.11. Driftkorrektur und Lösungsmittelunterdrückung	71
4.12. Trennleistung bei verschiedenen Flussraten (analytische Säule)	78
4.13. Trennleistung bei verschiedenen Flussraten (semipräparative Säule)	79
4.14. Säulendimensionen im Vergleich: DRI Daten	81
4.15. Säulendimensionen im Vergleich: FTIR Daten	82
4.16. Auswirkung von Überladung auf den <i>PDI</i>	83
4.17. Überladung	84
4.18. Aufbau EC-QCL-Spektrometer	86
4.19. Charakteristik des Lasers	87
4.20. Drifts des EC-QCL-Spektrometer	89

Abbildungsverzeichnis

5.1.	2D Chromatogramm eines PS-PMMA-Blends	94
5.2.	Spektren aus der TIMO-Detektion	95
5.3.	Verteilung der chemischen Zusammensetzung	97
5.4.	Überladung und molmassenabhängige chem. Zusammensetzung	99
5.5.	Chromatogramm einer isorefraktiven Probe: PDMS in THF	101
5.6.	Chromatogramme bei ähnlichen Spektren: PEG in THF	102
5.7.	Chromatogramme bei ähnlichen Spektren: PS in Toluol	103
5.8.	Sensitivitätslimit bei geringem Dipolmoment	104
5.9.	LAC-Trennung dreier Zucker mit EC-QCL-Detektion (Wasserfallplot)	105
5.10.	Sensitivitätsvergleich der EC-QCL-Messmodi	107
5.11.	Identifikation der Zucker aus der LAC-QCL-Kopplung	108
5.12.	Identifikation von Sorbitol und Ethanol	109
5.13.	Sensitivitätsvergleich EC-QCL und FTIR	110
5.14.	Sensitivitätsspektrum von EC-QCL und FTIR	111
5.15.	PEG Spektren im Vergleich EC-QCL/FTIR	112
6.1.	2D Chromatographie mit FTIR-, MR-NMR- und QCL-Detektor	118

Tabellenverzeichnis

2.1. Übersicht über die GPC-Detektoren.	17
4.1. Relative Peakbreiten und Peakhöhen aus Abb. 4.7	63
4.2. Relative Peakbreiten und Peakhöhen aus Abb. 4.8	64
4.3. Übersicht über die in der Promotion konstruierten Flusszellen und deren wichtigste, gemessene Eigenschaften.	66
4.4. Übersicht über die Messungen bei verschiedenen Flussraten sowie die dadurch erzielten Verbesserungen der Trennleistung bzw. der Anzahl der theoretischen Böden N und in der Signalhöhe S , welche der Verbesserung im Signal-zu-Rausch-Verhältnis entspricht.	79
4.5. Die ermittelten $\frac{S/N}{\sqrt{t}}$ -Werte für die beiden Spektrometer FTIR und EC-QCL im Scan-Modus sowie „single wavelength“ SW-Modus im Vergleich. Gemessen wurde eine PEG Lösung mit $c = 1$ g/L als Signal und Rauschen zeitabhängig mit reinem Wasser.	90
5.1. Die aus der Kalibriermessung berechneten Detektionslimits (LOD) im Vergleich mit FTIR-Referenzdaten aus [133].	108

Literatur

- [1] H. Morawetz, *Polymers: the origins and growth of a science*, Wiley, New York, **1985**.
- [2] V. Percec, *Hierarchical Macromolecular Structures: 60 Years After the Staudinger Nobel Prize I*, Springer International Publishing, **2014**.
- [3] H. Staudinger, »Über Polymerisation«, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1920**, *53*, 1073–1085.
- [4] H. Staudinger, J. Fritschi, »Über Isopren und Kautschuk. 5. Mitteilung. Über die Hydrierung des Kautschuks und über seine Konstitution«, *Helv. Chim. Acta* **1922**, *5*, 785–806.
- [5] H. Staudinger, »Über die Konstitution des Kautschuks (6. Mitteilung)«, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1924**, *57*, 1203–1208.
- [6] K. Ziegler, E. Holzkamp, H. Breil, H. Martin, »Das Mülheimer Normaldruck-Polyäthylen-Verfahren«, *Angew. Chem.* **1955**, *67*, 541–547.
- [7] G. Wilke, N. B. Arbeiten Bogdanovic, P. Borner, H. Breil, P. Hardt, P. Heimbach, G. Herrmann, H.-J. Kaminsky, W. Keim, M. Kröner, H. Müller, E. W. Müller, W. Oberkirch, J. Schneider, J. Stedefeder, K. Tanaka, K. Weyer, G. Wilke, »Cyclooligomerisation von Butadien und Übergangsmetall- π -Komplexe«, *Angew. Chem.* **1963**, *75*, 10–20.
- [8] G. Natta, »Von der stereospezifischen Polymerisation zur asymmetrischen autokatalytischen Synthese von Makromolekülen«, *Angew. Chem.* **1964**, *76*, 553–566.
- [9] P. C. Hiemenz, T. P. Lodge, *Polymer Chemistry*, 2. Aufl., CrcPress, **2007**.
- [10] D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, 6. Aufl., Brooks Cole, Belmont (CA), **2006**.
- [11] R. O. Carter, »The Determination of S/N in an FT-IR Experiment and the Optimization of a Broad-Band HgCdTe Detector«, *Appl. Spectrosc.* **1986**, *40*, 272–273.
- [12] Harrick Scientific Products Inc., What is the S/N for an FT-IR measurement?, http://www.harricksci.com/sites/default/files/pdf/faqs/FAQ_SN_for_an_FTIR_measurement.pdf, abgerufen am 28. April 2014.
- [13] V. Thomsen, D. Schatzlein, D. Mercurio, »Limits of Detection in Spectroscopy«, *Spectroscopy* **2003**, *18*, 112–114.

Literatur

- [14] D. MacDougall, W. B. Crummett, »Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry«, *Anal. Chem.* **1980**, *52*, 2242–2249.
- [15] V. R. Meyer, *Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie*, 10. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2009**.
- [16] E. G. Malawer, L. Senak, »Introduction to Size Exclusion Chromatography« in *Handbook Of Size Exclusion Chromatography And Related Techniques*, (Hrsg.: C.-S. Wu), Chromatographic Science Series, Dekker, New York, **2003**, Kap. 1, S. 1–24.
- [17] S. Mori, H. G. Barth, *Size Exclusion Chromatography*, Springer, Berlin, **1999**.
- [18] D. Held, P. Kilz, »Qualifizierung von GPC/GFC/SEC-Daten und Ergebnissen« in *Chromatogramme richtig integrieren und bewerten*, (Hrsg.: S. Kromidas, H.-J. Kuss), Wiley-VCH, Weinheim, **2008**, Kap. 7, S. 235–266.
- [19] L. K. Kostanski, D. M. Keller, A. E. Hamielec, »Size-exclusion chromatography-a review of calibration methodologies«, *J. Biochem. Biophys. Methods* **2004**, *58*, 159–186.
- [20] S. Lindsay, *Einführung in die HPLC*, Springer, Berlin, **2000**.
- [21] W. Schmidt, *Optische Spektroskopie*, 2. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [22] L. Huber, S. A. George, *Diode array detection in HPLC*, Dekker, New York, **1993**.
- [23] B. Hunt, M. James, *Polymer Characterization*, Blackie Acad. & Professional, London, **1993**.
- [24] B. H. Zimm, »Molecular Theory of the Scattering of Light in Fluids«, *J. Chem. Phys.* **1945**, *13*, 141–145.
- [25] B. H. Zimm, »The Scattering of Light and the Radial Distribution Function of High Polymer Solutions«, *J. Chem. Phys.* **1948**, *16*, 1093–1099.
- [26] P. J. Wyatt, »Light scattering and the absolute characterization of macromolecules«, *Anal. Chim. Acta* **1993**, *272*, 1–40.
- [27] C. Jackson, H. G. Barth, »Molecular Weight Sensitive Detectors for Size Exclusion Chromatography« in *Handbook Of Size Exclusion Chromatography And Related Techniques*, (Hrsg.: C.-S. Wu), Chromatographic Science Series, Dekker, New York, **2003**, Kap. 4, S. 99–138.
- [28] D. Held, P. Kilz, »Understanding Positive and Negative Detector Signals«, *LCGC The Column* **2008**, *10*, 17–20.
- [29] S. Grcev, P. Schoenmakers, P. Iedema, »Determination of molecular weight and size distribution and branching characteristics of PVAc by means of size exclusion chromatography/multi-angle laser light scattering (SEC/-MALLS)«, *Polymer* **2004**, *45*, 39–48.
- [30] A. Einstein, »Eine neue Bestimmung der Moleküldimensionen«, *Ann. Phys.* **1906**, *19*, 289–306.

Literatur

- [31] A. Einstein, »Berichtigung zu meiner Arbeit: "Eine neue Bestimmung der Moleküldimensionen"«, *Ann. Phys.* **1911**, *34*, 591–592.
- [32] M. D. Lechner, K. Gehrke, E. Nordmeier, *Makromolekulare Chemie*, 4. Aufl., Birkhäuser, Basel, **2010**.
- [33] R. F. T. Stepto, »Dispersity in polymer science (IUPAC Recommendations 2009)«, *Pure Appl. Chem.* **2009**, *81*, 351–353.
- [34] B. Tieke, *Makromolekulare Chemie*, 2. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.
- [35] A. M. Striegel, »Longitudinal diffusion in size-exclusion chromatography: a stop-flow size-exclusion chromatography study«, *J. Chromatogr. A* **2001**, *932*, 21–31.
- [36] J. J. van Deemter, F. J. Zuiderweg, A. Klinkenberg, »Longitudinal diffusion and resistance to mass transfer as causes of nonideality in chromatography«, *Chem. Eng. Sci.* **1956**, *5*, 271–289.
- [37] S.-T. Popovici, W. T. Kok, P. J. Schoenmakers, »Band broadening in size-exclusion chromatography of polydisperse samples«, *J. Chromatogr. A* **2004**, *1060*, 237–252.
- [38] S. T. Popovici, P. J. Schoenmakers, »Fast size-exclusion chromatography—Theoretical and practical considerations«, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1099*, 92–102.
- [39] L. H. Tung, J. R. Runyon, »Calibration of instrumental spreading for GPC«, *J. Appl. Polym. Sci.* **1969**, *13*, 2397–2409.
- [40] P. E. Pierce, J. E. Armonas, »A method of solving Tung's axial-diffusion equation for gel permeation chromatography«, *J. Polym. Sci. Part C: Polym. Symp.* **1968**, *21*, 23–29.
- [41] S. Mori, T. Suzuki, A. Wada, »A Simplified Solution of Tung's Instrumental Spreading Equation in Size-Exclusion Chromatography«, *J. Liq. Chromatogr.* **1983**, *6*, 61–75.
- [42] T. Gruending, S. Weidner, J. Falkenhagen, C. Barner-Kowollik, »Mass spectrometry in polymer chemistry: a state-of-the-art up-date«, *Polym. Chem.* **2010**, *1*, 599–617.
- [43] R. Cheng, S. Bo, »Simultaneous Calibration of Molecular Weight Separation and Column Dispersion of SEC with Characterized Polymer Standards«, *Chin. J. Polym. Sci.* **1983**, *1*, 125–131.
- [44] R.-S. Cheng, Z.-L. Wang, Y. Zhao, »Dependence of Spreading Factor on the Retention Volume of Size Exclusion Chromatography« in *Detection and Data Analysis in Size Exclusion Chromatography*, (Hrsg.: P. Theodore), American Chemical Society, Washington DC, **1987**, Kap. 17, S. 281–286.
- [45] J. C. Moore, »The Overload Effect in Gel Permeation Chromatography«, *Separ. Sci.* **1970**, *5*, 723–730.
- [46] A. Beer, »Bestimmung der Absorption des rothen Lichts in farbigen Flüssigkeiten«, *Ann. Phys.* **1852**, *86*, 78–88.

Literatur

- [47] T. F. Beskers, *On-line Kopplung und Optimierung der FT-IR-Spektroskopie mit der Gelpermeationschromatographie zur Polymercharakterisierung*, Diplomarbeit, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe, **2010**.
- [48] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 7. Aufl., Thieme, Stuttgart, **2005**.
- [49] G. Wedler, *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*, 5. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
- [50] H. Günzler, H.-U. Gremlich, *IR-Spektroskopie: Eine Einführung*, 4. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2003**.
- [51] A. A. Michelson, »The relative Motion of the Earth and the Luminiferous Ether«, *Am. J. Sci.* **1881**, *22*, 120–129.
- [52] A. A. Michelson, E. Morley, »On the Relative Motion of the Ether and the Luminiferous Ether«, *Am. J. Sci.* **1887**, *34*, 333–345.
- [53] J. W. Cooley, J. W. Tukey, »An Algorithm for the Machine Calculation of Complex Fourier Series«, *Math. Comput.* **1965**, *19*, 297–301.
- [54] C. F. Gauß, »Nachlass: Theoria interpolationis methodo nova tractata«, *Königliche Gesellschaft der Wissenschaften Göttingen* **1866**, *Band 3*, 265–327.
- [55] P. B. Fellgett, »On the ultimate sensitivity and practical performance of radiation detectors«, *J. Opt. Soc. Am.* **1949**, *39*, 970–976.
- [56] P. B. Fellgett, Diss., University of Cambridge, Cambridge, **1951**.
- [57] P. Jaquinot, »The Luminosity of Spectrometers with Prisms, Gratings, or Fabry-Perot Etalons«, *J. Opt. Soc. Am.* **1954**, *44*, 761–765.
- [58] J. Connes, P. Connes, »Near-Infrared Planetary Spectra by Fourier Spectroscopy. I. Instruments and Results«, *J. Opt. Soc. Am.* **1966**, *56*, 896–910.
- [59] W. Herres, J. Gronholz, »Datenverarbeitung in der FT-IR-Spektroskopie, Teil 1: Datenaufnahme und Fourier-Transformation«, *Computer-Anwendungen im Labor* **1984**, *5*, 352–356.
- [60] W. Herres, J. Gronholz, »Datenverarbeitung in der FT-IR-Spektroskopie, Teil 2: Einzelheiten der Spektrenberechnung«, *Computer-Anwendungen im Labor* **1984**, *6*, 418–425.
- [61] W. Herres, J. Gronholz, »Datenverarbeitung in der FT-IR-Spektroskopie, Teil 3: Über einige nützliche Operationen im Interferogramm- und Zeitbereich«, *Computer-Anwendungen im Labor* **1985**, *5*, 230–240.
- [62] A. E. Derome, *Modern NMR techniques for chemistry research*, Pergamon, Oxford, **1987**.
- [63] W. Heisenberg, »Über den anschaulichen Inhalt der quantentheoretischen Kinematik und Mechanik«, *Zeitschrift für Physik* **1927**, *43*, 172–198.
- [64] S. Albert, P. Lerch, M. Quack, »Synchrotron-Based Rotationally Resolved High-Resolution FTIR Spectroscopy of Azulene and the Unidentified Infrared Bands of Astronomy«, *ChemPhysChem* **2013**, *14*, 3204–3208.

Literatur

- [65] M. Quack, »Frontiers in spectroscopy«, *Faraday Discuss.* **2011**, *150*, 533–565.
- [66] Bruker Optik GmbH, Die FT-IR-Spektrometer der Serie IFS 125, <http://www.bruker.com/de/products/infrared-near-infrared-and-raman-spectroscopy/ft-ir-research-spectrometers/ifs125-series/overview.html>, abgerufen am 8. Mai 2014.
- [67] I. Newton, *Opticks: Or, A Treatise Of The Reflections, Refractions, Inflections and Colours Of Light*, Smith und Walford, London, **1704**.
- [68] J. Fahrenfort, »Attenuated total reflection: A new principle for the production of useful infra-red reflection spectra of organic compounds«, *Spectrochim. Acta* **1961**, *17*, 698–709.
- [69] F. M. Mirabella, *Internal reflection spectroscopy*, Harrick Scientific Corp., Ossining (NY, USA), **1985**.
- [70] W. Demtröder, *Experimentalphysik 2*, Springer, **2008**.
- [71] A. Lambrecht, M. Pfeifer, W. Konz, J. Herbst, F. Axtmann, »Broadband spectroscopy with external cavity quantum cascade lasers beyond conventional absorption measurements«, *Analyst* **2014**, *139*, 2070–2078.
- [72] J. Faist, F. Capasso, D. L. Sivco, C. Sirtori, A. L. Hutchinson, A. Y. Cho, »Quantum Cascade Laser«, *Science* **1994**, *264*, 553–556.
- [73] G. P. Luo, C. Peng, H. Q. Le, S. S. Pei, W.-Y. Hwang, B. Ishaug, J. Um, J. N. Baillargeon, C.-H. Lin, »Grating-tuned external-cavity quantum-cascade semiconductor lasers«, *Appl. Phys. Lett.* **2001**, *78*, 2834–2836.
- [74] R. Maulini, M. Beck, J. Faist, E. Gini, »Broadband tuning of external cavity bound-to-continuum quantum-cascade lasers«, *Appl. Phys. Lett.* **2004**, *84*, 1659–1661.
- [75] A. Hugi, R. Terazzi, Y. Bonetti, A. Wittmann, M. Fischer, M. Beck, J. Faist, E. Gini, »External cavity quantum cascade laser tunable from 7.6 to 11.4 μm «, *Appl. Phys. Lett.* **2009**, *95*, 061103.
- [76] M. J. Weida, D. Arnone, T. Day, »Tunable QC laser opens up mid-IR sensing applications«, *LaserFocusWorld* **2006**, *42*.
- [77] Daylight Solutions Inc., MIRcat Ultra-Broadly Tunable Mid-IR Laser, <http://www.daylightsolutions.com/scientific-instruments/sci-products/sci-lasers/mircat.htm>, abgerufen am 9. Mai 2014.
- [78] J. Faist, *Quantum cascade lasers*, 1. Aufl., Oxford University Press, Oxford, **2013**.
- [79] L. Esaki, R. Tsu, »Superlattice and Negative Differential Conductivity in Semiconductors«, *IBM J. Res. Dev.* **1970**, *14*, 61–65.
- [80] R. Kazarinov, R. A. Suris, »Possibility of amplification of electromagnetic waves in a semiconductor with a superlattice«, *Sov. Phys. Semicond.* **1971**, *5*, 707–709.

- [81] J. Faist, F. Capasso, C. Sirtori, D. L. Sivco, J. N. Baillargeon, A. L. Hutchinson, S.-N. G. Chu, A. Y. Cho, »High power mid-infrared quantum cascade lasers operating above room temperature«, *Appl. Phys. Lett.* **1996**, *68*, 3680–3682.
- [82] J. Ohtsubo, *Semiconductor lasers: stability, instability and chaos*, 3. Aufl., Springer, Berlin, **2013**.
- [83] F. Rossi, *Theory of semiconductor quantum devices: microscopic modeling and simulation strategies*, Springer, Berlin, **2011**.
- [84] M. Beck, D. Hofstetter, T. Aellen, J. Faist, U. Oesterle, M. Illegems, E. Gini, H. Melchior, »Continuous Wave Operation of a Mid-Infrared Semiconductor Laser at Room Temperature«, *Science* **2002**, *295*, 301–305.
- [85] G. N. Rao, A. Karpf, »External cavity tunable quantum cascade lasers and their applications to trace gas monitoring«, *Appl. Opt.* **2011**, *50*, A100–A115.
- [86] M. Brandstetter, B. Lendl, »Tunable mid-infrared lasers in physical chemosensors towards the detection of physiologically relevant parameters in biofluids«, *Sens. Actuators B* **2012**, *170*, 189–195.
- [87] M. Brandstetter, T. Sumalowitsch, A. Genner, A. E. Posch, C. Herwig, A. Drolz, V. Fuhrmann, T. Perkmann, B. Lendl, »Reagent-free monitoring of multiple clinically relevant parameters in human blood plasma using a mid-infrared quantum cascade laser based sensor system«, *Analyst* **2013**, *138*, 4022–4028.
- [88] S. Lüdeke, M. Pfeifer, P. Fischer, »Quantum-Cascade Laser-Based Vibrational Circular Dichroism«, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 5704–5707.
- [89] A. Hugi, R. Maulini, J. Faist, »External cavity quantum cascade laser«, *Semicond. Sci. Technol.* **2010**, *25*, 083001.
- [90] C. L. Wilkins, »Hyphenated Spectroscopic Detectors for Gas Chromatography« in *Gas Chromatography*, (Hrsg.: C. Poole), Elsevier, Amsterdam, **2012**, Kap. 13, S. 349–354.
- [91] N. Ragunathan, K. A. Krock, C. Klawun, T. A. Sasaki, C. L. Wilkins, »Gas chromatography with spectroscopic detectors«, *J. Chromatogr. A* **1999**, *856*, 349–397.
- [92] O. D. Sparkman, Z. Penton, F. G. Kitson, *Gas chromatography and mass spectrometry : a practical guide*, 2. Aufl., Elsevier, Amsterdam, **2011**.
- [93] R. E. Ardrey, *Liquid chromatography - mass spectrometry : an introduction*, Includes bibliographical references and index, Wiley, Chichester, **2003**.
- [94] W. A. Korfmacher, »Foundation review: Principles and applications of LC-MS in new drug discovery«, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 1357–1367.
- [95] H. Pasch, »Hyphenated separation techniques for complex polymers«, *Polym. Chem.* **2013**, *4*, 2628–2650.
- [96] H. Pasch, B. Trathnigg, *Multidimensional HPLC of polymers*, Springer, Berlin, **2013**.

- [97] J. Kuligowski, G. Quintás, S. Garrigues, M. de la Guardia, »Chemometric extraction of analyte-specific chromatograms in on-line gradient LC-infrared spectrometry«, *J. Sep. Sci.* **2009**, *32*, 4089–4095.
- [98] J. Kuligowski, G. Quintás, S. Garrigues, M. de la Guardia, »New background correction approach based on polynomial regressions for on-line liquid chromatography-Fourier transform infrared spectrometry«, *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 3122–3130.
- [99] J. Kuligowski, G. Quintás, S. Garrigues, M. de la Guardia, »Application of point-to-point matching algorithms for background correction in on-line liquid chromatography-Fourier transform infrared spectrometry (LC-FTIR)«, *Talanta* **2010**, *80*, 1771–1776.
- [100] W. Radke, J. Falkenhagen, »Liquid Interaction Chromatography of Polymers« in *Liquid Chromatography: Applications*, (Hrsg.: S. Fanali, P. R. Haddad, C. Poole, P. Schoenmakers, D. K. Lloyd), Elsevier, Amsterdam, **2013**, Kap. 5, S. 94–130.
- [101] K. Albert, »On-line use of NMR detection in separation chemistry«, *J. Chromatogr. A* **1995**, *703*, 123–147.
- [102] T. Kitayama, T. Shinozaki, E. Masuda, M. Yamamoto, K. Hatada, »Highly syndiotactic poly(methyl methacrylate) with narrow molecular weight distribution formed by tert-butyllithium-trialkylaluminium in toluene«, *Polym. Bull.* **1988**, *20*, 505–510.
- [103] S. H. Smallcombe, S. L. Patt, P. A. Keifer, »WET Solvent Suppression and Its Applications to LC NMR and High-Resolution NMR Spectroscopy«, *J. Magn. Reson. Ser. A* **1995**, *117*, 295–303.
- [104] R. Ogg, R. Kingsley, J. Taylor, »WET, a T1- and B1-Insensitive Water-Suppression Method for in Vivo Localized ^1H NMR Spectroscopy«, *J. Magn. Reson. Ser. B* **1994**, *104*, 1–10.
- [105] I. Krämer, H. Pasch, H. Händel, K. Albert, »Chemical heterogeneity analysis of high-conversion poly[styrene-co-(ethyl acrylate)]s by NMR and on-line coupled SEC-NMR«, *Macromol. Chem. Phys.* **1999**, *200*, 1734–1744.
- [106] H. Pasch, W. Hiller, »Analysis of a Technical Poly(ethylene oxide) by On-Line HPLC/ ^1H -NMR«, *Macromolecules* **1996**, *29*, 6556–6559.
- [107] W. Hiller, H. Pasch, T. Macko, M. Hofmann, J. Ganz, M. Spraul, U. Braumann, R. Streck, J. Mason, F. Van Damme, »On-line coupling of high temperature GPC and ^1H NMR for the analysis of polymers«, *J. Magn. Reson.* **2006**, *183*, 290–302.
- [108] W. Hiller, M. Hehn, P. Sinha, J.-A. Raust, H. Pasch, »Online Coupling of Two-Dimensional Liquid Chromatography and NMR for the Analysis of Complex Polymers«, *Macromolecules* **2012**, *45*, 7740–7748.
- [109] M. Cudaj, G. Guthausen, A. Kamlowski, D. Maier, T. Hofe, M. Wilhelm, »Ein Spektrometer für die spektral aufgelöste Niederfeld-NMR«, *Nachrichten aus der Chemie* **2010**, *58*, 1155–1157.

- [110] M. Cudaj, T. Hofe, M. Wilhelm, M. Vargas, G. Guthausen, »Medium Resolution NMR at 20 MHz: Possibilities and Challenges« in *Magnetic Resonance in Food Science: An Exciting Future*, The Royal Society of Chemistry, **2011**, S. 83–91.
- [111] M. Cudaj, G. Guthausen, T. Hofe, M. Wilhelm, »SEC-MR-NMR: Online Coupling of Size Exclusion Chromatography and Medium Resolution NMR Spectroscopy«, *Macromol. Rapid Commun.* **2011**, *32*, 665–670.
- [112] M. Cudaj, G. Guthausen, T. Hofe, M. Wilhelm, »Online Coupling of Size-Exclusion Chromatography and Low-Field ¹H NMR Spectroscopy«, *Macromol. Chem. Phys.* **2012**, *213*, 1933–1943.
- [113] M. Cudaj, *Medium Resolution-NMR zur chemisch sensitiven Detektion in der polymeren GPC-Analytik*, Dissertation, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe, **2012**.
- [114] J. J. Gagel, K. Biemann, »Continuous recording of reflection-absorbance Fourier transform infrared spectra of the effluent of a microbore liquid chromatograph«, *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 2184–2189.
- [115] J. J. Gagel, K. Biemann, »Continuous infrared spectroscopic analysis of isocratic and gradient elution reversed-phase liquid chromatography separations«, *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 1266–1272.
- [116] J. Gagel, K. Biemann, »The continuous infrared spectroscopic analysis of reversed phase liquid chromatography separations«, *Microchim. Acta* **1988**, *95*, 185–187.
- [117] L. M. Wheeler, J. N. Willis, »Gel Permeation Chromatography/Fourier Transform Infrared Interface for Polymer Analysis«, *Appl. Spectrosc.* **1993**, *47*, 1128–1130.
- [118] J. N. Willis, »Use of a GPC-FTIR interface for polymer analysis«, *Polymeric Materials Science and Engineering Proceedings of the ACS Division of Polymeric Materials Science and Engineering* **1993**, *69*, 120–121.
- [119] R. I. García, P. Harald, »High-throughput screening of the chemical composition distribution of random styrene-butyl acrylate copolymers«, *e-Polym.* **2013**, *5*, 433–446.
- [120] S. Kok, N. Arentsen, P. Cools, T. Hankemeier, P. Schoenmakers, »Fourier transform infrared spectroscopy with a sample deposition interface as a quantitative detector in size-exclusion chromatography«, *J. Chromatogr. A* **2002**, *948*, 257–265.
- [121] S. J. Kok, C. A. Wold, T. Hankemeier, P. J. Schoenmakers, »Comparison of on-line flow-cell and off-line solvent-elimination interfaces for size-exclusion chromatography and Fourier-transform infrared spectroscopy in polymer analysis«, *J. Chromatogr. A* **2003**, *1017*, 83–96.
- [122] J. L. Dwyer, M. Zhou, »Polymer Characterization by Combined Chromatography-Infrared Spectroscopy«, *Int. J. Spectrosc.* **2011**, *2011*, ID 694645.

- [123] Spectra Analysis Inc., DiscovIR-GPC, <http://www.spectra-analysis.com/products/ir-gpc.htm>, abgerufen am 6. Mai 2014.
- [124] T. Housaki, K. Satoh, K. Nishikida, M. Morimoto, »Study on molecular weight dependence of short-chain branching of linear low-density polyethylene using the gel permeation chromatography/Fourier transform infrared method«, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1988**, *9*, 525–528.
- [125] K. Nishikida, T. Housaki, M. Morimoto, T. Kinoshita, »Gel permeation chromatography-Fourier transform infrared study of some synthetic polymers : II. Instrumentation for the characterization of polyethylene«, *J. Chromatogr. A* **1990**, *517*, 209–217.
- [126] P. J. DesLauriers, D. C. Rohlfing, E. T. Hsieh, »Quantifying short chain branching microstructures in ethylene 1-olefin copolymers using size exclusion chromatography and Fourier transform infrared spectroscopy (SEC-FTIR)«, *Polymer* **2002**, *43*, 159–170.
- [127] P. J. DesLauriers, D. C. Rohlfing, »Estimating Slow Crack Growth Performance of Polyethylene Resins from Primary Structures such as Molecular Weight and Short Chain Branching«, *Macromol. Symp.* **2009**, *282*, 136–149.
- [128] M. Kempf, D. Ahirwal, M. Cziep, M. Wilhelm, »Synthesis and Linear and Nonlinear Melt Rheology of Well-Defined Comb Architectures of PS and PpMS with a Low and Controlled Degree of Long-Chain Branching«, *Macromolecules* **2013**, *46*, 4978–4994.
- [129] G. Quintás, B. Lendl, S. Garrigues, M. de la Guardia, »Univariate method for background correction in liquid chromatography-Fourier transform infrared spectrometry«, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1190*, 102–109.
- [130] G. Quintás, J. Kuligowski, B. Lendl, »On-Line Fourier Transform Infrared Spectrometric Detection in Gradient Capillary Liquid Chromatography Using Nanoliter-Flow Cells«, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 3746–3753.
- [131] G. Quintás, J. Kuligowski, B. Lendl, »Procedure for Automated Background Correction in Flow Systems with Infrared Spectroscopic Detection and Changing Liquid-Phase Composition«, *Appl. Spectrosc.* **2009**, *63*, 1363–1369.
- [132] A. Edelmann, J. Diewok, J. R. Baena, B. Lendl, »High-performance liquid chromatography with diamond ATR-FTIR detection for the determination of carbohydrates, alcohols and organic acids in red wine«, *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, *376*, 92–97.
- [133] R. Vonach, B. Lendl, R. Kellner, »Hyphenation of Ion Exchange High-Performance Liquid Chromatography with Fourier Transform Infrared Detection for the Determination of Sugars in Nonalcoholic Beverages«, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 4286–4290.
- [134] T. F. Beskers, M. Brandstetter, J. Kuligowski, G. Quintas, M. Wilhelm, B. Lendl, »High performance liquid chromatography with mid-infrared detection based on a broadly tunable quantum cascade laser«, *Analyst* **2014**, *139*, 2057–2064.

- [135] A. Edelmann, C. Ruzicka, J. Frank, B. Lendl, W. Schrenk, E. Gornik, G. Strasser, »Towards functional group-specific detection in high-performance liquid chromatography using mid-infrared quantum cascade lasers«, *J. Chromatogr. A* **2001**, *934*, 123–128.
- [136] J. Kuligowski, G. Quintás, B. Lendl, »High performance liquid chromatography with on-line dual quantum cascade laser detection for the determination of carbohydrates, alcohols and organic acids in wine and grape juice«, English, *Appl. Phys. B: Lasers Opt.* **2010**, *99*, 833–840.
- [137] T. F. Beskers, T. Hofe, M. Wilhelm, »Online Coupling of Size-Exclusion Chromatography and IR Spectroscopy to Correlate Molecular Weight with Chemical Composition«, *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, *33*, 1747–1752.
- [138] H. Nyquist, »Certain Topics in Telegraph Transmission Theory«, *Trans. Am. Inst. Electr. Eng.* **1928**, *47*, 617–644.
- [139] D. D. Traficante, D. Ziessow, »A new apodization function for resolution enhancement with a minimum loss of sensitivity«, *J. Magn. Reson.* **1986**, *66*, 182–186.
- [140] D. D. Traficante, G. A. Nemeth, »A new and improved apodization function for resolution enhancement in NMR spectroscopy«, *J. Magn. Reson.* **1987**, *71*, 237–245.
- [141] E. Lórenz-Fonfría, Víctor A.; Padrós, »The Role and Selection of the Filter Function in Fourier Self-Deconvolution Revisited«, *Appl. Spectrosc.* **2009**, *63*, 791–799.
- [142] F. Harris, »On the use of windows for harmonic analysis with the discrete Fourier transform«, *Proc. IEEE* **1978**, *66*, 51–83.
- [143] H. G. Barth, F. J. Carlin, »A Review of Polymer Shear Degradation in Size-Exclusion Chromatography«, *J. Liq. Chromatogr.* **1984**, *7*, 1717–1738.
- [144] T. Hofe, G. Reinhold, J. McConville, »The Challenge of Using Small Particle Packing Materials in SEC/GPC Risks and Possibilities«, *Chromatography Today* **2011**, *11/12*, 18–23.
- [145] T. F. Beskers, T. Hofe, M. Wilhelm, »Development of a Chemically Sensitive Online SEC Detector Based on FTIR Spectroscopy«, *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 128–142.
- [146] D. Held, »Peak Identification in GPC/SEC«, *LCGC The Column* **2010**, *6*, 16–22.
- [147] A. M. Striegel, W. W. Yau, J. J. Kirkland, D. D. Bly, *Modern size-exclusion liquid chromatography: practice of gel permeation and gel filtration chromatography*, 2. Aufl., Wiley, Hoboken, **2009**.
- [148] S. Morlock, *Evaluierung eines IR-Spektrometers mit Quantenkaskadenlaser-Lichtquelle für die GPC-Kopplung*, in Vorbereitung, Vertiefungsbericht, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), **2014**.

- [149] J. R. Runyon, D. E. Barnes, J. F. Rudd, L. H. Tung, »Multiple detectors for molecular weight and composition analysis of copolymers by gel permeation chromatography«, *J. Appl. Polym. Sci.* **1969**, *13*, 2359–2369.
- [150] P. Kilz, »Copolymer Analysis in GPC/SEC; 1: Compositional Analysis by GPC/SEC with Multiple Detection«, *LCGC The Column* **2010**, *6*, 12–16.
- [151] K. Reinheimer, *Fourier Transform Rheology on Dispersions based on Newtonian Fluids*, Dissertation, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe, **2012**.
- [152] A. Malek, *Synthese und Eigenschaften von teilkristallinen Polystyrol-Poly-L-lactid Blockcopolymeren*, Dissertation, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe, **2013**.
- [153] A. Malek, N. Dingenouts, T. Beskers, U. Fehrenbacher, L. Barner, M. Wilhelm, »Linear and nonlinear rheological behavior and crystallization of semi-crystalline poly(styrene)-poly(l-lactide) block copolymers«, *Eur. Polym. J.* **2013**, *49*, 2704–2720.
- [154] C. Schmid, J. Falkenhagen, T. F. Beskers, L.-T. T. Nguyen, M. Wilhelm, F. E. Du Prez, C. Barner-Kowollik, »Multi-Block Polyurethanes via RAFT End-Group Switching and Their Characterization by Advanced Hyphenated Techniques«, *Macromolecules* **2012**, *45*, 6353–6362.
- [155] C. M. Schmid, *Efficient Switching of RAFT to Hydroxyl Capped Polymers as a Versatile Scaffold for Block Copolymer Synthesis*, Dissertation, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe, **2012**.
- [156] M. Brandstetter, A. Genner, K. Anic, B. Lendl, »Tunable external cavity quantum cascade laser for the simultaneous determination of glucose and lactate in aqueous phase«, *Analyst* **2010**, *135*, 3260–3265.
- [157] M. Brandstetter, L. Volgger, A. Genner, C. Jungbauer, B. Lendl, »Direct determination of glucose, lactate and triglycerides in blood serum by a tunable quantum cascade laser-based mid-IR sensor«, *Appl. Phys. B: Lasers Opt.* **2013**, *110*, 233–239.
- [158] B. L. Neumeier, *Synthese von Polyisopren-b-Polystyrol-Blockcopolymeren als Kalibrierstandards für eine neuartige GPC-Kalibrierung*, Bachelorarbeit, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe, **2013**.
- [159] L. Arens, *Synthese von physikalisch-vernetzten Hydrogelen basierend auf Blockcopolymeren aus Polystyrol und Polymethacrylsäure*, Diplomarbeit, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe, **2014**.
- [160] C. S. Ries, *Online SEC-IR coupling based on a novel solvent suppressing technique*, Masterarbeit, Hochschule Fresenius, University of Applied Sciences, Idstein, **2013**.

Danksagungen

Viele Menschen in meinem Umfeld haben auf die ein oder andere Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen, wofür ich sehr dankbar bin. Besonders hervorheben möchte ich:

Meinen Doktorvater, Prof. Dr. Manfred Wilhelm. Ich danke ihm nicht nur für die gute Betreuung und die interessante Aufgabenstellung, sondern vor allem dafür, dass ich in der Zeit in seinem Arbeitskreis sehr, sehr viel über das Leben und für das Leben gelernt habe. Ich möchte mich daher besonders dafür bedanken, dass bei Ihnen, lieber Herr Wilhelm, nicht nur die Forschung wichtig ist, sondern Ihnen auch die persönliche Entwicklung Ihrer Doktoranden sehr am Herzen liegt und Sie uns deshalb ins Ausland schicken, eigene Ideen verwirklichen sowie Paper und Anträge selbst schreiben lassen und uns auch die Zeit dafür geben.

Prof. Dr. Thorsten Hofe danke ich für alle Ideen und Anregungen zum wissenschaftlichen Teil, besonders aber dafür, dass er mir das Vertrauen entgegengebracht und mich hier in Karlsruhe oft „unbehelligt“ hat arbeiten lassen und auch meinen Aufenthalt in Wien uneingeschränkt unterstützt hat.

Prof. Dr. Bernhard Lendl gilt besonderer Dank für die drei Monate, die ich in seinem Arbeitskreis in Wien verbringen durfte, wo ich viel zum Thema Quantenkaskadenlaser gelernt habe.

Dr. Jennifer Kübel proofread all my english texts and supported my work with many small things like cooling of the MCT-detector in the morning, carrying out some measurements, etc. But I thank her even more for her optimistic point of view and encouraging advice.

Dr. Markus Cudaj hat mich während der Diplomarbeit betreut und war auch danach immer ein guter Diskussionspartner für alle Fragen zum Thema „neue GPC-Detektoren“, wofür ich ihm danken möchte.

Dr. Markus Brandstetter gilt besonderer Dank, weil er meine Experimente in Wien immer tatkräftig unterstützt, mir seinen Laser geborgt und Mostello „geopfert“ hat.

Das Team der mechanischen Werkstatt: Alexander Jaks, Andreas Wagner, Daniel Hintermayer und Szimonetta Matus haben immer sehr schnell die Bauteile der Flusszellen für mich gefertigt, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Der Bruker Optik GmbH, besonders Dr. Arno Simon, Dr. Markus Germer und Dr. Albrecht Rager gilt Dank für die schnelle Hilfe bei Problemen mit dem Vertex 70, für das QCL-Spektrometer sowie für die allgemein gute Zusammenarbeit.

Dr. Julia Kuligowski und Dr. Guillermo Quintás danke ich für ihre Unterstützung mit chemometrischen Auswertungen, die das Analyst-Paper eindeutig aufgewertet haben.

Sascha Morlock möchte ich dafür danken, dass er während seines Vertiefungspraktikums das EC-QCL-Spektrometer evaluiert und damit meine Arbeit tatkräftig unterstützt hat.

Lilli Neumeier hat in ihrer Bachelorarbeit eine neuartige GPC-Kalibrierung mit Block-Copolymeren umgesetzt, die ich mir mit Michael Kempf ausgedacht hatte. Ich hatte Spaß daran, meine eigene wissenschaftliche Idee verwirklicht zu sehen. Danke dafür!

Dr. Peter Montag möchte ich für seinen Input als Infrarotexperte bei PSS danken.

Claudia Ries hat in ihrer Masterarbeit meine Methode als eine Art „Beta-Testerin“ genutzt und dabei viele Punkte aufgezeigt, die noch nicht so anwenderfreundlich waren.

Dr. Kathrin Reinheimer, Dr. Christina Schmid und Dr. Alicia Malek-Luz haben meine Arbeit mit ihren Proben unterstützt, die sie synthetisiert haben und die ich messen durfte. Vielen Dank!

Sabine Weiland hat mich in allen organisatorischen Dingen immer großartig unterstützt bzw. das Meiste von mir fern gehalten. Außerdem hat sie mir immer mal wieder geholfen, meinen Notfallschokoladenvorrat zu reduzieren...

Dr. Johannes Höpfner Dir, Johannes, gilt mein Dank für so viele Dinge, dass ich hier unmöglich alle nennen kann. Ohne dich wäre ich wohl nie in diesem Arbeitskreis gelandet!

Karl Ratzsch Lieber Karl, tausend Dank für all die „Kaffee-Extruder“, so manches gemeinsame Abendessen und auch das ein oder andere Bier. Du warst immer eine super Anlaufstelle für so ziemlich jedes wissenschaftliche und nicht-wissenschaftliche Problem.

Dr. Christopher Klein Lieber Kiki, vielen Dank für alle Diskussionen über das Leben, das Universum und den ganzen Rest – egal ob im Büro, im Vogel oder auf der Skihütte!

Dr. Thomas Tischer Inzwischen gehen wir schon so viele Jahre sehr ähnliche Wege, dass Du in dieser Auflistung nicht fehlen sollst. Danke, Thomas, für Notfall-Spektrometer-Backups und das Teilen der ATR-Einheit :-)

Dr. Kirsten Schuh Danke, Kirsten, dass Du in den langen Schreibnächten auf mich gewartet und mich dann mit nach Hause genommen hast ;-)

Dem Karlsruher House of Young Scientists (KHYS) gilt mein Dank für die finanzielle Unterstützung meines Aufenthalts in Wien.

Die Gruppe in Wien hat mich sehr herzlich aufgenommen und mir eine schöne Zeit beschert. Besonderer Dank gilt Cosima Koch für viele organisatorische Kleinigkeiten, Andreas Genner für diverse Programmierungen in LabView, Christian Kristament für die Zweistrahlexperimente, Georg Ramer für die Initiative zum Python-Kurs sowie Dr. Bernhard Zachhuber für die Organisation meines Besuchs im April 2011.

Der gesamte Arbeitskreis hat immer für eine sehr angenehme Arbeitsatmosphäre gesorgt. Dank gilt: Dr. Mahdi Abbasi, Dr. Deepak Ahirwal, Julius Albrecht, Dr. Özcan Altintas, Wolfgang Arbogast, Lukas Arens, Miriam Cziep, Claudia Dessi, Dr. Nico Dingemouts, Julia Ehrmann, Dr. Roxana Figuli, Dr. Giesela Guthausen, Matthias Heck, Helena Hörig, Stefan Horn, Andrea Hufendiek, Prof. Kyu Hyun, Prof. Roland Kadar, Dr. Michael Kempf, Dirk Lautenschläger, Dr. Thomas Meins, Dimitri Merger, Dr. Ingo Naue, Begüm Özen, Prof. Humberto Palza, Volker Röntzsch, Kamran Riazi, Karin Schlag, Lukas Schwab und Daniel Zimmermann.

Meiner Familie, die mich immer unterstützt und mir Rückhalt bietet, egal was ich tue, und allen **meinen Freunden**, besonders Chris, Peggy, Franziska und Robert, die immer ein offenes Ohr haben, bin ich von ganzem Herzen dankbar. Ohne Euch alle wäre ich nichts!