

**Beiträge zum Verständnis des  
chromatographischen Trennprozesses  
der RP-HPLC mit den Mitteln  
der Computer-Visualisierung**

Dissertation

der Fakultät für Chemie und Pharmazie  
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften

2005

vorgelegt von

**Norbert Welsch**



Tag der mündlichen Prüfung: 28.10.2005

Dekan: Prof. Dr. Stefan Laufer

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Klaus Albert

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Volker Schurig





für meine Tochter

*Laura-Marie Charlotte*



---

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Organische Chemie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen unter der Anleitung von Herrn Professor Dr. Klaus Albert im Zeitraum von September 2002 bis August 2005 angefertigt.

Bei Herrn Professor Dr. Klaus Albert möchte ich sehr herzlich bedanken für die interessante und fruchtbare Themenstellung, für sein stetiges Interesse an meiner wissenschaftlichen Arbeit und den entstehenden Visualisierungen, sowie für die Bereitstellung der Ausstattung und den motivierenden Zuspruch in schwierigen Phasen. Er ermöglichte mir die Erweiterung meiner Kenntnisse durch die Teilnahme an der internationalen Summer School on Theoretical and Computational Biophysics, an der University of Illinois (Urbana-Champaign) und an zahlreichen Seminaren und Tagungen. Ferner möchte ich mich an dieser Stelle auch bei Frau Heidrun Albert bedanken, die durch viele freundliche Einladungen immer wieder zum kulinarischen Wohl und zur sozialen Integration des gesamten Arbeitskreises beigetragen hat.

---

---

Allen Kollegen und Mitarbeiter im AK Albert, danke für die freundliche und kooperative Atmosphäre sowie für ihre Hilfsbereitschaft bei allen Fragen und Problemen, sowohl fachlicher als auch organisatorischer Natur. Dies hat mir nach langjähriger Tätigkeit in der Industrie eine Rückkehr ins akademische Leben für die Zeit meiner Arbeit nicht nur ermöglicht, sondern auch zu einem angenehmen Erlebnis gemacht. Insbesondere seien hier genannt Dr. Gerd Fischer, Volker Friebolin, Dr. Elke Gesele, Marc-David Grynbaum, Dr. Heidrun Händel, Petra Hentschel, Christof Krieg, Dr. Manfred Krucker, Hans Kühnle, Dr. Annette Lienau, Dr. Karsten Putzbach, Jens Rehbein, Dr. Telma Schanz, Siri Schauff, Dr. Urban Skogsberg, Dr. Ismail Warad, Prof. Dr. Hong-Bin Xiao, Dr. Daniel Zeeb. Mein ganz besonderer Dank gilt Dr. Christoph Meyer, für die intensive fachliche und freundschaftliche persönliche Zusammenarbeit während des gesamten Zeitraums der Arbeit und insbesondere bei der gemeinsamen Erstellung mehrerer Fachpublikationen.

Weiterhin möchte ich allen Mitarbeitern der Firma *Welsch und Partner, scientific multimedia* für ihren Einsatz danken. Sie haben mich im Tagesgeschäft ersetzt und mir damit die Promotion ermöglicht. Gus Hagelberg, Dr. Claus Chr. Liebmann, Steffen Hoheisel, Frank von Kuhlberg, Anja Schneider und Henrik Westphal sowie unsere Auszubildenden und Praktikanten haben in diesem Sinne ihren Beitrag geleistet. Special thanks also to Lorraine Richardson for a lot of patience and constant encouragement. Jürgen Schwab und Thomas Welsch danke ich besonders für die intensive Anteilnahme an meiner Arbeit sowie für die zahlreichen abendfüllenden Diskussionen zum Thema. Am meisten Dank schulde ich jedoch meiner kleinen Tochter Laura-Marie, die mir die Kraft und Energie gab, diese Arbeit in Angriff zu nehmen.

---

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>5</b>
1.1	Visualisierung.....	5
1.2	Analytik.....	6
<b>2</b>	<b>Problem- und Aufgabenstellung.....</b>	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>Multimedia und Modeling.....</b>	<b>17</b>
3.1	Atome „sehen“.....	17
	<i>3.1.1 Die Welt interpretieren.....</i>	<i>18</i>
	<i>3.1.2 Relevante Dateiformate.....</i>	<i>21</i>
3.2	Chemie im Computer.....	24
	<i>3.2.1 Programme und Techniken.....</i>	<i>27</i>
	<i>3.2.2 Internet und Moleküldatenbanken.....</i>	<i>27</i>
3.3	Molekülstrukturen definieren und berechnen.....	30
	<i>3.3.1 Quantenmechanische Berechnungen.....</i>	<i>31</i>
	<i>3.3.2 Molekülmechanik.....</i>	<i>31</i>
	<i>3.3.3 Kombination mit Zusatzinformationen.....</i>	<i>34</i>
	<i>3.3.4 Bildbearbeitung und Collagetechnik.....</i>	<i>36</i>
3.4	3D-Software und Animationen.....	38
<b>4</b>	<b>RP-HPLC-Trennphasen und Synthesestrategien.....</b>	<b>41</b>
4.1	Monomerphasen.....	43
4.2	Lösungspolymerisation.....	43

---

---

4.3	Oberflächenpolymerisation.....	44
4.4	Spacer-moleküle an Kieselgel.....	45
4.5	Anbindung von Poly(ethylen-co-acrylsäure).....	46
<b>5</b>	<b>Charakterisierungsmethoden.....</b>	<b>47</b>
5.1	Allgemeines zur HPLC.....	47
5.2	Elementaranalyse.....	52
5.3	Kernspinresonanz.....	54
5.4	Ellipsometrie.....	59
<b>6</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>63</b>
6.1	HPLC-Ergebnisse.....	63
6.2	Struktur und Trennprozess.....	67
6.3	Oberflächenmorphologie.....	71
	6.3.1 Statistische Konformationsanalyse.....	71
	6.3.2 Thermodynamische Konformationsanalyse.....	74
	6.3.3 Simulation der Alkylkettenkonformation.....	77
	6.3.4 Untersuchung der PEA5-Phase.....	80
	6.3.5 Polar-Embedded-Phasen.....	81
6.4	Modelle und Hypothesen zu formselektiven RP-Phasen..	82
	6.4.1 Slot-Model.....	82
	6.4.2 Modelle zur Strukturbildung in Alkylphasen.....	84
	6.4.3 Lateralkoagulation.....	88
	6.4.4 Distalkoagulation.....	90

---

---

6.5	Wechselwirkungsstudien.....	95
6.5.1	<i>Interaktion chiraler Pirkle-Phasen.....</i>	<i>95</i>
6.5.2	<i>Lokalisierung von Wechselwirkungen.....</i>	<i>98</i>
<b>7</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>101</b>
7.1	Zum Interphasensystem der RP-HPLC.....	101
7.2	Gefahren der Visualisierung.....	101
<b>8</b>	<b>Experimenteller Teil.....</b>	<b>105</b>
8.1	Chemikalien.....	105
8.2	Synthese der HPLC-Phasen.....	106
8.2.1	<i>Synthese von 3-Glycidoxypropyl-Kieselgel.....</i>	<i>106</i>
8.2.2	<i>Anbindung von Poly(ethylen-co-acrylsäure)-Copolymer 82</i>	
8.2.3	<i>Synthese der Wafer für die Ellipsometrie.....</i>	<i>106</i>
8.3	Ellipsometrie Messungen.....	107
8.4	Berechnungen und Visualisierungen.....	107
<b>9</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>109</b>
<b>10</b>	<b>Ausblick.....</b>	<b>111</b>
10.1	Direkte Abbildung.....	111
10.2	Molekülmechanische Berechnungen.....	111
10.2.1	<i>Anzahl der notwendigen Rechenschritte.....</i>	<i>111</i>
10.2.2	<i>Größe der Systeme.....</i>	<i>112</i>
10.2.3	<i>Coarse-Grain-Modeling.....</i>	<i>112</i>

---

10.2.4 Physik-Coprozessoren.....	113
<b>11 Glossar.....</b>	<b>115</b>
<b>12 Anhang.....</b>	<b>119</b>
<b>13 Literatur.....</b>	<b>121</b>

---



## Verzeichnis der nummerierten Abbildungen

1. Phasenkombinationen der Chromatographie	8
2. Schemagrafik HPLC-Gerät	10
3. Modifiziertes Kieselgel mit C <sub>18</sub> -Alkylgruppen	12
4. Vergleich von Alkylphasen mit Biomembranen	14
5. Informationen für eine Visualisierung	19
6. Rastergrafik	22
7. Objektgrafik	23
8. Alternative Moleküldarstellungen	26
9. Kombination verschiedener Multimedia-Techniken	35
10. Molecularly Imprinted Polymer (MIP)	37
11. Geometrische Kenngrößen von Alkylphasen	42
12. Silanisierung	43
13. Spacer-Anbindung	45
14. Copolymer-Anbindung	46
15. Kenngrößen eines Chromatogramms	48
16. Silicatspezies und chemische Verschiebungen	57
17. <sup>29</sup> Si-CP/MAS NMR-Spektren	58
18. Wafer als Modell-Trägermaterial	60
19. Ellipsometer	60
20. Messverfahren der Ellipsometrie	61
21. Carotin-Isomere	63
22. Charakterisierung durch RP-HPLC von Carotin-Isomeren	64
23. Carotinoid-Isomere Lutein und Zeaxanthin	65
24. Vergleich der PEA5- mit einer C <sub>30</sub> -Phase (Lutein/Zeaxanthin)	66
25. natives Kieselgel	68
26. Immobilisierte Moleküle an Kieselgel Prontosil 3 µm	68
27. Amorphes Kieselgel	70
28. Statistik an C <sub>18</sub> - und C <sub>30</sub> -Phasen	73
29. Wahrscheinlichkeiten der Molekülkonformationen	76
30. Temperaturabhängigkeit der Anzahl gauche-Bindungen	77
31. Trans-Gauche-Simulation von Alkylketten	78
32. Sechs monomere C <sub>18</sub> -Alkylketten	79
33. Morphologie der Stationären Phase / Ellipsometrie	80
34. Polar-Embedded Phasen	82
35. Interphasensystem in der RP-HPLC	83

---

36. Visualisierung des Slot-Modells an einer C <sub>30</sub> -Phase	84
37. Mögliche Anbindungsstellen auf amorphem Kieselgel	87
38. Umbrella-Effekt verhindert enge Nachbarschaften	88
39. Ausbildung von Domänen durch laterale Beweglichkeit	89
40. Distalkoagulation	91
41. Auswirkungen der Synthesestrategien	92
42. Lösungsmittelleffekte auf Kettenkonformationen	94
43. Chirale Pirkle-Phase	97
44. Interaktive Simulation zur transfer-NOESY	100

## Verzeichnis der Tabellen

1. Rastergrafik-Dateiformate	22
2. Objektgrafik-Dateiformate	23
3. Molekül-Dateiformate	25
4. Dateiformate für 3D-Daten	27
5. Kategorien von Programmen	28
6. Molekül-Datenbanken im Internet (Juli 2005)	29
7. Autorensysteme für die Erstellung interaktiver Programm	39
8. Dichte von Silanolgruppen an Kieselgel	70
9. Konformationen an einer C <sub>18</sub> -Kette	72
10. Eingabeparameter für die Konformationsanalyse	75
11. Exemplarische Konformationsanalyse für 400 K	76
12. Atomdichten in Materialien	119
13. Atomradien	119
14. Bindungslängen	120
15. Konturlängen von Alkylketten	120

---

## **Bibliografische Beschreibung**

Norbert Welsch

„Beiträge zum Verständnis des chromatographischen Trennprozesses der RP-HPLC mit den Mitteln der Computer-Visualisierung“

Dissertation, Universität Tübingen, Fakultät für Chemie und Pharmazie, 2005

123 Seiten, 44 Abbildungen, 15 Tabellen

## **Kurzbeschreibung**

Die Arbeit befasst sich mit Visualisierungen und Simulationen zum Interphasensystem der Umkehrphasen-Flüssigkeitschromatographie (RP-HPLC) auf Basis experimenteller bestimmter Parameter.

## **Schlagwörter**

Visualisierung, Multimedia, RP-HPLC, Chromatographie, Chemie in Interphasen

## **Korrespondenzadressen**

Norbert Welsch

Lilienweg 1

D-72072 Tübingen

Universität Tübingen

Institut für Organische Chemie

AK Albert

Auf der Morgenstelle 18

D-72076 Tübingen

---



## Abkürzungen

1D, 2D, 3D	ein-, zwei, dreidimensional
Å	Ångström ( $10^{-10}$ m)
$\alpha$	Selektivität
ACN	Acetonitril
APS	Aminopropyltriethoxysilan
$B_0$	Statisches Magnetfeld
CapLC	Kapillar-HPLC
COSY	Correlated spectroscopy
CP	Kreuzpolarisation (Cross polarization)
$\delta$	Chemische Verschiebung
DC	Dünnschichtchromatographie
DAD	Diode Array UV Detector
dpi	Punkte pro Inch (dots per inch)
D <sub>2</sub> O	Deuteriumoxid
-Et	Ethylrest (-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )
FID	Freier Induktionsabfall (Free Induction Decay)
$\gamma$	Gyromagnetisches Verhältnis
GC	Gaschromatographie
GOPS	Glycidoxypropyltrimethoxysilan
h	Stunde (hour)
H <sub>2</sub> O	Wasser
HPDEC	Hochleistungsentkopplung (High power decoupling)
HPLC	High performance liquid chromatography*
I	Kernspin
k	1. Retentionsfaktor, 2. Boltzmannsche Konstante
kB	Kilobyte (= $2^{10}$ = 1024 Byte)
K	Kelvin
LC	Flüssigkeitschromatographie (Liquid chromatography)
M	Molar (mol/l)
MAS	Rotation um den "magischen Winkel" (Magic angle spinning)
MB	Megabyte (= $2^{20}$ = 1024 * 1024 Byte)
-Me	Methylrest -CH <sub>3</sub> )
MeOH	Methanol
min	Minute
MS	Massenspektrometrie
MW	Molekulargewicht
N	Anzahl theoretischer Trennböden
NIST	National Institute of Standards and Technology

---

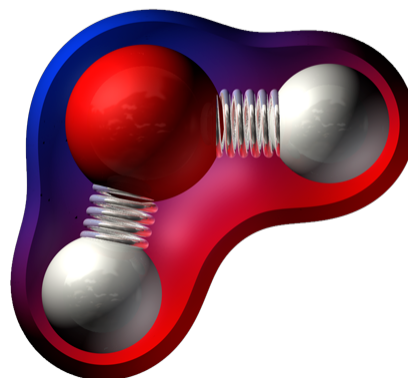
NMR	Kernmagnetische Resonanz (Nuclear magnetic resonance)
NOE	Kern-Overhauser-Effekt (Nuclear Overhauser Effect)
PAH	Polykondensierte aromatische Kohlenwasserstoffe
PC	Papierchromatographie
PEA	Poly(ethylen-co-acrylsäure)-Copolymer
PEA5	PEA-Phase mit 5% Acrylsäureanteil
ppm	Millionstel (parts per million)
px	Bildpunkt (pixel)
Q <sup>n</sup>	Silandiol (Q <sup>2</sup> ), Silanol (Q <sup>3</sup> ) und Siloxan (Q <sup>4</sup> )-Einheiten auf Kieselgel
RF	Rotationsfrequenz
RP	Umkehrphasen- (Reversed phase*)
SAM	Self assembled monolayer
S/N	Signal-to-noise ratio
SRM	Standard-Vergleichsmaterial (standard reference material)
σ	Standardabweichung
T	Temperatur
T <sup>n</sup>	Trifunktionelle Siliciumeinheiten
T <sub>1</sub>	longitudinale Relaxationszeit (Spin-Gitter-Relaxation)
T <sub>1ρH</sub>	longitudinale Relaxationszeit im rotierenden Bezugssystem
T <sub>2</sub>	transversale Relaxationszeit (Spin-Spin-Relaxation)
t <sub>m</sub>	Mischzeit
T <sub>CH</sub>	Kreuzpolarisationskonstante
TMS	Tetramethylsilan
UV	Ultraviolett
VRML	Virtual Reality Markup Language
v/v	Volumenverhältnis (Volume-to-volume ratio)
w <sub>i(0,5)</sub>	Halbwertsbreite eines Peaks i
Θ	Winkel zwischen dem Magnetfeld B <sub>0</sub> und der Kernachse

\* siehe auch Glossar

---

## 1 Einleitung

Auf den englischen Physiker Lord KELVIN (WILLIAM THOMSON, 1824 – 1907) soll die Aussage zurückgehen: *„Ich bin niemals zufrieden, bevor ich ein mechanisches Modell des Gegenstands konstruiert habe, mit dem ich mich beschäftige. Nur wenn es mir gelingt, ein solches herzustellen, dann verstehe ich den physikalischen Sachverhalt.“*



### 1.1 Visualisierung

Nicht erst im Computerzeitalter ist die Visualisierung und der Aufbau virtueller Modelle zu einer unverzichtbaren Komponente in der Chemie geworden. Denn obwohl die ganze sichtbare Welt aus Chemie besteht, können wir die Details unseres Handwerks in der Regel nicht direkt sehen. Ohne zumindest eine Bleistiftskizze zu Hilfe zu nehmen, ist es kaum möglich, ein Atommodell oder die Struktur eines Moleküls zu erläutern. Die Entwicklung von Darstellungen und Modellen findet heute zu einem ganz wesentlichen Teil am Computer statt. Die Computer- und Multimediatechnik erreicht bei Illustrationen, Trickfilmen und interaktiven Simulationen eine ganz neue Qualität der Visualisierung. Verstärkt nutzen auch Chemiker solche Hilfsmittel, um Modelle zu beurteilen und Ergebnisse aus verschiedenen Experimenten zu einem „konsistenten Gesamtbild“ zusammenzufügen, was unter Umständen neue Schlussfolgerungen ermöglicht. Unverzichtbar geworden sind professionelle Computervisualisierungen ferner für die Kommunikation von Forschungsergebnissen in Publikationen, auf Fachkongressen, in Förderanträgen sowie in der Lehre. Visualisierungen unter Einbeziehung molekülmechani-

scher Berechnungen mit Unterstützung durch moderne Multimedia-technik können wichtige Beiträge zur Modellbildung in der aktuellen Forschung leisten, indem sie helfen, Vorstellungen und Arbeitshypothesen zu konkretisieren und zu überprüfen. Dies gilt auch für noch ungeklärte Vorgänge an komplexen Interphasensystemen in der Chromatographie.

## **1.2 Analytik**

Die Erarbeitung neuer Erkenntnisse in der Biologie, der Biochemie, der Chemie, der Pharmazie und der Medizin ist eng an die Entwicklung immer sensitiverer und selektiverer Trenn- und Analysemethoden gekoppelt. Ebenso erfordert die routinemäßige Untersuchung von industriellen Produkten, Nahrungsmitteln, Kosmetika und pharmazeutischen Erzeugnissen die Trennung und Identifikation geringster Beimengungen möglicherweise gesundheitsschädlicher Substanzen. Insbesondere die Analyse von Proben pflanzlicher und tierischer Herkunft stellt die Analytik angesichts der enormen Zahl sehr ähnlicher Komponenten vor immer neue Herausforderungen. Oft entscheiden schon kleine Unterschiede im Molekülbau über pharmazeutische Nützlichkeit, die Unwirksamkeit oder aber die gesundheitsschädliche Wirkung von Substanzen. Typisch für diese Fragestellungen sind Untersuchungen an verschiedenen Stereoisomeren von Carotinoiden [1, 2, 3] und Tocopherolen [4, 5]. Die letztgenannten Verbindungsgruppen sind Radikalfänger und besitzen eine antioxidative Wirkung [6, 7, 8]. Sie sind deshalb in den letzten Jahren als möglicherweise gesundheitsfördernde Nahrungsergänzungstoffe verstärkt ins Zentrum der Aufmerksamkeit gerückt.

Der erste Schritt zur Analytik komplexer Mischungen ist fast immer die Auftrennung in Einzelsubstanzen. Hierfür haben sich die ver-

---



schiedenen Varianten der Chromatographie als die leistungsfähigsten Methoden erwiesen.

Die klassische Flüssigkeitschromatographie (LC, Liquid Chromatography) als Methode zur Trennung von Stoffen aufgrund unterschiedlicher Wechselwirkungen gelöster Moleküle mit einer stationären bzw. einer mobilen Phase wurde zwischen 1901 und 1903 von dem russischen Botaniker MIKHAIL SEMYONOVICH TSWETT (1872 – 1919) zur Trennung von Carotinoiden und Chlorophyllen aus Pflanzenextrakten eingeführt [9]. Sein Verfahren war eine Adsorptionschromatographie an Calciumcarbonat als stationärer Phase mit einer Petrolether/Ethanol-Mischung als Elutionsmittel (mobile Phase).

Bis Ende der 1960er Jahre kamen weitere chromatographische Verfahren (PC, DC, GC) hinzu. Sie nutzten z.B. Adsorptions-, Verteilungs- und Diffusionsprozesse zwischen festen, flüssigen, gasförmigen und superkritischen Phasen für zur Trennung der Einzelsubstanzen [10].

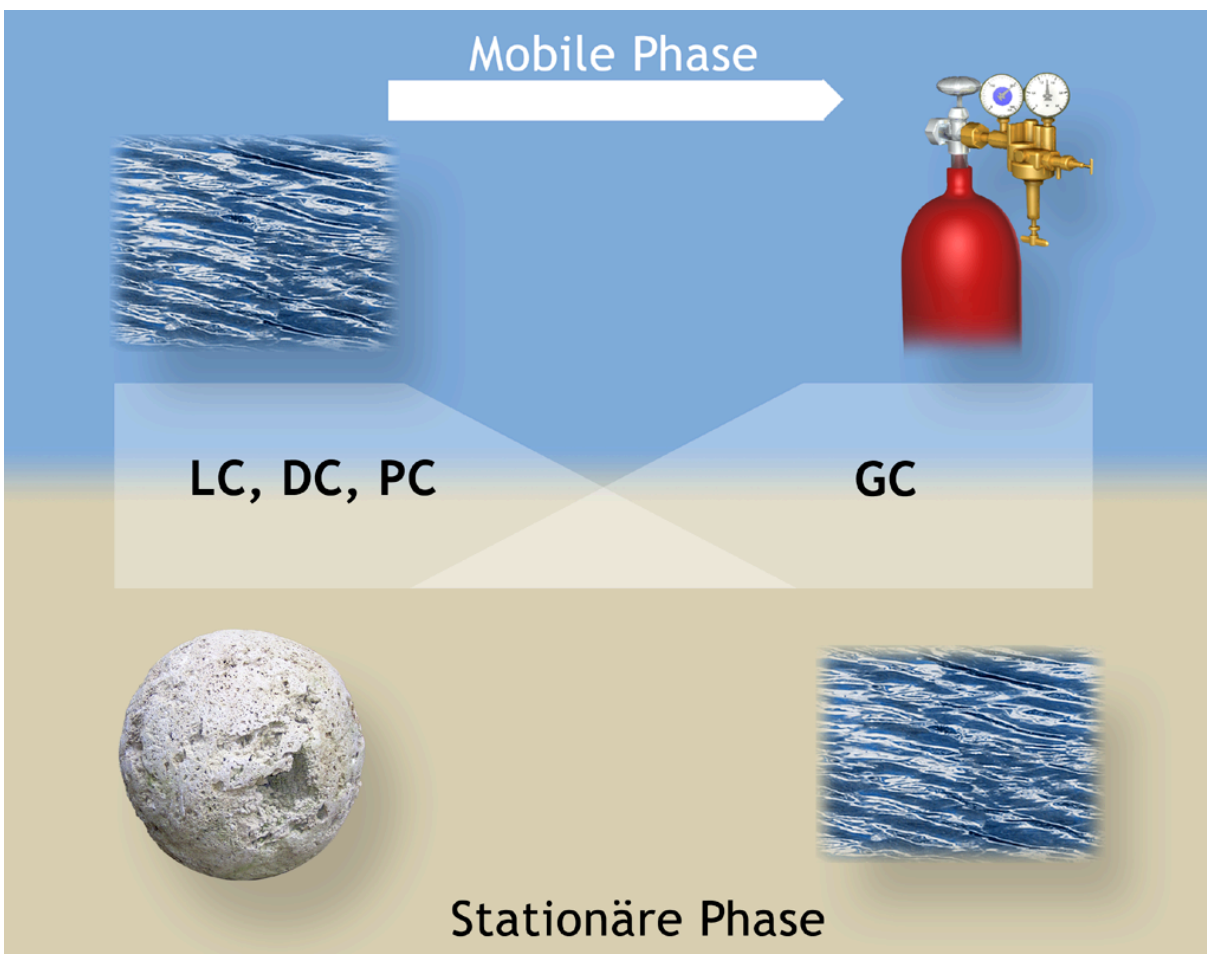
Meist sind die aufgetrennten Verbindungen nicht einfach durch ihre Farbe erkennbar. Zu ihrer Detektion werden deshalb für das jeweilige chromatographische Verfahren typische Methoden angewandt. In der Flüssigkeitschromatographie ist die Messung der UV-Absorption bei bestimmten Wellenlängen der Regelfall, denn die meisten organischen Moleküle besitzen ein chromophores System, das auf Grund elektronischer Übergänge im UV-Bereich absorbiert. Wird das Ausgangssignal eines Detektors über einen Schreiber oder in einem Computer aufgezeichnet, so ergeben sich Chromatogramme, die für alle Chromatographieverfahren sehr



ähnlich aussehen und sich daher auch nach ähnlichen Kriterien auswerten lassen (siehe Abbildung 15 und Abschnitt 5.1).

In der Folge entstand aus der LC die HPLC (Hochleistungsflüssigchromatographie, High Performance Liquid Chromatography, Abbildung 2). Sie gehört seit den 1970er Jahren zu den wichtigsten Verfahren für die Analytik komplexer Stoffgemische. Dabei wird die flüssige mobile Phase mit den gelösten Analyten unter teilweise sehr hohem Druck (bis etwa 400 bar) durch eine Säule gepresst.

**Abbildung 1: Phasenkombinationen der Chromatographie**



Chromatographie kann zwischen Phasen in den Aggregatzuständen flüssig-fest, als flüssig-flüssig, gasförmig-fest und gasförmig-flüssig betrieben werden.

Die Trennsäule ist im Regelfall mit einem Füllmaterial ausgestattet (gepackt). Hierfür kommen normalerweise sphärische Teilchen mit Durchmessern im Bereich einiger Mikrometer zum Einsatz [11], aber auch so genannte Monolithen [12], die das gesamte Säulenlumen als schwammartiges Gerüstmaterial ausfüllen. Durch eine ausgeprägte Porenstruktur ist die innere Oberfläche der Säulenfüllmaterialien meist sehr groß.

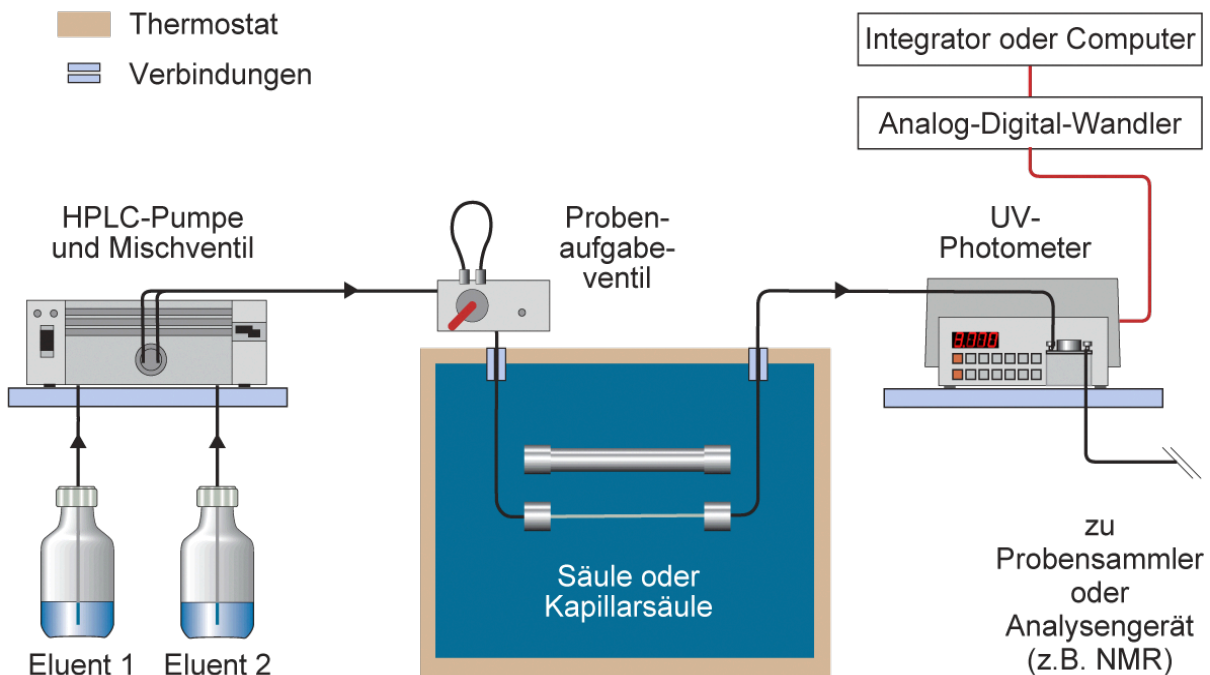
Gepackte HPLC-Säulen für analytische Zwecke haben in der Regel einen Innendurchmesser von ca. 3 – 5 mm und eine Länge von typischerweise 10 cm. Es werden aber auch zunehmend Mikrosäulen von unter 1 mm Durchmesser und gepackte Kapillarsäulen mit Innendurchmessern bis herunter zu 75  $\mu\text{m}$  verwendet. Ein Spezialfall sind offene Kapillarsäulen, bei denen die Oberfläche allein durch die Glas-Innenwandung der Kapillaren gebildet wird.

Die stationäre Phase, an der die Trennung stattfindet, kann durch die (eventuell modifizierte) Oberfläche der Füllmaterialien bzw. der Kapillarenwand selbst gebildet werden. Alternativ können diese Oberflächen auch nur als Trägermaterial für die als Film aufgebraute eigentliche stationäre Phase dienen.

In der klassischen LC, DC und HPLC wurden stationäre Phase mit polaren Oberflächeneigenschaften eingesetzt.

Zur Anwendung kamen z.B. Zellulose und Kieselgel, die beide polare OH-Gruppen (Hydroxylgruppen) auf ihrer Oberfläche tragen. Die Folge ist, dass polare Verbindungen stärker interagieren und die Säule beim Elutionsprozess später verlassen als unpolare Verbindungen. Man bezeichnet diese Art der Chromatographie als Adsorptions-Chromatographie.

---

**Abbildung 2: Schemagrafik HPLC-Gerät**

In einer HPLC-Anlage wird die mobile Phase unter hohem Druck durch eine Säule gepresst. Bei Bedarf kann das Elutionsmittel während des Laufs in seiner Zusammensetzung verändert werden. Optional kann die Trennsäule thermostatisiert bei definierter Temperatur betrieben werden.

Als mobile Phase dienen dabei in der Regel relativ unpolare organische Lösungsmittel wie Pentan oder Tetrahydrofuran. Sehr unpolare Lösungsmittel wie Hexan eluieren dabei langsamer als etwas polare wie etwa Ether.

Solche Trennsysteme werden als Normalphasen-Systeme bezeichnet. Sie werden bis heute für bestimmte Trennprobleme vorteilhaft eingesetzt. Auch für Trennungen im präparativen Maßstab oder für Vortrennungen sind Normalphasen-Systeme auf Grund des niedrigen Preises der Trennmaterialien gut geeignet.

Insbesondere die Einführung der Umkehrphasen-Chromatographie, die bereits auf die 1960er Jahre zurückgeht [13], stellte einen weiteren Meilenstein dar. Bei der Umkehrphasen-Chromatographie (RP-HPLC, Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography), wird die Polarität der Phasen vertauscht.

Bei dieser Technik, die heute im weit überwiegenden Teil der durchgeführten HPLC-Trennungen zum Einsatz kommt, ist die stationäre Phase nicht mehr mit dem Trägermaterial identisch, sondern sie kommt durch chemische Modifikation der Oberfläche mit hydrophoben Gruppen zu Stande. Die ersten kommerziellen Umkehrphasen-Trennsäulen wurden 1973 angeboten [14].

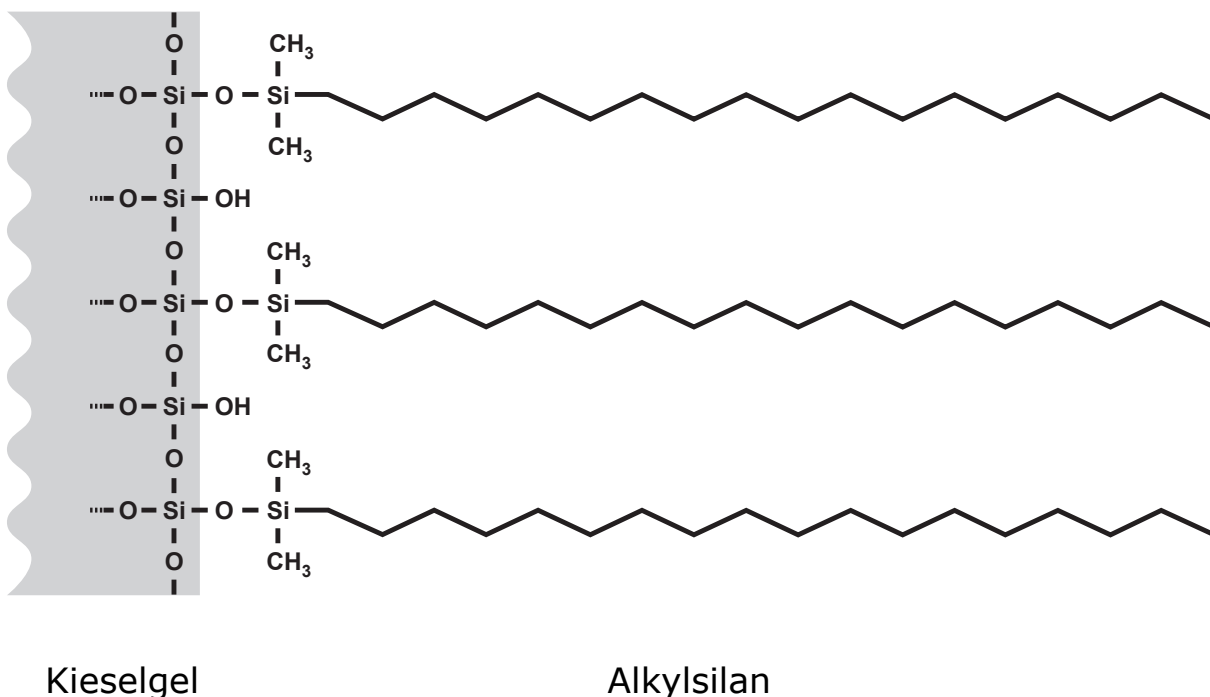
Die Trennung erfolgt durch unterschiedlich starke intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den Analyten und diesen hydrophoben Gruppen. Durch die unpolaren Eigenschaften dieser stationären Phasen können als Elutionsmittel Gemische von Wasser mit organischen Lösemitteln wie Methanol, Aceton oder Acetonitril eingesetzt werden. Während des Trennvorgangs wird häufig das Mischungsverhältnis durch einen Gradientenmischer im Laufe einer Analyse kontrolliert zu Gunsten der unpolareren Komponente verändert.

Als Trägermaterial fungieren wiederum meist Kieselgele, man spricht deshalb von modifizierten Kieselgelen. Durch die kovalente Bindung sind die Trennmaterialien in fast allen üblichen Lösungsmitteln stabil. Die Trenneigenschaften hängen wesentlich von den an der Oberfläche angebondenen stationären Phasen und nur zu einem geringeren Teil von den Eigenschaften des als Trägermaterial fungierenden Substrats ab. Kieselgel hat zudem die wichtige Eigenschaft, dem bei der HPLC verwendeten enormen Säulenvordruck Stand zu halten. Kieselgele als Trägermaterialien besitzen normalerweise eine

---

pH-Stabilität etwa im Bereich von pH 2 – pH 8. Mittels besonderer Herstellungsverfahren wurden auch Werte von pH1 – pH 11 erreicht. Verschiedene organische Polymermaterialien haben sich wegen ihrer zu geringen Druckstabilität nur in speziellen Anwendungsbereichen durchgesetzt.

**Abbildung 3: Modifiziertes Kieselgel mit C<sub>18</sub>-Alkylgruppen**



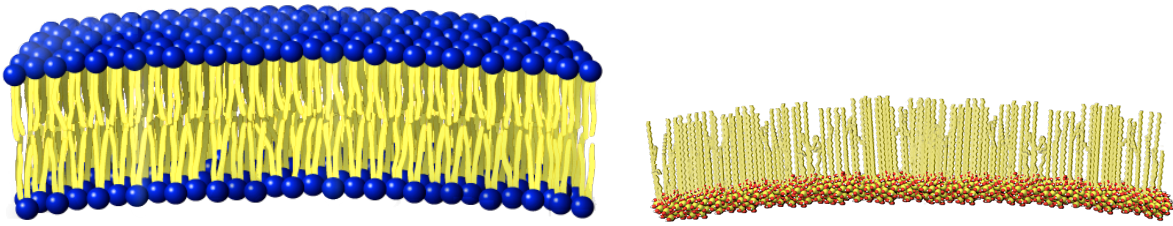
Aufbau typischer kommerziell erhältlicher C<sub>18</sub>-Trennphasen für die RP-HPLC. An Silanolgruppen der Silicatoberfläche werden Alkylsilane angebunden, die wie Borsten oder Fäden von der Oberfläche abstehen. Sie wirken im chromatographischen System der RP-HPLC als unpolare stationäre Phasen.

Als stationäre Phasen werden in der Praxis vornehmlich Alkylketten (meist C<sub>4</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>18</sub>, C<sub>30</sub>), aber auch andere mehr oder weniger unpolare Moleküle eingesetzt, die, z.T. über spezielle Abstandshalter-Moleküle (Spacer), kovalent an die Oberfläche eines Trägermaterials gebunden werden. Durch die Wahl der stationären Phase stehen verschiedenartig Trennprinzipien zur Verfügung. So können eingebettete polarere Gruppen wiederum polare Wechselwirkungen ermögli-

chen, aromatische Gruppen trennen durch  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen, und chirale Gruppen erlauben die Trennung von Stereoisomeren.

Die Systeme der RP-HPLC durchlaufen seit der Zeit ihrer Einführung einen kontinuierlichen Evolutionsprozess, der die Methode zu einem schnellen und zuverlässigen Analyseverfahren für zahlreichen Aufgabenstellungen gemacht hat. Die innerhalb dieser Technik zur Verfügung stehende breite Palette von Trennprinzipien und die gute Reproduzierbarkeit im Vergleich zu Normalphasen-HPLC werden einem großen Teil der analytischen Probleme gerecht. Obwohl allein für die RP-HPLC bereits mehr als 600 kommerziell erhältliche Phasen existieren, besteht noch immer Bedarf nach speziellen Phasen, die sich für bestimmte Trennprobleme besser eignen als Standard- $C_{18}$ -Phasen. Die Entwicklung neuer stationärer Phasen stellt deshalb einen aktiven Forschungsbereich dar.

Durch die einseitige Anbindung der Oberflächenmoleküle bilden die stationären Phasen der RP-HPLC einen ganz eigenen Aggregatzustand der Materie. Die Moleküle sind in ihrer Anordnung wesentlich weniger fixiert und geordnet, als etwa in einem kristallinen Festkörper. Andererseits besitzen sie nicht die freie Beweglichkeit einer Flüssigkeit. Ihre Struktur besitzt eine gewisse Ähnlichkeit zu einer Biomembran, in der lange unpolare Alkylketten mit polaren Endgruppen eine energetisch stabile Doppelschicht bilden, die als zweidimensionale Flüssigkeit aufgefasst werden kann. Allerdings unterscheiden sich Alkylphasen auch deutlich von diesem Modell durch die festen Positionen der Anbindungsstellen an einem Molekülende.

**Abbildung 4: Vergleich von Alkylphasen mit Biomembranen**

Typische stationären Phase mit C<sub>18</sub>-Alkylketten (rechts) im Vergleich zu einer Biomembran (links). Wesentliche Komponenten von Biomembranen bilden Phospholipide mit polaren Phosphatgruppen (blau) und Alkylketten (gelb).



## 2 Problem- und Aufgabenstellung

Den großen praktischen Fortschritten der RP-HPLC steht leider keine entsprechende Vertiefung unseres theoretischen Verständnisses der zugrunde liegenden Wechselwirkungsprozesse in den komplexen Interphasensystemen der stationären Phasen gegenüber. Für die Praktiker wird es indes immer schwieriger, die Systeme ohne grundlegenderes Verständnis der beteiligten Prozesse weiter zu optimieren. Die Entwicklung des Gebietes könnte in dieser Situation von einem verbesserten Verständnis der Bindungsvorgänge und von korrekten räumlichen Vorstellungen des Interphasensystems befruchtet werden (der Begriff Interphasensystem geht zurück auf DORSEY und DILL [15]). Beispielsweise beruhen Vorstellungen über das Zustandekommen der ausgeprägten Formselektivität bestimmter RP-HPLC-Phasen (wie etwa der C<sub>30</sub>-Phasen oder spezieller PEA-Phasen) für Moleküle mit eingeschränkter Molekülbeweglichkeit (wie z.B. polycyclischen Kohlenwasserstoffen oder Carotinen) bisher auf einfachen und noch nicht völlig befriedigenden Modellen von unpolaren Dipol-Dipol-Wechselwirkungen und sterischen Einflüssen.

Ziel dieser Arbeit ist die Unterstützung der Entwicklung von Modellen zur Erklärung des chromatographischen Trennprozesses durch Computervisualisierungen und Simulationen. Dabei soll zunächst untersucht werden, welche Dateiformate und gegenwärtig verfügbare Multimedia-Programme sich für diesen Zweck eignen und wie diese optimal für die Darstellung kombiniert werden können.

In einem zweiten Schritt sollen die so erarbeiteten Methoden zusammen mit Molecular-Modeling-Techniken und Informationen aus diversen Untersuchungsmethoden wie der verschiedenen NMR-Techniken, Ellipsometrie, Elementaranalysen etc. konkret eingesetzt

---

werden, um mittels Visualisierung einer Vorstellung vom Ablauf formmerkender Prozesse bei der Trennung verschiedener chemisch ähnlicher, aber sterisch unterschiedlicher Analyten am Interphasensystem der RP-HPLC näher zu kommen [16].

---

## 3 Multimedia und Modeling

### 3.1 Atome „sehen“

Chemiker waren früher zumeist darauf angewiesen, „blind“ zu arbeiten. Bis in die 1960er Jahre hinein galt es als ausgemacht, dass man einzelne Atome nie würde sehen können, denn sie sind mit Radien von typischerweise 0,1 nm ( $10^{-10}$  m) mehr als tausendfach kleiner als Lichtwellen (grünes Licht hat z.B. eine Wellenlänge von etwa 500 nm). Doch wie sich herausstellte, war der Begriff „sehen“ viel zu eng gefasst. Wesentlich am „Sehen“ ist nämlich nicht die Unmittelbarkeit des Vorgangs.

Auch normales Sehen des Menschen bedingt eine komplexe Abfolge von Interaktionen mit dem Objekt. Niemand würde wohl daran zweifeln, dass es noch als Sehen zählt, wenn ein Wissenschaftler eine Brille trägt oder durch ein Mikroskop blickt. Wir sind es gewohnt, „Fern-zu-sehen“ und bezeichnen auch diese indirekte Ansicht der Dinge ohne weiteres als Sehen. Hierbei erreicht kein einziges Photon mehr den Betrachter, das tatsächlich direkt in Wechselwirkung zum gesehenen Objekt getreten ist. Sehen ist damit reduziert auf die reine Information, die vom Betrachter wahrgenommen wird.

Im Jahr 1951 konstruierte ERWIN W. MÜLLER an der Technischen Universität in Berlin das erste Feldionenmikroskop, mit dem Auflösungen bis zu 0,25 nm erreicht wurden. MÜLLER war damit der erste Mensch, der Atome in diesem Sinne "sehen" konnte. Dennoch blieb die Darstellbarkeit in atomarer Dimension eher eine Ausnahme. Sie wurde kaum von einer breiteren Öffentlichkeit rezipiert. Dies änderte sich erst, als es HEINRICH ROHRER und GERD BINNIG 1981 am IBM-Forschungslabor in Rüschlikon gelang, das erste Rastertunnelmikroskop zu entwickeln. Mit der späteren Weiterentwicklung zum technisch

---

viel einfacheren Atomkraftmikroskop (atomic force microscope, AFM) 1985, für die BINNIG und ROHRER 1986 den Physiknobelpreis erhielten, wurden atomare Auflösungen in der Forschung breiter verfügbar. Zudem konnten mit diesen Geräten erstmals auch Messungen an nichtleitenden Proben durchgeführt werden.

Die heutige Fähigkeit, im Prinzip atomare bis subatomare Auflösung zu erreichen und neuerdings sogar einzelne Orbitale abzubilden [17], bedeutet jedoch nicht, dass dies in der Praxis für die jeweils interessierenden Systeme auch stets gelingt. Um beispielsweise die Situation an einer RP-HPLC-Trennphase während der Interaktion mit Analytmolekülen zu untersuchen, sind direkte rastermikroskopische Ansätze wenig geeignet. Diese Wechselwirkungen treten in Lösungsmitteln an unpolaren stationären Phasen auf, die kovalent an die Oberfläche einzelner Kieselgelpartikel oder Poren gebunden und für mikroskopische Untersuchungen schwer zugänglich sind. Auch andere Methoden der Strukturaufklärung wie die Röntgenstrukturanalyse sind nicht leicht anwendbar, da keine regelmäßigen Kristallstrukturen vorliegen. Mit Hilfe neuerer NMR-Methoden wie z.B. der Suspensions-NMR-Spektroskopie, können Informationen darüber gewonnen werden, an welchen Stellen eines Analytmoleküls Wechselwirkungen stattfinden [18]. Solche Informationen sind als Basis für Visualisierungen verwertbar.

### **3.1.1 Die Welt interpretieren**

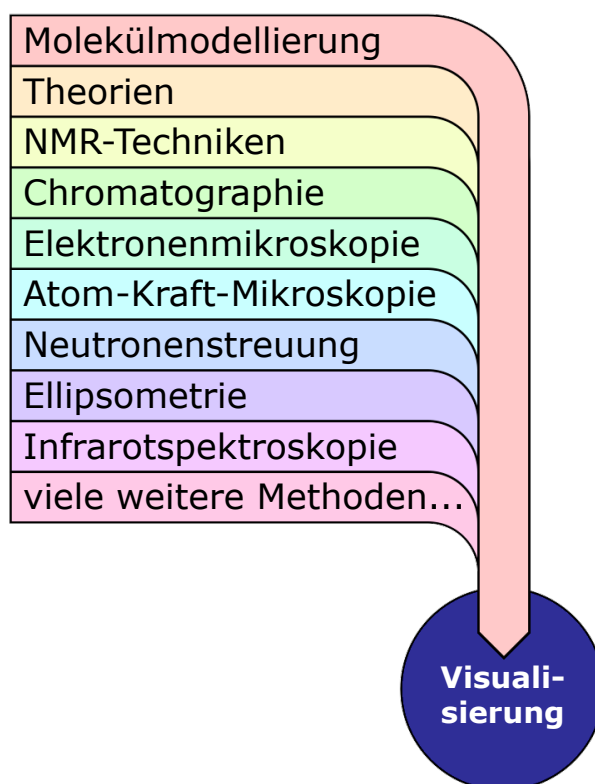
Visualisierungen streben nicht die Darstellung eines tatsächlich existierenden Objekts an, sondern sie zielen auf eine Abstraktion hin. Damit haben sie mehr gemein mit einer Skizze oder einem Gemälde als mit einer Abbildung. Jede wissenschaftliche Visualisierung muss

---

aber natürlich auf tatsächlichen Messergebnissen oder plausiblen Hypothesen zum dargestellten System beruhen.

Die Visualisierung hat im Gegensatz zu bildgebenden Verfahren die Chance, Ergebnisse völlig unterschiedlicher analytischer Verfahren mit theoretischen Überlegungen und Arbeitshypothesen zusammenzuführen und so im wahrsten Sinne des Wortes zur Erarbeitung eines konsistenten Gesamtbildes beizutragen.

**Abbildung 5: Informationen für eine Visualisierung**



Die Integration von Informationen gehört zu den wesentlichen Aufgaben einer Visualisierung.

„Artist views“ machen Forschungsthemen „greifbarer“. Sie können dazu beitragen, dass ein Thema in der Öffentlichkeit stärker wahrgenommen wird. Beim flüchtigen Lesen einer Arbeit können Illustrationen Inhalte schneller transportieren als Worte. Sie bewegen sich

oft im Grenzbereich zwischen Wissenschaft und Kunst. Die Ästhetik sollte aus naturwissenschaftlicher Sicht stets dem zu vermittelnden Inhalt und der didaktischen Intention untergeordnet sein (ganz nach dem Bauhaus-Motto „*form follows function*“), gleichwohl trägt sie signifikant zur Aussage einer Grafik oder einer Simulation bei.

In der Chemiedidaktik hat sich insbesondere die Gegenüberstellung von Experiment und zu Grunde liegendem Modell bewährt. Es gibt kaum Methoden, um Vorgänge unmittelbarer zu erfassen, als während eines Versuchs direkt die atomaren Vorgänge beobachten zu können [19, 20, 21]. Hier bewegt man sich im Spannungsfeld der Visualisierung als realistischer Darstellung und der notwendigen Abstraktion und Modellhaftigkeit. Auch wenn chemische Prozesse nur quantenmechanisch exakt beschreibbar sind, haben klassisch mechanische Modelle und deren Visualisierung angesichts der unmittelbaren Anschaulichkeit nichts von ihrem Wert eingebüßt. Beim chemischen Verhalten von Stoffen spielen sterische Effekte auf Grund der Raumerfüllung der Moleküle neben elektronischen Effekten eine herausragende Rolle. Dies gilt natürlich in besonderem Maße für hydrophobe Substanzen, wie sie in den stationären Phasen der RP-HPLC vorkommen.

Ziel dieser Arbeit ist es auch, praxisrelevante Informationen zur Erstellung professioneller Visualisierungen von einfachen Illustrationen über Trickfilme bis hin zu interaktiven Simulationen zu erarbeiten, denn die Vielzahl der einsetzbaren Programme, der Dateiformate und möglichen Vorgehensweisen erschwert den Einstieg in das Gebiet der Computer-Visualisierungen. Obwohl professionelle Programme recht kostspielig sind, lassen sich auch mit Freeware- und Shareware-Werkzeugen bereits gute Ergebnisse erzielen.

---

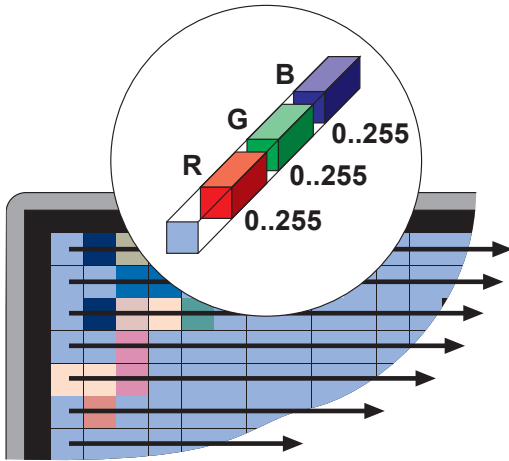
### 3.1.2 Relevante Dateiformate

Jeder, der sich zum ersten Mal mit Visualisierung beschäftigt, ist zunächst verwirrt über die zahlreichen – in der Regel inkompatiblen – Dateiformate. Warum gibt es so viele Formate für Abbildungen im Computer und was sind ihre jeweiligen Vor- und Nachteile? Statt hier auf jedes Dateiformat im Einzelnen einzugehen, seien einige Grundprinzipien zur Repräsentation chemischer und allgemeiner graphischer Daten erwähnt. Sie können helfen, die besten Formate zur Repräsentation der Daten zu wählen und optimale Ergebnisse zu erzielen.

Bestimmte Formate sind genormt oder stehen der grafischen Industrie als offene Standards zur Verfügung. Sie dienen hauptsächlich dem Datentransfer zwischen unterschiedlichen Anwendungsprogrammen. Andere Formate wiederum sind herstellerspezifisch (proprietäre Formate) und dazu gedacht, alle Informationen, die in einem Programm anfallen, komplett zu repräsentieren. Bei proprietären Formaten ist die Spezifikation manchmal nicht komplett veröffentlicht oder sie sind sehr komplex aufgebaut. Trotzdem sind sie am besten geeignet, Quelldaten des jeweiligen Programms zu archivieren. Eine klare Abgrenzung ist nicht immer möglich, da inzwischen auch viele der proprietären Formate von mehreren Programmen über Export- und Importfilter mehr oder weniger vollständig verstanden werden.

Grafische Daten werden im Computer, abhängig vom Erstellungsprogramm, entweder als Rastergrafiken oder als Objektgrafiken gespeichert. Häufig ist die Kombination beider Verfahren erforderlich. Layout-Programme konnten diese beiden Formen der Repräsentation schon lange kombiniert darstellen und in einem gemeinsamen Dokument ablegen. Aber auch die Spezialisten unter den Programmen wurden in den letzten Jahren mit der Möglichkeit ausgestattet, Informationen aus der jeweils anderen Welt wenn nicht editieren, so wenigstens darstellen zu können.

---



**Abbildung 6: Rastergrafik**

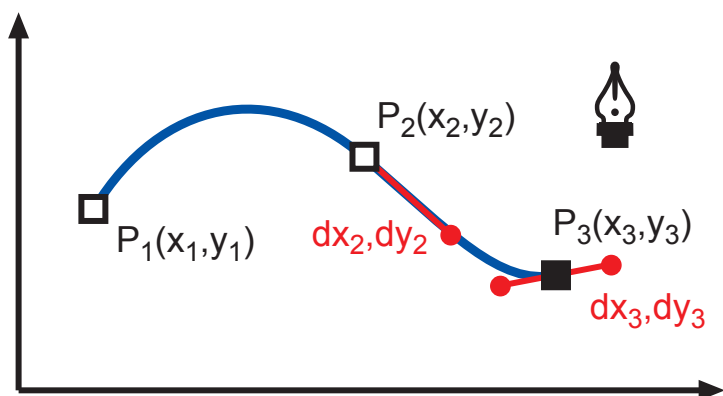
Die Farbanteile (meist Rot, Grün, Blau) jedes einzelnen Bildpunkts werden nacheinander als Zahlenwerte auf einem Datenträger gespeichert. Die entstehenden Dateien sind in der Regel sehr groß und werden oft komprimiert gespeichert. Es liegt keinerlei semantische Information zum Bildinhalt vor.

**Tabelle 1: Rastergrafik-Dateiformate**

Dateiendung	Formatbeschreibung
.bmp	Bitmap noch vielfach Rasterformat, sehr speicherintensiv, da meist unkomprimiert
.gif	CompuServe Graphics Interchange Format internetgeeignetes Grafikformat für Bilder ohne Farbverläufe (sehr kompakt, verlustfrei, aber stark eingeschränkte Transparenz und Farbtiefe max. 256 Farben)
.jpg, .jpeg	Joint Photographic Experts Group internetgeeignetes Grafikformat für Fotos und Bilder mit Farbverläufen (sehr kompakt, verlustbehaftet)
.png	Portable Network Graphics internetgeeignetes Grafikformat für Fotos und Bilder mit Farbverläufen und Transparenz (sehr kompakt)
.tif, .tiff	Tagged Image File Format in der grafischen Industrie für den Druck verbreitetes Grafikformat hoher Qualität, meist mit verlustfreier Kompression verwendet
.eps	Encapsulated Postscript in der grafischen Industrie für den Druck verbreitetes Grafikformat hoher Qualität (auch Objektformat!)
.psd	Photoshop proprietäres Rasterformat (Speicherung von Transparenz und Ebeneninformation, Erweiterungen auch für Vektorinformation)
.xcf	Natives Format des Freeware-Programms GIMP (Speicherung von Transparenz und Ebeneninformation, Erweiterungen auch für Vektorinformation)

Gebräuchliche Formate für Rasterbilder (Bitmaps)



**Abbildung 7: Objektgrafik**

Objektformate (Vektorformate) nutzen meist Polynomgleichungen (z.B. Bézier-Kurven), die es ermöglichen, alle Kurvenpunkte erst zum Zeitpunkt der Ausgabe in der erforderlichen Genauigkeit aus Punktkoordinaten und Tangenten zu errechnen. Zusätzlich werden in den Formaten Informationen über Objekteigenschaften (geometrischer Objekttyp, Farbe, Strichstärke, Füllmuster, Gruppierung etc.) erfasst. Solche Grafiken sind in hoher Qualität skalierbar. Die Dateien sind sehr kompakt.

**Tabelle 2: Objektgrafik-Dateiformate**

Dateiendung	Formatbeschreibung
.ai	Adobe-Illustrator typisches proprietäres Format des Zeichenprogramms Adobe Illustrator
.eps	Encapsulated Postscript in der grafischen Industrie verbreitetes Grafikformat hoher Qualität (auch Rasterformat!)
.fh	Freehand typisches proprietäres Format des Zeichenprogramms Freehand
.pdf	Portable Document Format verbreitetes plattformunabhängiges Format der Firma Adobe für die Ausgabe digitaler Dokumente
.ps	Postscript Dateiformat und Seitenbeschreibungssprache der Firma Adobe
.swf	Flash Format für im Internet abspielbare vektorbasierte Animationen

Gebräuchliche Formate für Objektgrafik (Vektorgrafik)

### 3.2 Chemie im Computer

Für den Chemiker sind natürlich jene Formate am interessantesten, die chemisch relevante Information direkt repräsentieren. Dies können etwa Strukturinformationen über Atome und Moleküle sein, aber auch Daten zu Atomgeschwindigkeiten, Temperatur, Ladungen etc..

Einfachste Molekül-Dateiformate wie das xyz-Format (Abbildung 8) enthalten lediglich Informationen über Art und Position der Atome. Im Prinzip genug, um quantenmechanische Berechnungen an Molekülen durchzuführen oder sie als raumfüllende Modelle darzustellen. Andere Formate (z.B. pdb), können zusätzlich Bindungsinformation enthalten. Information über verschiedene Atomtypen (Unterscheidungen der Atome eines Elements z.B. auf Grund der Hybridisierung und der chemischen Umgebung), wie sie z.B. für Kraftfeldrechnungen benötigt werden, sind aber auch nicht Bestandteil von pdb-Dateien. Sie müssen für Berechnungen gesondert bereitgestellt werden. Solche Zusatzinformationen werden bei in komplexeren Formaten wie MDL Mol (.mol), Sybyl Mol2 (.ml2) oder HIN (.hin) mit gespeichert.

Einige Anwendungsprogramme können über ihre Import- und Exportfilter Molekülformate ineinander umzuwandeln oder sie wurden speziell für diese Aufgabe geschaffen (Tabelle 5). Oft tritt dabei allerdings ein Informationsverlust auf. Übernommen werden kann jeweils nur der kleinste gemeinsame Nenner, also all das, was beide Formate repräsentieren können. In der vorliegenden Arbeit wurde hauptsächlich mit den Formaten hin, pdb und mol gearbeitet. Ein wesentlicher Grund hierfür ist auch die verhältnismäßig leichte Zugänglichkeit dieser einfachen Formate für die Generierung und Interpretation mit Hilfe eigener Lingo- und Java-Programme.

---

**Tabelle 3: Molekül-Dateiformate**

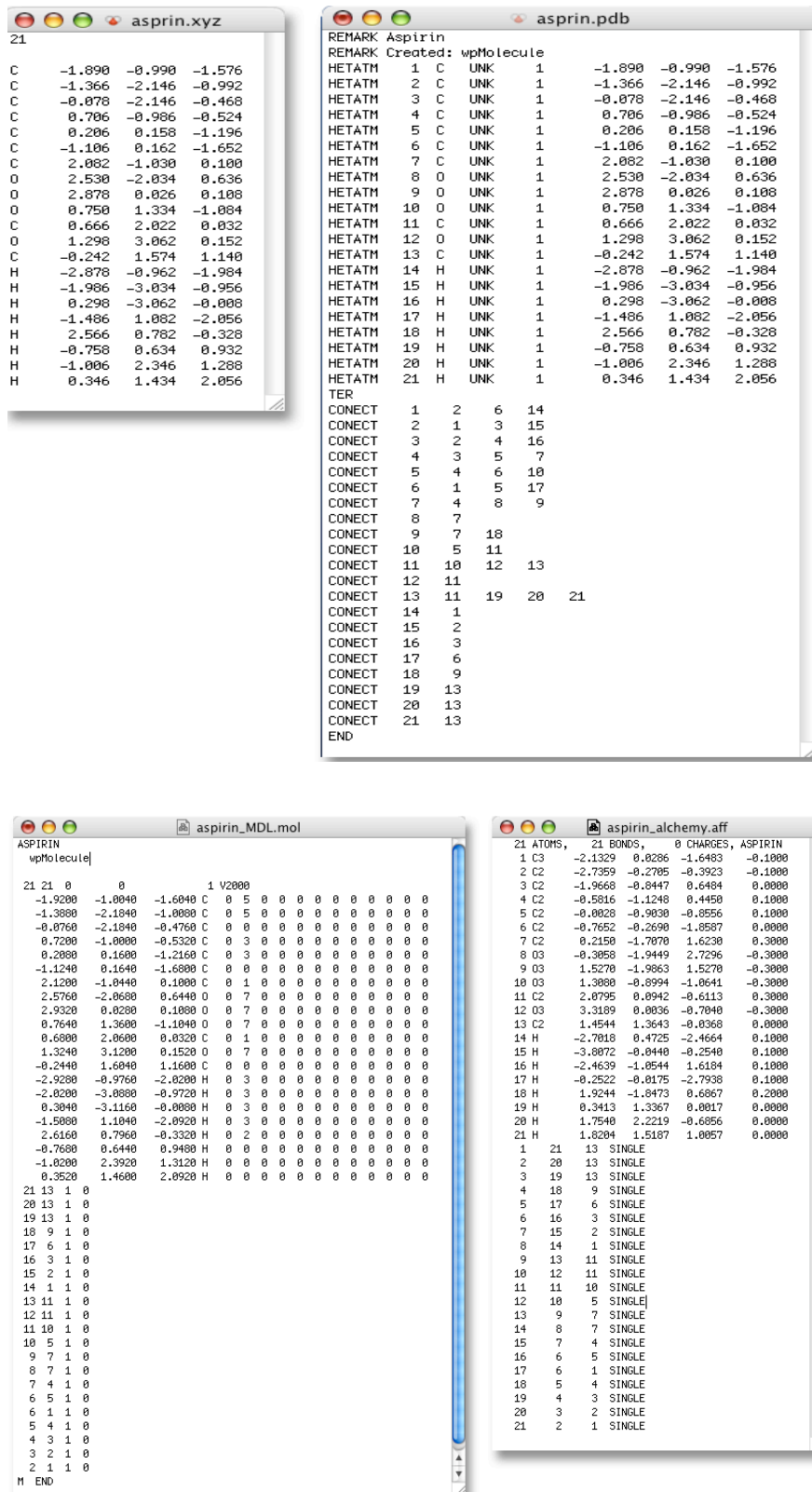
Dateiendung	Formatbeschreibung
.xyz	xyz-Austauschformat sehr einfaches Molekülformat mit Information über Atome und Atompositionen
.pdb, .ent	Brookhaven Protein Data Bank vornehmlich für große Biomoleküle gedachtes Datenformat, jedoch auch für sonstige Moleküle weit verbreitet
.mol	MDL Mol File Format proprietäres aber allgemein verbreitetes Molekülformat der Firma MDL
.ml2, .mol	Sybyl Mol2 File Format proprietäres Dateiformat des Programms Sybyl der Firma Triops (Achtung: nicht identisch mit dem MDL mol-Format!)
.hin	HyperChem proprietäres Dateiformat des Programms HyperChem der Firma HyperCube
.smi, .SMILES	Simplified Molecular Input Line Entry Specification Dateiformat und Strukturbeschreibungssprache zur vereinfach- ten Eingabe von Molekülen (von der Firma Daylight weiterent- wickelt)

#### Gebräuchliche Formate zur Speicherung von Moleküldaten

Für die Repräsentation chemischer Sachverhalte vom Kristallgitter bis zur Apparatur eignen sich auch allgemeine 3D-Formate. Im Rahmen dieser Arbeit entstand daher das Programm *wpMolecule*, das zur Konvertierung des allgemeinen Molekülformats pdb in VRML (Virtual Reality Markup Language) dient und im Internet kostenlos verfügbar gemacht wurde [22].

Damit ist es möglich, Molekülstrukturen auch mit Hilfe normaler VRML-Browser anzuzeigen oder auf Web-Seiten einzubinden. Ferner bietet sich von diesem Format ausgehend die Möglichkeit, die Molekül-  
daten über Importfilter in die meisten 3D-Programme zu übernehmen. Die sich daraus ergebenden Möglichkeiten werden unten erläutert.

Abbildung 8: Alternative Moleküldarstellungen



Beispiele für die interne Repräsentation von Aspirin in vier verschiedenen Formaten (xyz, pdb, mol, aff).

**Tabelle 4: Dateiformate für 3D-Daten**

<b>Dateiendung</b>	<b>Formatbeschreibung</b>
.c4d	Cinema 4D-Format proprietäres Format des 3D-Programms (verbreitet auf Apple Macintosh)
.3ds	3D Studio proprietäres Format des 3D-Programms (verbreitet auf Windows)
.wrl, VRML	Virtual Reality Markup Language nicht mehr weiterentwickeltes, jedoch als Zwischen- und Ausgabeformat noch sehr nützliches 3D-Format für das Web, (Viewer kostenlos)
.w3d	World 3D Übergabeformat für die Integration in Director-Multimedia-Anwendungen
.mov	QuickTime-VR 3D-Variante des QuickTime-Video-Formats der Firma Apple, Player auch für Windows kostenlos

Allgemeine 3D-Formate, die sich für die Visualisierung in der Chemie eignen

### **3.2.1 Programme und Techniken**

Einige Programme lassen sich zur Visualisierung chemischer Systeme vorteilhaft kombinieren. Während zunächst Software-Werkzeuge zur rein chemischen Seite betrachtet werden, wird nachfolgend auch der Einsatz allgemeiner 3D-, Grafik- und Multimedia-Software für die Visualisierung chemischer Systeme gezeigt.

### **3.2.2 Internet und Moleküldatenbanken**

Für Chemiker gibt es im Internet eine Reihe von frei verfügbaren Molekül-Viewern (siehe auch Tabelle 5). Diese für die reine Darstellung von Molekülen geeigneten Programme erlauben die 3D-drehbare Präsentation von Molekülstrukturen, die in einem der gebräuchlichen Molekülformate (Tabelle 3) vorliegen [23, 24].

In Tabelle 6 werden einige große Datensammlungen von Molekülen aufgeführt. Sie sind darin in Standardformaten wie pdb oder mol abgelegt und im Internet zugänglich.

**Tabelle 5: Kategorien von Programmen**

Programmkategorie	Beispiele	Zweck
Molekülviewer	RasMol*, Chime*, VMD*, iMol*, VRML-Viewer (z.B. Cortona*), wpMolView	Betrachten von Molekülen online, offline oder innerhalb von Anwenderprogrammen
Konverter	Babel*, SMILES Translator*, wpMolecule*, Mol2Mol	Umwandlung zwischen Molekül- und allgemeinen 3D-Formaten
Moleküleditoren (2D/3D)	SMILES Structure File Generator*, Xdraw-Chem*, IsisDraw*, ChemDraw, ChemSketch, Spartan, HyperChem, Macromolecule	Interaktives Erstellen von Molekülen. (Einige dieser Programme sind in kommerzielle Programmpakete integriert.)
Molekülmechanik- und Quantenmechanik	Gromacs*, NAMD*, Tinker/Force Field Explorer*, HyperChem, Spartan, Gaussian, Macromodel, Insight	Berechnung von Molekülzuständen wie Energieminima, Partialladungen etc.
3D-Programme	Cinema4D, 3D-Studio, PovRay*	Gestaltung beliebiger 3D- Objekte, erzeugen photorealistischer Bilder und Animationen
Bildbearbeitung	PhotoShop, PaintShop Pro, GIMP*	Fotoretusche und Collage
Zeichenprogramme	Illustrator, Freehand, CorelDraw	Erstellen von 2D-Objektgrafiken
Videoprogramme	FinalCut Pro, Premiere, AfterEffects	Bearbeitung von Trickfilmen, Zwischentitel, Filmcollage
Multimedia	Director, Flash	Erstellung von interaktiven Simulationen und Lernprogrammen

\* Gegenwärtig kostenfrei lizenzierbare Software

**Tabelle 6: Molekül-Datenbanken im Internet (Juli 2005)**

Titel	Quelle	Internet URL für	Schwerpunkt
Protein Data Bank	Brookhaven National Laboratory	<a href="http://www.umass.edu/microbio/rasmol/pdblite.htm">www.umass.edu/microbio/rasmol/pdblite.htm</a>	b, a
Chemistry Molecular Models	Dr. Tom Zamis, University of Wisconsin-Stevens Point	<a href="http://www.uwsp.edu/chemistry/pdbs/">www.uwsp.edu/chemistry/pdbs/</a>	o, a
Molekülgalerie	Universität Basel, Dept. of Chemistry	<a href="http://www.chemie.unibas.ch/study/ProTutLern/MolGal/">www.chemie.unibas.ch/study/ProTutLern/MolGal/</a>	o
Molekülmechanik- und Quantenmechanik	Dave Woodcock, Okanagan University College	<a href="http://www.molecularmodels.ca/molecule/molecule.html">www.molecularmodels.ca/molecule/molecule.html</a>	o, a
Banque de molécules et d'ions	G. Dupuis, Lycée Faidherbe de Lille	<a href="http://www.faidherbe.org/site/cours/dupuis/banque.htm">www.faidherbe.org/site/cours/dupuis/banque.htm</a>	a
Chemicals with pharmaceutical activity	University of Oxford	<a href="http://hwww.chem.ox.ac.uk/mol/chemical-database/">hwww.chem.ox.ac.uk/mol/chemical-database/</a>	o
Molecular Modeling for Chemical Education	Lebanon Valley College	<a href="http://www.molecules.org/">www.molecules.org/</a>	o, a
Enhanced NCI Database Browser	National Institutes of Health	<a href="http://cactus.cit.nih.gov/ncidb/">http://cactus.cit.nih.gov/ncidb/</a>	o, a
Moleküle für die Schulchemie	Norbert Welsch	<a href="http://www.welsch.com">www.welsch.com</a>	o
Smells Database	Department of Chemistry U.C. Berkeley	<a href="http://mc2.cchem.berkeley.edu/Smells/lsch.com">http://mc2.cchem.berkeley.edu/Smells/lsch.com</a>	o

b = biologische Makromoleküle, o = kleine organische Moleküle,  
a = anorganische Stoffe

Die Daten können z.B. im pdb-Format herunter geladen und mit einem Molekül-Viewer betrachtet oder wie unten beschrieben für komplexere Visualisierungen weiterverarbeitet werden. Viele dieser Daten sind die Ergebnisse von Röntgenstrukturanalysen und enthalten daher nur Positionen von Atomen, die schwerer als Wasserstoff sind.

Programme, die solche Dateien lesen können, müssen fehlende Atome durch Wertigkeitsregeln und Bindungen durch eine Abstandsbeurteilung erraten. Stimmen die vorliegenden Positionen nicht genau genug oder liegen ungewöhnliche Bindungsverhältnisse vor, so kann es zu groben Fehlinterpretationen der eingelesenen Daten kommen.

### **3.3 Molekülstrukturen definieren und berechnen**

Neue oder hypothetische Strukturen von Molekülen sind normalerweise nicht über das Web zu bekommen. Der Weg, eine entsprechende Moleküldatei in einem der Standardformate mit einem Texteditor direkt zu erstellen, ist außer in den einfachsten Fällen zu aufwändig. Zudem sind die Atompositionen außer bei einfachen Kristallen nur schwer zu ermitteln.

Kommerzielle Softwarepakete und einige frei verfügbare Molekül-editoren halten hier Lösungen bereit (Tabelle 5). Die Moleküle können in 2D-Editoren gezeichnet und dann in eine 3D-Form umgesetzt oder auch gleich in 3D aus Fragmenten zusammengesetzt werden. Eine der günstigsten Möglichkeiten, eigene Strukturen in einem Editor aufzubauen, wird kostenlos über das Internet angeboten [25]. Durch Eingabe in SMILES und mit Hilfe des auf der Webseite verfügbaren Programms JME (Java Molecular Editor) können Moleküle gezeichnet und auf Wunsch in eine (allerdings nicht energieoptimierte) 3D-Repräsentation umgewandelt werden.

Meist müssen Moleküle im nächsten Schritt noch in eine geometrieoptimierte Form gebracht werden. Hierzu gibt es in der Computational Chemistry zwei Ansätze, nämlich die Quantenmechanik und die klassische Molekülmechanik.

---



### **3.3.1 Quantenmechanische Berechnungen**

Ohne Information über Bindungen und Atomtypen kommen quantenmechanische ab-initio-Methoden aus. Sie können im Prinzip exakte Molekülgeometrien berechnen. Allerdings sind die Ansprüche an die Rechenleistung so groß, dass auch auf Parallelrechnern heute bei nur wenigen hundert Atomen eine Grenze erreicht ist. Semiempirische Verfahren erlauben eine deutliche Reduktion der erforderlichen Rechenleistung, die jedoch trotzdem für große molekulare Systeme mit einigen zigtausend Atomen heute außerhalb des Erreichbaren bleibt. Für Berechnungen an den in Frage stehenden Interphasenmodellen sind quantenmechanische Methoden wegen der Größe der zu simulierenden Systeme weitgehend ungeeignet. Sie können allerdings für spezifische Fragestellungen an Reaktionszentren oder für die Berechnung der Konformationen einzelner Analytmoleküle eingesetzt werden.

### **3.3.2 Molekülmechanik**

Schon seit den grundlegenden Arbeiten von Dr. NORMAN L. ALLINGER [26, 27] existieren Algorithmen, um die relativen Atompositionen in gegebenen Molekülen zu optimieren. Die einfachsten Programme dieser Art betrachten ein Molekül als klassisches Kugel-Federstab-Modell. Sie führen Geometrieoptimierungen mit Hilfe von Kraftfeldrechnungen durch. Dabei wird die Energie eines Moleküls über den Term der Potentiellen Energie in der Hamiltonian ausgedrückt (siehe Infokasten "Energieoptimierung eines Moleküls", S. 33) und über verschiedene Verfahren ein Minimum gesucht. Bei heutigen Rechenleistungen lassen sich molekulare Systeme mit bis zu vielen tausend Atomen auf einem Desktop-Computer berechnen. Ein wesentliches Problem besteht jedoch darin, dass komplexe molekulare

---

Systeme in der Regel nicht nur ein ausgeprägtes Energieminimum besitzen, sondern sehr viele energetisch ähnliche Konformationen. Kraftfeldrechnungen basieren auf experimentell eingestellten oder zuvor quantenmechanisch ermittelten Parametern (Bindungslängen, Bindungswinkel, Konstanten in den Energietermen etc.) für bestimmte Atomtypen, also Atomen mit charakteristischen Hybridisierungszuständen und charakteristischer chemischer Umgebung. Zum Beispiel unterscheiden sich die Parametersätze für ein C-Atom in einem Alkan wesentlich von denen eines C-Atoms in einer Vinylgruppe oder in einem Nitril. Auch die Nachbarschaft von Substituenten wie Aminogruppen oder Hydroxylgruppen ändern den Typ eines Atoms. So kommt eine schwer überschaubare Menge von tausenden Parametern zustande, die in ihrer Gesamtheit als Kraftfeld bezeichnet werden. Atomtypen, die im Kraftfeld nicht berücksichtigt sind, liefern keine befriedigenden Ergebnisse.

Um Rechnerressourcen einzusparen, können Wasserstoffatome auch nur implizit berücksichtigt werden (United-Atoms-Method). Dazu werden veränderte C-Atome eingesetzt, die dann z.B. für ganze CH<sub>3</sub>-Gruppen stehen.

Vor allem für die Ermittlung thermodynamischer Eigenschaften von Molekülen kommen auch Monte Carlo - Simulationen in Betracht. Ausgehend von einer zufälligen Ausgangskonformation (zufällig verteilte Moleküle mit einer der Temperatur entsprechenden Geschwindigkeitsverteilung) werden dabei wahrscheinliche Zustandsübergänge „ausgewürfelt“. Dieses Verfahren wird mit vielen zufälligen Konformationen wiederholt und aus der Menge der Daten statistische Kenngrößen (Mittelwerte, Korrelationsfunktionen, Verteilungsfunktionen usw.) ermittelt. Da nicht exakte, sondern nur wahr-

---

## Energieoptimierung eines Moleküls

Für Energieoptimierungen nach der klassischen Mechanik (Kraftfeldberechnungen) wird der Term der potentiellen Energie aus der Hamiltonian eines Moleküls verwendet, der durch folgende Gleichungen beschrieben wird:

$$V_{ij} = V_{\text{Bindung}} + V_{\text{Winkel}} + V_{\text{Torsion}} + V_{\text{van der Waals}} + V_{\text{HBrücken}} + V_{\text{ElStat}}$$

Bindungen und Winkel werden als harmonische Oszillatoren behandelt. Die reale Morse-Funktion würde der Realität näher kommen und könnte auch die Dissoziation einer Bindung darstellen, sie wird jedoch aufgrund der aufwändigeren Berechnung nicht eingesetzt.

$$V_{\text{Bindung}} = \sum (K_r (r - r_0)^2)$$

$$V_{\text{Winkel}} = \sum (K_\Theta (\Theta - \Theta_0)^2)$$

Torsionsenergien werden durch eine abgebrochene Fourierreihe angenähert.

$$V_{\text{Torsion}} = \sum (1/2 \cdot V_n \cdot [1 + \cos(n\phi - \phi_0)])$$

Van der Waals-Kräfte werden über eine Lennard-Jones-Funktion simuliert. [ $R^6$ : London Dispersion Forces (anziehend),  $R^{12}$ : Abstoßung (aufgrund des Pauli-Prinzips)]

$$V_{\text{van der Waals}} = \sum (A_{ij}/R_{ij}^{12} - B_{ij}/R_{ij}^6)_{i<j}$$

Wasserstoffbrückenbindungen

$$V_{\text{HBrücken}} = \sum (C_{ij}/R_{ij}^{12} - D_{ij}/R_{ij}^{10})_{i<j}$$

Elektrostatische Kräfte

$$V_{\text{ElStat}} = \sum (q_i q_j / \epsilon R_{ij})_{i<j}$$

Alle Konstanten hängen von den an der Bindung beteiligten Atomsorten und ihrer chemischen Umgebung ab. Die aus quantenmechanischen Berechnungen oder experimentell ermittelten Werte werden in einem so genannten Kraftfeld (Force Field) zusammengestellt. Die Gesamtenergie eines Moleküls ergibt sich aus den Beiträgen der einzelnen Komponenten durch Summation über alle Atome des Systems.

$r_0$	Gleichgewichtsentfernung der Atome
$r$	Entfernung der Atome
$\Theta_0$	Gleichgewichts-Bindungswinkel
$\Theta$	Bindungswinkel
$n$	Periodizität der Rotationsbarriere ( $n = 2$ oder $n = 3$ )
$A, B, C, D$	Konstanten
$i, j$	Atomnummer
$q$	Ladung
$\epsilon$	Dielektrizitätskonstante

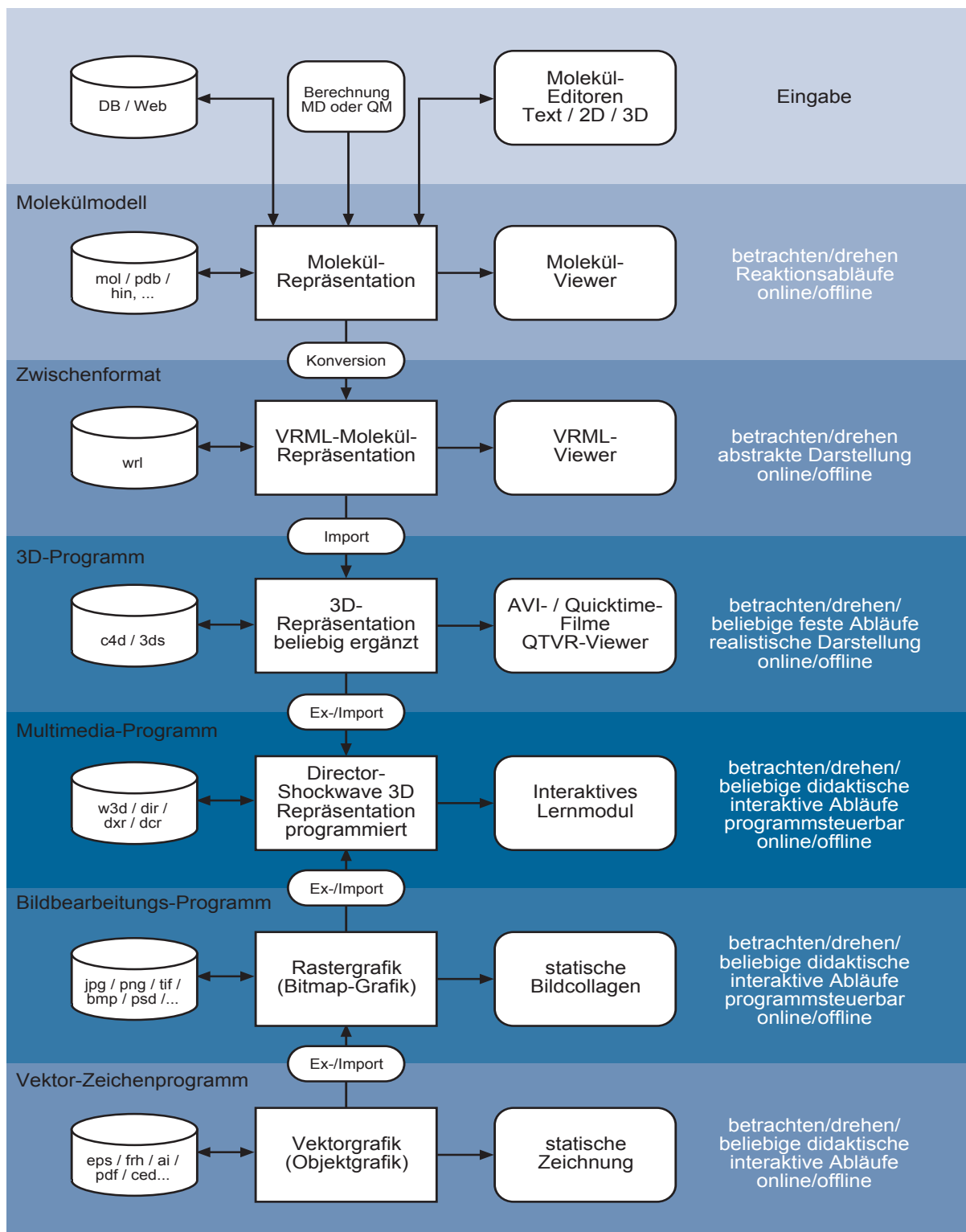
Absolute Energiewerte  $V$  haben keine physikalische Bedeutung, lediglich Energiedifferenzen sind wichtig. Durch deren Minimierung kann die Gleichgewichtsgeometrie eines Moleküls bestimmt werden, die als Basis für viele Visualisierungen dient.

scheinliche Zustandsübergänge ermittelt werden, sind im allgemeinen diese Verfahren weniger rechenintensiv und eignen sich deshalb auch für grosse Moleküle. Auf diese Weise können Kenngrössen wie Diffusionstensoren ermittelt werden, die Eingangsgrössen weiterer Simulation sind.

### ***3.3.3 Kombination mit Zusatzinformationen***

Soll eine Visualisierung realistisch und ästhetisch wirken, so muss neben der rein chemischen Information, die sich aus geometrieoptimierten Molekülen ergibt, oft auch die Umgebung berücksichtigt werden. Die heute in die Reichweite der Untersuchungen gerückten sehr komplexen Systeme führen dazu, dass eine sture Abbildung der Moleküle für eine Visualisierung nicht mehr genügend Übersichtlichkeit erreicht. Klassische Begriffe wie eingängige Schlüssel-Schloss-Metapher für Rezeptoren haben den didaktischen Wert einer solchen über reines Molecular-Modeling hinausgehenden Abstraktion demonstriert.

---

**Abbildung 9: Kombination verschiedener Multimedia-Techniken**

Programmkategorien und Formate zur Erstellung chemischer Visualisierungen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur wichtige Herstellungsabläufe angegeben, andere Kombinationen können alternativ eingesetzt werden. Die komplexeste Repräsentation wird in einem Multimedia-Programm (dunkelblau) erreicht.

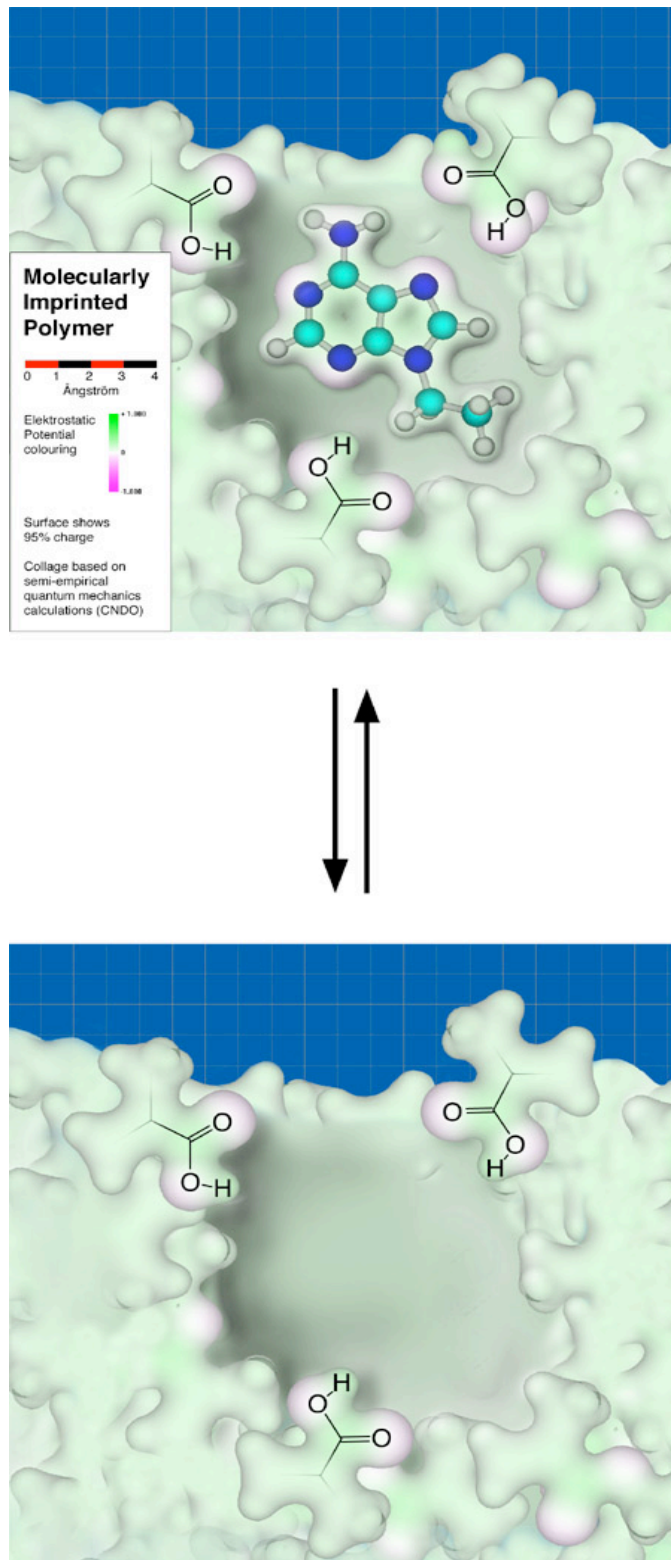
### **3.3.4 Bildbearbeitung und Collagetechnik**

Diese Kombination mit anderen Daten kann komplett in einem Bildbearbeitungsprogramm in 2D oder in einem 3D-Programm erfolgen. Auch im letzteren Fall wird aber häufig beim finalen Herstellungsschritt noch ein Bildbearbeitungsprogramm eingesetzt.

Ein Programm für professionelle Collage muss unbedingt über mehrere Bildebenen und eine gute Transparenzverarbeitung verfügen. Photoshop ist hier die erste Wahl, die Freeware GIMP erreicht aber ebenfalls einen beachtlichen Funktionsumfang. Ein typischer Arbeitsablauf besteht darin, ein Molekül in einem Viewer möglichst groß auf dem Bildschirm darzustellen und eine Bildschirmkopie als Ebene in das Bildbearbeitungsprogramm zu übernehmen. Durch Auswahl und Löschen des Hintergrunds wird das Molekül freigestellt. Ein der Ebene zugeordneter so genannter Alpha-Kanal kann Information über unterschiedlich transparente Bereiche enthalten. Nach dem Hinzuladen von Ebenen, die mit 3D- oder Zeichenprogrammen erstellt wurden, können diese nahezu beliebig kombiniert werden. Durch die Werkzeuge des Programms lassen sich weitere Details hinzufügen oder Retuschieren (Abbildungen 8, 9, 10).

Bei allen Arbeiten mit Rastergrafiken muss darauf geachtet werden, dass, bezogen auf die finale Ausgabegröße, mindestens eine Auflösung von 300 dpi (Bildpunkte pro Inch, 1 Inch = 2,54 cm) für ein zu druckendes Bild bzw. mindestens 72 dpi für Bildschirmanwendungen zur Verfügung steht. Insbesondere wenn Retuschen erforderlich sind oder die endgültige Auswahlgröße noch nicht feststeht, empfiehlt es sich für optimale Ergebnisse während des Herstellungsprozesses mit bis zur doppelten horizontalen und vertikalen Anzahl von Bildpunkten zu arbeiten, also mit der vierfachen Datenmenge.

---

**Abbildung 10: Molecularly Imprinted Polymer (MIP)**

Herstellung: Molekül in HyperChem erstellt, Kugel-Stab-Modell, Oberfläche und Ladungsverteilung errechnet, zur Collage in Photoshop-Ebenen übertragen, Hintergrund, Schattenwurf und Beschriftungen ergänzt.

### 3.4 3D-Software und Animationen

Wertvolle Hilfsmittel für eindrucksvolle Visualisierungen bieten heute auch kommerzielle sowie frei erhältliche 3D-Werkzeuge (Tabelle 5).

Bei aufwändigeren bildlichen Darstellungen kann es, wie bereits in Kapitel 3.1.3 angedeutet, sinnvoll sein, Moleküle zunächst in ein 3D-Programm zu übernehmen. In der Regel sind hierzu Konvertierungen zwischen verschiedenen Molekülformaten sowie danach die Umwandlung in ein 3D-Format erforderlich. Für die Konvertierung zwischen Moleküldateiformaten kommen Import- und Exportfilter verschiedener Molecular-Modeling-Programme in Betracht, aber auch Freeware (Tabelle 5) kann eingesetzt werden.

Für die Übernahme in ein 3D-Programm zur Weiterbearbeitung bietet sich VRML als Zwischenformat an. Obwohl die Sprache nicht mehr aktiv weiterentwickelt wird, unterstützen viele kommerzielle 3D-Programme wie z.B. Cinema4D diese Beschreibungssprache Importformat. Der im Internet nutzbare Konverter wpMolecule [22] wandelt pdb-Daten in VRML-Daten. Damit stehen die Moleküle für beliebige Ergänzungen und zum Export in wiederum andere 3D-Formate oder Viewer-Formate wie etwa QuickTimeVR (Apple, Inc.) zur Verfügung. Es ist so z.B. möglich, zusätzliche Ebenen, Pfeile, Beschriftungen etc. anzubringen oder die Moleküle in einen Kontext zu stellen (siehe z.B. Abbildungen 27 und 32).

Für die Erstellung interaktiver Simulationen, also die die Programmierung und finale Zusammenstellung der mit den oben genannten Werkzeugen erstellten visuellen Komponenten, kommen heute, etwas abhängig von der Produktions- und Zielplattform, mehrere Entwicklungsumgebungen in Betracht. Ohne Anspruch auf Vollständig-

---



keit werden in Tabelle 7 einige davon mit ihren wesentlichen Fähigkeiten und Beschränkungen vorgestellt. Für die vorliegende Arbeit wurden die Werkzeuge Macromedia Director und Java3D eingesetzt. Beispiel einer mit Macromedia Director erstellten Simulation ist etwa die Visualisierung der Wechselwirkungsstudien über transfer-NOESY Messungen (Abbildung 44).

**Tabelle 7: Autorensysteme für die Erstellung interaktiver Programme**

Hersteller/ Produkt	Herstellungs- plattformen	Zielplattformen	Kosten	Funktionsumfang*	Lernaufwand*
Macromedia Director	Windows, MacOSX	Windows, MacOSX, Browser	hoch	+++	++
Macromedia Flash	Windows, MacOSX	Windows, MacOSX, Linux, Browser	niedrig	++	++
Borland Delphi	Windows	Windows, MacOSX, Browser	mittel	+++	+++
Java/ Java3D	Windows, MacOSX, Linux	Windows, MacOSX, Linux, Browser	frei	++	+++

\* subjektive Beurteilung



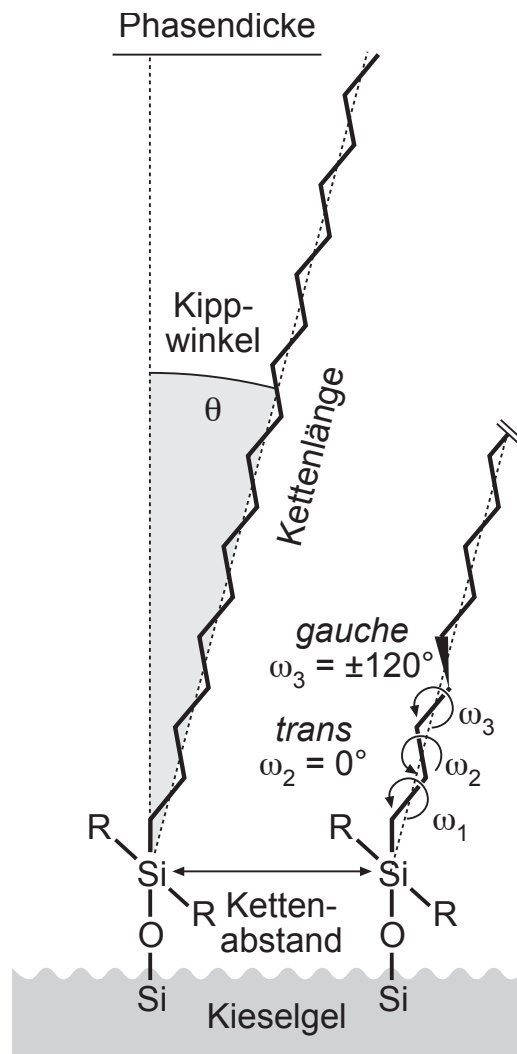
## 4 RP-HPLC-Trennphasen und Synthesestrategien

RP-HPLC-Trennphasen sind typische Interphasensysteme. Das Interphasen-Konzept ist hilfreich für die Betrachtung katalytischer Reaktionen, für Festphasensynthesen und für die meisten Formen der Chromatographie, insbesondere für GC, LC, HPLC und RP-HPLC. Es beschäftigt sich mit Systemen, bei denen eine mobile Komponente auf molekularer Ebene in eine stationäre Phase eindringt und mit dieser wechselwirkt. Die stationäre Phase ist dabei (z.T. über spezielle Spacer-Gruppen), kovalent auf einem anorganischen, organischen oder organisch/anorganischen Mischpolymer als Trägermaterial fixiert.

Die stationäre Phase enthält Interaktions- oder Reaktionszentren, die aus organischen Molekülen, aus organometallischen Komplexen oder sogar aus ganzen Enzymen bestehen können. Neben der Nutzung für die RP-Chromatographie eignen sich ähnliche Materialien auch zur heterogenen Katalyse. Nachfolgend werden die Synthesestrategien zur Immobilisierung von Alkylketten und Poly(ethylen-co-acrylsäure)-Copolymer an Kieselgel und ihr Einfluss auf die Morphologie der gebildeten stationären Phasen erläutert.

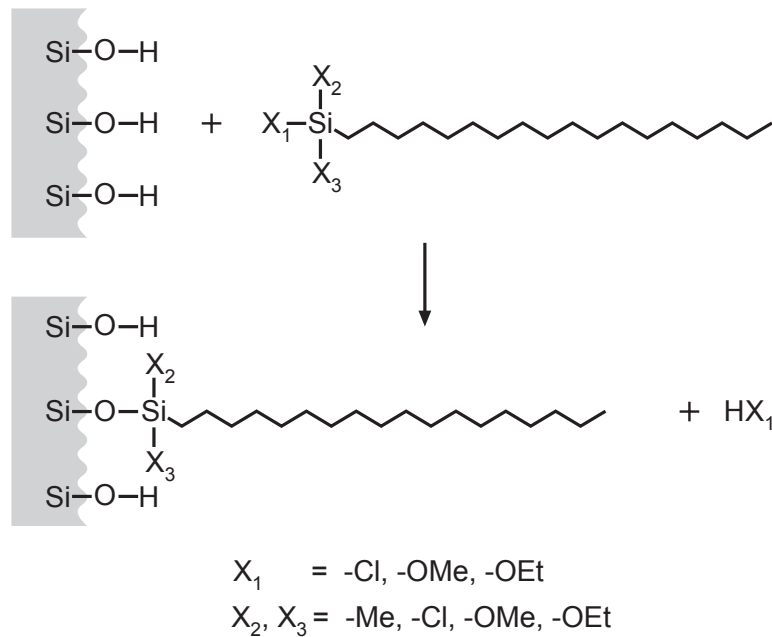
Obwohl sich (entgegen dem üblichen Gebrauch des Begriffs Phase) auf der Oberfläche von RP-HPLC-Phasen keine wirklich homogene Phase aus diesen Kettenmolekülen ausbildet, können Reaktanden bzw. Analyten durch einen Quellvorgang in die stationäre Phase eindringen und mit ihr in Wechselwirkung treten. Die Oberflächenmorphologie, und zwar in Erster Linie die Anordnung der angebondenen Alkylketten, bildet die Grundlage für das Verständnis der Wechselwirkungsprozesse und für das Trennverhalten der Phasen im praktischen Einsatz.

---

**Abbildung 11: Geometrische Kenngrößen von Alkylphasen**

Vereinfacht können stationäre Phasen der RP-HPLC durch eine Oberfläche beschrieben werden, an der langkettige Moleküle büstenartig angeordnet sind. An jeder C-C-Bindung kann eine *trans* oder eine *gauche*-Konformation vorliegen. Je mehr Bindungen sich in der *trans*-Konformation befinden und je geringer der Kippwinkel ist, desto mehr nähert sich die Schichtdicke (Phasendicke) der Kettenlänge (Konturlänge) der angebotenen Gruppen an (siehe auch Tabelle 15).

Die Synthese der gebräuchlichsten stationären Phasen wie C<sub>4</sub>-, C<sub>8</sub>-, C<sub>18</sub>- oder C<sub>30</sub>-Phasen wird heute durch Reaktion von Chlor- oder Alkoxysilanen mit freien Silanolgruppen an der Oberfläche eines Kieselgels durchgeführt. Die Bindung entsteht hierbei durch Elimination von HCl bzw. des entsprechenden Alkohols.

**Abbildung 12: Silanisierung**

Synthese alkylierter Kieselgele durch mono-, di- oder trifunktionelle Silane

#### 4.1 Monomerphasen

Für die Synthese nach Abbildung 12 können mono- di- und trifunktionelle Silane eingesetzt werden. Im Falle der Reaktion mit monofunktionellen Silanen (Abbildung 12:  $X_2, X_3 = \text{Me}$ ) erfolgt eine statistische Anbindung einzelner Alkylketten an die zur Verfügung stehenden Silanolgruppen, die entstehenden Phasen werden als Monomerphasen bezeichnet. Die in Synthesen erreichbare Belegungsichte beträgt ungefähr  $2,0 - 3,5 \mu\text{Mol}/\text{m}^2$ . Wird die selbe Reaktion mit di- oder trifunktionellen Silanen unter trockenen Bedingungen durchgeführt, so verhalten sich die Syntheseprodukte ähnlich wie Monomerphasen[28].

#### 4.2 Lösungspolymerisation

Wird die Synthese mit trifunktionellen Silanen jedoch in Gegenwart von Wasser ausgeführt, so kommt es zur Polymerisation der Silane und die Ergebnisse unterscheiden sich sowohl in ihrer chemischen

Zusammensetzung als auch in ihrem chromatographischen Verhalten. Man spricht in diesem Fall von Polymerphasen. Es hat sich gezeigt, dass die Ergebnisse der Synthese entscheidend davon abhängen, ob Wasser in die Reaktionslösung zugegeben wird, oder ob Wasser vor der Reaktion an die Oberfläche des Kieselgels adsorbiert wird.

Im ersteren Fall spricht man von Lösungspolymerisation (solution polymerization) [29]. Dabei werden offenbar durch Polymerisation in der Lösung Oligomere gebildet, die erst später eine Bindung zum Substrat eingehen. Es gibt Hinweise darauf, dass sich dabei hauptsächlich Oligomere aus fünf bis sechs zumeist unverzweigt verknüpften Silaneinheiten bilden, die mit durchschnittlich drei bis vier Siloxanbindungen an die Silicatoberfläche gebunden werden [30]. Durch diese Methode werden Oberflächenbeladungen von ca. 5 – 6  $\mu\text{Mol}/\text{m}^2$  erreicht.

### **4.3 Oberflächenpolymerisation**

Die Polymerisation von Trialkoxysilanen nimmt einen anderen Verlauf, wenn Wasser vor der Reaktion an die Kieselgeloberfläche gebunden ist, also feuchtes Kieselgel in die Reaktionslösung gegeben wird.

Dabei entstehen so genannte SAM (Self Assembled Monolayer), in denen die Alkylketten sehr dicht angeordnet sind. Auf Gold- und Quarzoberflächen konnte gezeigt werden [31,32], dass die Alkylsilane in diesem Fall zunächst an der wässrigen Oberflächenschicht hydrolysiert werden. Sie können dann auf der Oberfläche wandern, um sich in der Folge durch Polymerisation an den entstehenden Film anzulagern (surface polymerization).

---

Über die Oberflächenpolymerisation werden Oberflächenbeladungen bis zu ca.  $8 \mu\text{Mol}/\text{m}^2$  erreicht, was fast den Verhältnissen in kristallinem Octadecan entspricht.

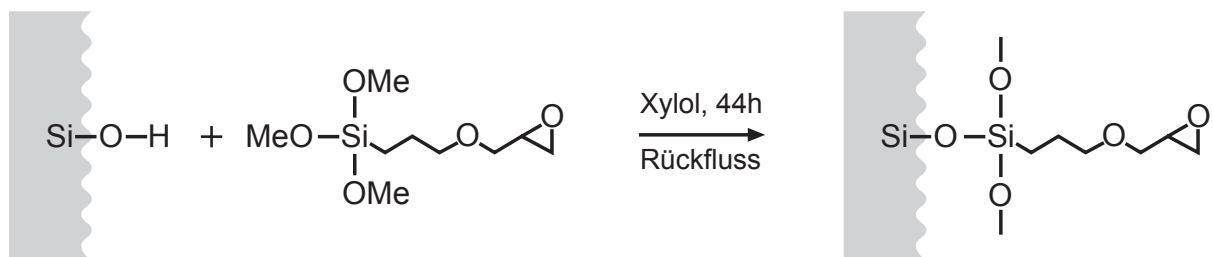
Für chromatographische Zwecke sind oberflächenpolymerisierte Phasen weniger geeignet, da sie aufgrund der hochdichten Packung wenig Zugangsmöglichkeiten für Analytmoleküle bieten.

#### 4.4 Spacermoleküle an Kieselgel

Um eine spätere Anbindung von Poly(ethylen-co-acrylsäure) zu ermöglichen, wurden auf Kieselgel ein 3-Glycidoxypropyl-Spacer (GOPS-Spacer) angebunden. Analoge Versuche mit einem 3-Aminopropylsilan-Spacer (APS-Spacer) ergaben trotz dreifach höherer Oberflächenbeladung im Vergleich zum APS-Spacer eine geringere Auflösung und daher unbefriedigendere Chromatographieergebnisse. Ein Grund hierfür könnten z.B. verstärkte polare Wechselwirkungen an den Stickstoffatomen dieses Spacers sein, wie sie bei der Simulation des ähnlichen Systems der Polar-Embedded-Phasen gefunden wurden (Abbildung 34).

Die Anbindung des GOPS-Spacers erfolgte über das nachstehende Reaktionsschema:

**Abbildung 13: Spacer-Anbindung**

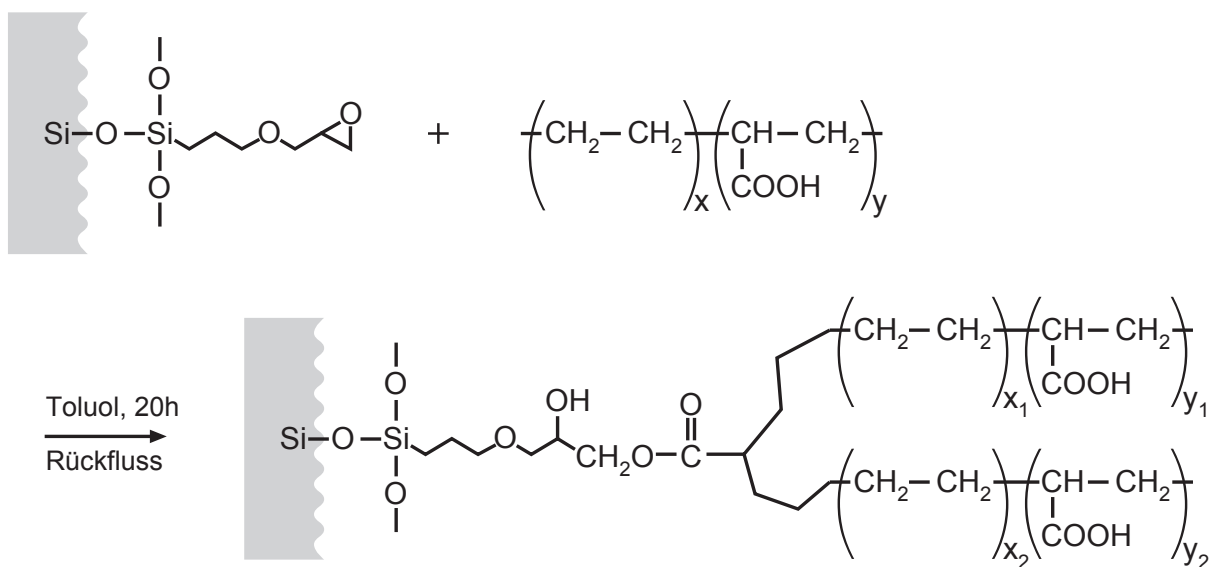


Anbindung eines Polymerrasens aus 3-Glycidoxypropylsilans (GOPS) auf einer Kieselgeloberfläche

#### 4.5 Anbindung von Poly(ethylen-co-acrylsäure)

Die stationäre Phase wurde unter Öffnung des Oxiranrings der 3-Glycidoxypropylsilan-Gruppe durch Veresterung mit Poly(ethylen-co-acrylsäure)-Copolymer (5% Massenanteil Acrylsäure,  $x = x_1 + x_2 = 119$ ,  $y = y_1 + y_2 = 2,4$ ) erhalten (Abbildung 14).

**Abbildung 14: Copolymer-Anbindung**



#### Reaktion der Poly(ethylen-co-acrylsäure) mit dem GOPS-Spacer

Die Aussagen über die Kettenlänge des Copolymers sind nur ein statistischer Mittelwert. Es muss mit einer beträchtlichen Heterogenität der Ketten sowohl bezüglich ihrer Länge als auch bezüglich der Anzahl an Acrylsäureeinheiten ( $x_2$ ,  $y_2$ ) gerechnet werden.

Für die zu erwartende Morphologie der gebildeten stationären Phase ist ferner zu beachten, dass die Kontourlänge eines Polymers von ca. 120  $\text{CH}_2$ -Gruppen (entsprechend ca. 150 Å) durch die Anbindung an einer statistisch über die Länge des Copolymers verteilte Acrylsäureeinheit des Copolymers durchschnittlich auf die Hälfte (ca. 75 Å) verkürzt ist. Dabei treten besonders kurze Ketten jeweils dicht benachbart zu besonders langen Ketten auf.



## 5 Charakterisierungsmethoden

Das Trennverhalten selbst, in dem beabsichtigten Einsatzbereich angewendet, liefert natürlich die für die Praxis wichtigsten Kenngrößen einer stationären Phase. Diese Eigenschaften werden durch Probentrennungen ermittelt und nach den in 5.1 erläuterten Methoden ausgewertet.

Für die Reaktionskontrolle bei der Synthese sowie zur Charakterisierung von RP-Trennphasen können verschiedene weitere Untersuchungsverfahren herangezogen werden, die in den folgenden Unterkapiteln spezifiziert sind. Diese gleichen Informationen werden auch zur Visualisierung und zur Theorienbildung für ein verbessertes Verständnis der Vorgänge beim chromatographischen Trennprozess ausgewertet.

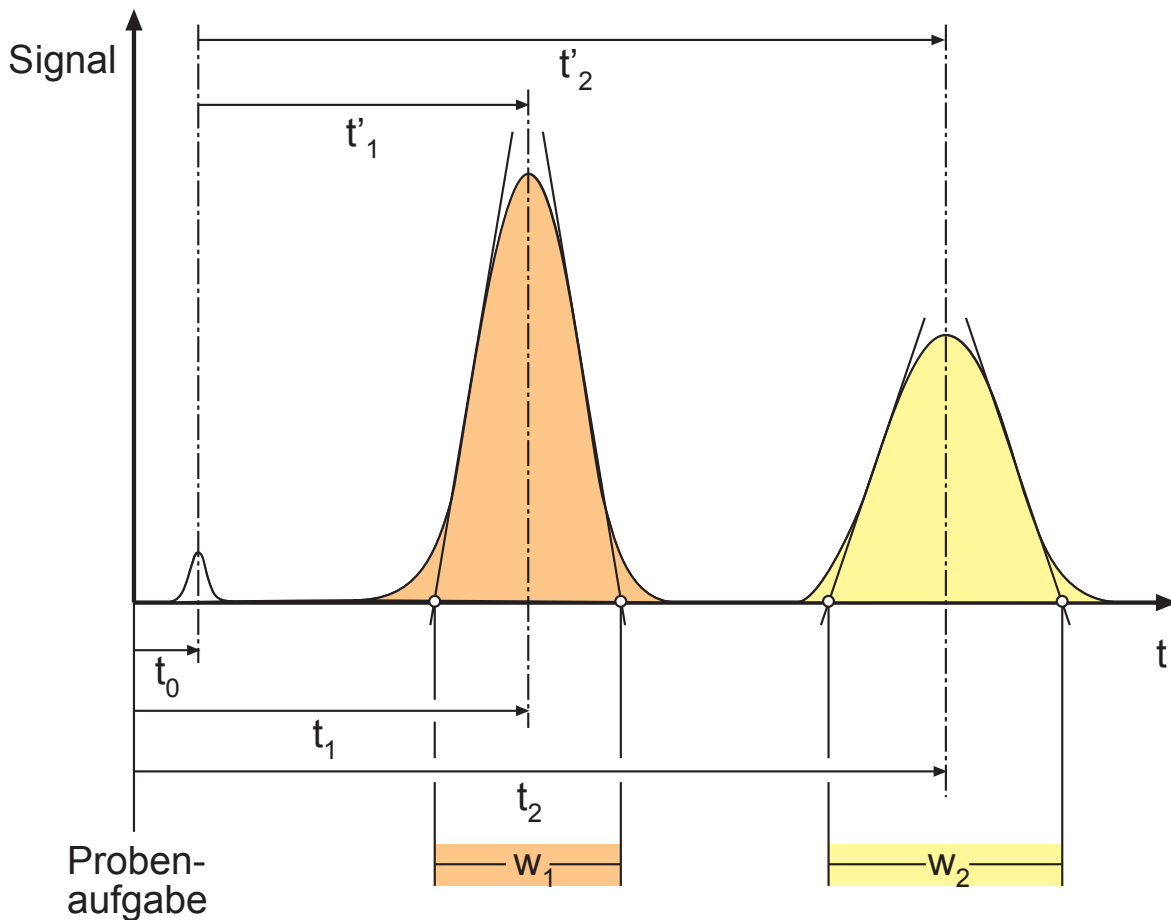
### 5.1 Allgemeines zur HPLC

Bei allen Methoden der Chromatographie (GC, LC, HPLC etc.) kann das jeweils entstehende Chromatogramm mit einer weitgehend einheitlichen Nomenklatur beschrieben und Ausgewertet werden[33].

Unabhängig von der Art des Detektors (bei der HPLC wird meist ein UV-Absorptionsdetektor verwendet), liefert das System (Abbildung 2) nach der Probenaufgabe (Injektion) eine zeitabhängige Anzeige der Konzentration am Säulenausgang (siehe Abbildungen 15). Die analogen Detektorwerte werden mit Hilfe eines Schreibers ausgegeben bzw. nach Analog-Digital-Wandlung in einer Computerdatei abgelegt.

Die Auswertung der Peakpositionen, Peakhöhen und Peakflächen kann manuell oder mit Hilfe von Computerprogrammen elektronisch erfolgen.

---

**Abbildung 15: Kenngrößen eines Chromatogramms**

Die Totzeit  $t_0$  ist die minimale Durchlaufzeit mobilen Phase durch das Chromatographiegerät. Je nach Stärke ihrer Wechselwirkungen erreicht eine der Substanzen 1 bzw. 2 den Detektor später nach der Retentionszeit  $t_1$  bzw.  $t_2$ . Aus den Flächenintegrale unter den Kurven kann nach entsprechender Eichung die Substanzmenge ermittelt werden.

Können die Substanzen von dem verwendeten chromatographischen System aufgetrennt werden, so erscheinen sie in einzelnen Signalen (Peaks), die im Idealfall Gaußkurven darstellen. Die Zeit von der Probenaufnahme bis zum Maximum des Peaks wird als Retentionszeit  $t_R$  bezeichnet. Meist ist nicht die gesamte Retentionszeit (Brutto-Retentionszeit) von Interesse, sondern nur die Netto-Retentionszeit  $t'_R$  die sich aus  $t_R$  durch Subtraktion der Totzeit  $t_0$  ergibt. Die Totzeit ist die Zeit, die ein nicht retardierter Peak (bzw. die mobile Phase

selbst) benötigt, um von der Stelle der Probenaufgabe (Injektorblock, Einspritzventil) zum Detektor zu gelangen.

Zur besseren Vergleichbarkeit bei unterschiedlichen Chromatographiebedingungen ermittelt man den Retentionsfaktor (k-Wert) eines Peaks mit:

$$k = t'_R / t_0$$

In der Praxis werden Retentionsfaktoren zwischen 1 und 10 angestrebt. Die Frage, ob zwei Substanzen getrennt werden (die Selektivität), hängt ab vom Trennfaktor  $\alpha$ , ab, dem Verhältnis beider Retentionsfaktoren:

$$\alpha = k_2 / k_1$$

Um Hinweise auf die Identität einer Substanz zu erhalten, kann man deren Retentionsfaktor mit demjenigen einer unter gleichen Bedingungen chromatographierten bekannten Substanz vergleichen oder eine Vergleichssubstanz zur Probe hinzu mischen (Zumischmethode). Für eine sichere Bestimmung ist die Untersuchung des eluierten Materials unerlässlich. Diese kann z.B. durch eine spektroskopische Methode wie MS oder NMR erfolgen.

Die Peakfläche ist ein Maß für die Substanzmenge. Da verschiedene Substanzen durchaus unterschiedliche Absorptionskoeffizienten bei der für die Messung gewählten Wellenlänge besitzen können, ist nicht immer gewährleistet, dass die Peak-Flächenverhältnisse den Mengenverhältnissen der Substanzen entsprechen. (Dieser Nachteil wird beim Einsatz multispektraler Detektoren zum Vorteil umgemünzt: die Substanzen können dann oft anhand ihrer Absorptionsverhältnisse bei verschiedenen Wellenlängen identifiziert werden.)

---

Die Peakfläche kann mit Hilfe elektronischer Integration oder näherungsweise graphisch-rechnerisch bestimmt werden.

Als Basisbreite  $w$  eines Peaks wird die Breite bezeichnet, die sich aus dem Schnittpunkt der Wendetangenten des Peaks mit der Basislinie ergibt (handelt es sich um einen reinen Gaußpeak, so gilt  $w = 4 \sigma$ ;  $\sigma$  = Standardabweichung). Sie kann zur Berechnung der Anzahl theoretischer Trennstufen bzw. der Trennstufenhöhe einer Säule der Länge  $L$  verwendet werden sowie zur Berechnung der Auflösung (s.u.). Die Anzahl theoretischer Trennstufen einer Säule unter gegebenen Betriebsbedingungen lässt sich aus der Retentionszeit und Breite eines beliebigen Peaks ermitteln. Im Falle symmetrischer Peaks ergibt sie sich aus der Basisbreite des  $i$ . Peaks nach folgender Formel:

$$N = 16 \cdot ( t_i / w_i )^2$$

Alternativ kann sie auch aus der Breite eines Peaks auf halber Höhe, die Halbwertsbreite  $w_{i(0.5)}$ , verwendet werden, die bei asymmetrischen Peaks leichter zu ermitteln ist (Achtung: Die Halbwertsbreite ist nicht gleich der halben Basisbreite!):

$$N = 5,545 \cdot ( t_i / w_{i(0.5)} )^2$$

Die Trennstufenhöhe  $H$  eines nicht retardierten Peaks gilt als Maß für die Güte der Säulenpackung.

$$H = L / N$$

Sollen absolute Substanzmengen ermittelt werden, so kann dies durch Eichung der Peakfläche auf die Peakfläche einer bekannten Menge unter gleichen Bedingungen chromatographierten Vergleichssubstanz geschehen (externer Standard). Wird zur Eichung die Zu-

---

mischung einer bekannten Menge einer Komponente verwendet, so spricht man von einem internen Standard.

Zur Beschreibung der Trennung zweier Substanzen wird oft die Auflösung verwendet, die als Quotient aus der Differenz der Retentionszeiten  $t$  und dem arithmetischen Mittel der Basisbreiten  $w$  definiert ist:

$$R = 2 \cdot (t_2 - t_1) / (w_1 + w_2) \quad (\text{vgl. Abb. 15})$$

Zwei ideale Peaks werden etwa ab  $R = 1,5$  bis auf die Basislinie getrennt. Unter anderem bei zu hoher Beladung, also wenn die auf die Säule aufgebrachte Substanzmenge zu groß ist, wird die Peakform asymmetrisch und weicht deutlich von einer Gaußkurve ab. Dies verschlechtert die Trennung wesentlich. Komponenten mit kleinen Trennfaktoren können dann nicht mehr getrennt werden.

Dieses Verhalten ist besonders dann störend, wenn für die Analyse des Peaks Techniken mit nicht sehr hoher Empfindlichkeit zum Einsatz kommen, wie es für die HPLC-NMP-Kopplung zutrifft. Um die hohe Aussagekraft der verschiedenen NMR-Verfahren nutzen zu können, werden deshalb stationäre Phasen mit möglichst hoher Beladbarkeit benötigt.

Um ein Trennverhalten zu prüfen, werden verschiedene Testmischungen verwendet, die typisch für den geplanten Einsatzbereich sind.

Frühe Versuche, die chromatographische Trennung theoretisch zu erklären, basierten auf Retentionsmodellen, die sich auf hydrophoben Eigenschaften stützten und Formeffekte ausschlossen [34, 35, 36]. Im Jahr 1979 legte die EPA (United States Environmental

---

Protection Agency) in ihrem Verfahren 610 sogar eine ganz bestimmte C<sub>18</sub>-Säule fest, denn nur damit konnten wichtige Schadstoffe, nämlich bestimmte in ihrer Hydrophobizität sehr ähnliche polykondensierte aromatische Kohlenwasserstoffe, getrennt werden. WISE und SANDER führten für diese Fähigkeit mancher RP-HPLC-Phasen zur Formerkennung starrer Moleküle bei gleicher oder sehr ähnlicher Hydrophobizität den Ausdruck "Shape Selectivity" ein [37]. Aufbauend auf Arbeiten von RADECKI [38] entwickelte WISE [39, 40] das Slot-Model (Abbildung 36). Die speziell für die Untersuchung von Shape-Selectivity entwickelte Standard Reference Material SRM 869a [41] erlaubt eine Quantifizierung der Formselektivität. Die Probenmischung besteht aus den Komponenten Phenanthrol[3,4-c]phenanthren (PhPh), Tetrabenzonaphthalin (TBN) und Benzo[*a*]pyren (BaP).

Für die hier in erster Linie untersuchte Problemstellung der Formerkennung werden die Daten von Trennungen an  $\beta$ -Carotin-Isomeren betrachtet, die fast keine Polaritätsunterschiede, jedoch deutliche Unterschiede in der (starren) Molekülform besitzen (*all-trans*-, *9-cis*- und *13-cis*-Carotin).

## 5.2 Elementaranalyse

Über die Elementaranalyse kann der prozentuale C, O, und N-Gehalt der stationären Phase ermittelt werden. Aus dem Anteil Kohlenstoff ( $p_C$ ) kann bei bekannter Anzahl von Kohlenstoffatomen pro Monomereinheit der angebundenen Liganden und bekannter spezifischer Oberfläche der Bedeckungsgrad  $\alpha_{RP}$  in  $\mu\text{Mol}/\text{m}^2$  einer Phase ermittelt werden:

$$\alpha_{RP} = 10^6 * p_C / (100 * n_C * M_C * S_{BET})$$

---

$p_C$     prozentualer Kohlenstoffgehalt  
 $M_C$     12,0107  
 $n_C$     Anzahl der C-Atome pro Monomereinheit  
 $S_{BET}$  Anzahl der C-Atome pro Monomereinheit

Hieraus ist die Anzahl angebundener Ketten pro Quadratnanometer zugänglich, die eine für die Visualisierung aussagekräftigere Einheit darstellt:

$$L = f * \alpha_{RP}$$

$$N_A = 6,022 \cdot 10^{23}$$

$$f = N_A / 10^6 \cdot ((10^9)^2) = 0,6022 \quad (1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}, 1 \text{ } \mu\text{Mol} = 10^{-6} \text{ Mol})$$

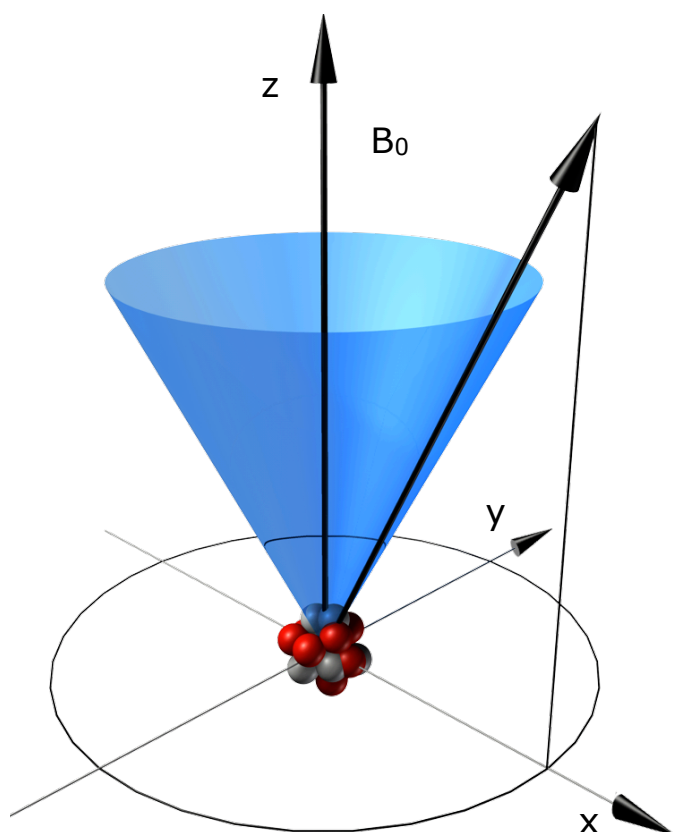
Statt den Kohlenstoff-Wert zu nutzen, kann die analoge Rechnung auch für  $p_N$ ,  $M_N$  und  $n_N$  durchgeführt werden. (Dies ist z.B. bei kurz-kettigen Phasen oder Spacer-Molekülen mit einer Amino-Funktionalität von Interesse.)

Neben den üblichen Fehlermöglichkeiten bei der Elementaranalyse selbst, muss mit einer gewissen Ungenauigkeit der Angabe des  $S_{BET}$ -Wertes seitens des Kieselgel-Herstellers (ca.  $\pm 3\%$ ) gerechnet werden. Angesichts der z.T. recht langkettigen Liganden und der kleinen Porenweite, ist auch mit einer gewissen sterischen Hinderung zu rechnen und damit mit der Möglichkeit, dass die über das übliche Stickstoff-Tieftemperatur-Adsorptionsverfahren nach BRUNAUER, EMMET und TELLER [42] ermittelte Oberfläche nicht vollständig zugänglich ist. Ferner finden sich Unsicherheiten bei dem für  $n_C$  anzusetzenden Wert. Zumindest bei di- und trifunktionellen Silanen muss auch damit gerechnet werden, dass eventuell nicht alle Methoxy- oder Ethoxy-Gruppen quantitativ hydrolysieren und so eine zu hohe Beladung vorgetäuscht werden kann. Insbesondere bei der Anbin-

---

dung über Spacer-Gruppen muss zudem davon ausgegangen werden, dass nicht alle angebondenen Spacer auch Liganden tragen.

### 5.3 Kernspinresonanz



Seit der Entdeckung des Phänomens der kernmagnetischen Resonanz (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) im Jahre 1946 durch die Arbeitsgruppen von BLOCH, HANSEN, PACKARD [43, 44] und PURCELL, TORREY, POND [45] hat sich die NMR-Spektroskopie vor allem durch die Einführung der Puls-Fourier-Transform-Technik in der zweiten Hälfte der 1960er Jahre (ERNST und ANDERSON) zu der wohl aus-

sagekräftigsten spektroskopischen Methode für die Strukturermittlung unbekannter Verbindungen in weiten Bereichen der Chemie, Biochemie, Physik und Medizin entwickelt.

Das Messprinzip beruht darauf, dass alle Atomkerne mit Ausnahme der so genannten *gg*-Kerne (gerade Neutronenzahl und gerade Protonenzahl im Kern) einen Kernspin und damit ein magnetisches Moment  $\mu$  aufweisen.

In einem äußeren Magnetfeld  $B_0$  (z-Richtung) richten sich die Kernspins vorzugsweise parallel zum Feld aus. Durch Einstrahlung eines



Energiepulses im Radiowellenbereich können Kernspins in die energetisch ungünstigere Lage antiparallel zum Feld überführt werden. Bei der spontanen Rückkehr in den niedrigeren Energiezustand wird diese Energie wieder abgestrahlt und kann bei der entsprechenden Resonanzfrequenz gemessen werden. Bei der Rückkehr einer makroskopischen Probe in den unmagnetisierten Zustand unterscheidet man zwei Zeitkonstanten. Die Spin-Gitter-Relaxation oder longitudinale Relaxation  $T_1$  beschreibt die Zeit für die Abgabe der Magnetisierungsenergie an die Umgebung. Die hiervon unterscheidbare Relaxationszeit  $T_2$  (Spin-Spin-Relaxation, transversale Relaxation) beschreibt eine zeitlich anwachsende Phaseninkohärenz der einzelnen atomaren Dipole. Ursache hierfür sind Dipol-Störfelder oder Inhomogenitäten des Feld, die dazu führen, dass die Kernspins der makroskopischen Probe eine unterschiedlich schnelle Präzessionsbewegung ausführen. Ihre Transversalkomponenten können sich daher bereits vor dem Magnetisierungsabbau mit  $T_1$  vektoriell kompensieren ( $T_2 \leq T_1$ ).

Die genaue Lage der Resonanzfrequenz ist vom Feld in unmittelbarer Nähe eines Atomkerns abhängig. Da die Elektronenhülle eines Atoms das äußere Magnetfeld zum Teil abschirmt, wird die Resonanzfrequenz empfindlich von der Bindungsstruktur des Atoms und von seiner chemischen Umgebung beeinflusst. Stark elektronegative Bindungspartner, die Elektronendichte aus der Atomhülle abziehen, führen z.B. zu einer verringerten Abschirmung (einer stärkerer "Entschirmung") des Kerns. Dieser Effekt wird als chemische Verschiebung bezeichnet und in ppm der Resonanzfrequenz angegeben. In einem Molekül benachbarte Kerne beeinflussen sich über das von ihrem Kernspin verursachte Magnetfeld. Aus solchen Kopplungseffekten zwischen gleichen und unterschiedlichen Kernarten in der lo-

---

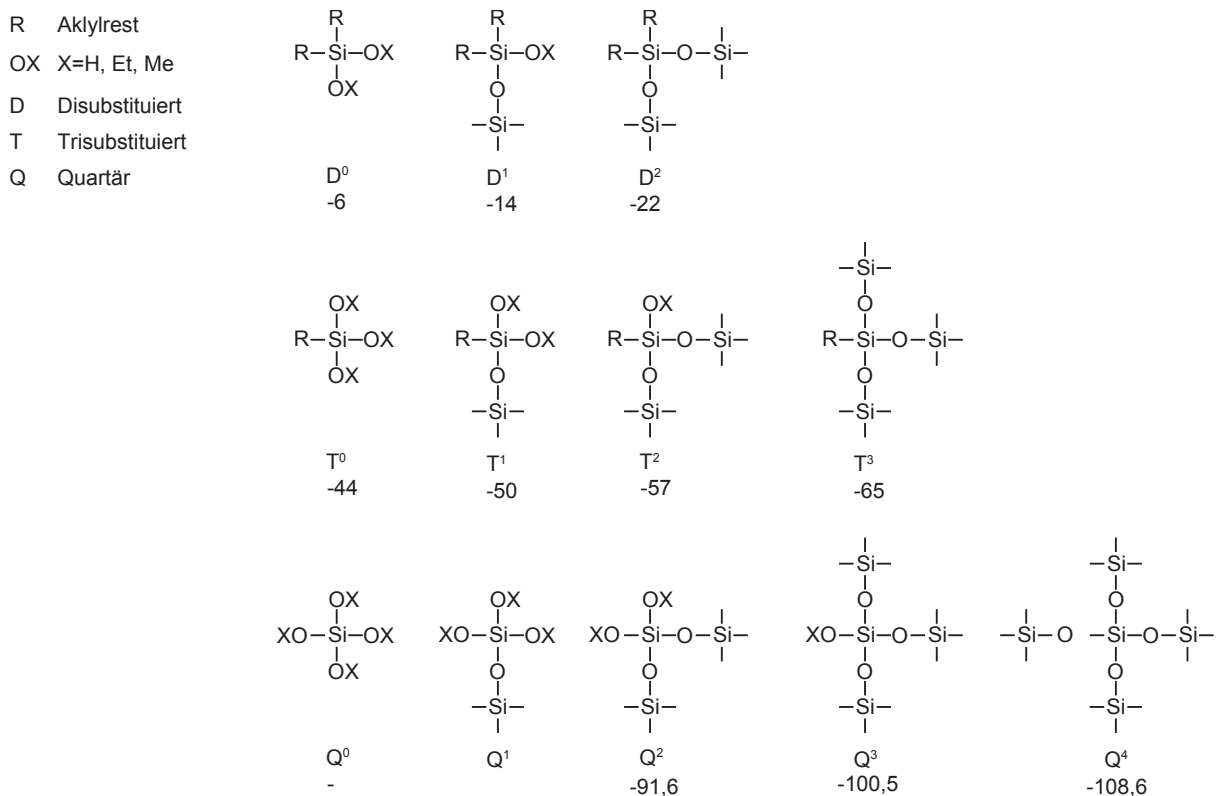
kalen Umgebung lässt sich wertvolle Information über den Molekülbau gewinnen.

Wegen der schnellen Bewegung mitteln sich Einflüsse von Magnetfeldern aus Nachbarmolekülen in Flüssigkeiten auf der Zeitskala der NMR-Messungen weitgehend heraus, d.h. die Resonanzen sind für alle Raumlagen der Moleküle nahezu gleich, es entstehen scharfe Resonanzsignale. Im Gegensatz hierzu treten in Festkörpern ohne besondere Maßnahmen sehr breite Resonanzbanden auf, die wenig Information liefern. Auch die Relaxationszeit  $T_1$  ist bei Festkörpern gegenüber Flüssigkeiten stark verlängert, was lange Wartezeiten zwischen zwei Messungen erzwingt.

Durch die Einführung spezieller Techniken und Pulsfolgen wie z.B. Magic Angle Spinning (MAS) [46], Kreuzpolarisation (Cross Polarization, CP) [47] oder Hochleistungsentkopplung ist es heute möglich, auch von Proben im festen Zustand hochaufgelöste NMR-Spektren zu erhalten. Dies hat der Methode weitere Anwendungsbereiche in der Materialwissenschaft und der Festkörperanalytik zugänglich gemacht.

$^{29}\text{Si}$ -CP/MAS-NMR eignet sich sehr gut zur Reaktionskontrolle bei der Anbindung von Alkylsilanen bzw. Spacer-Gruppen an Kieselgeloberflächen, da unterschiedlich gebundene  $^{29}\text{Si}$ -Atome eine verschiedene chemische Verschiebung zeigen [48–52].

---

**Abbildung 16: Silicatspezies und chemische Verschiebungen**

Typische chemische Verschiebungen von Siliciumatomen in unterschiedlichen chemischen Umgebungen in ppm.

Kieselgele besitzen im Inneren (Bulk) mehr oder weniger tetraedrisch verknüpfte Si-Atome mit je vier benachbarten Sauerstoffatomen. An der Materialoberfläche hingegen finden sich Siliciumatome mit geminalen (Q<sup>2</sup>) und vicinalen (Q<sup>3</sup>) Silanolgruppen.

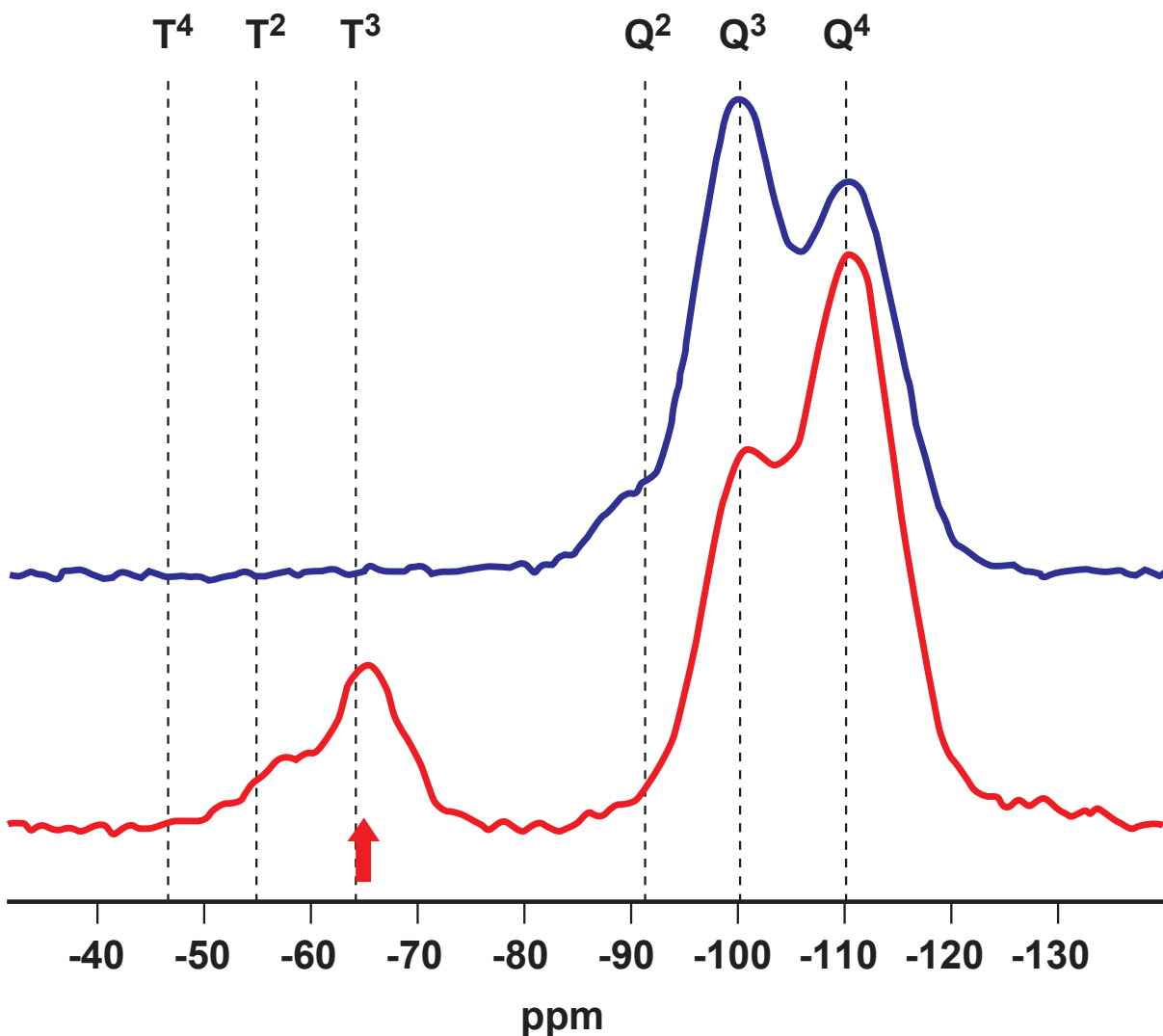
Die CP/MAS-Spektroskopie erlaubt prinzipbedingt keine Quantifizierung von Q- gegenüber T-Gruppen, da sie auf der zwischen Wasserstoffkernen und Siliciumkernen übertragenen Magnetisierung (Kreuzpolarisation) basiert.

Da aber alle T-Gruppen ein ähnliches Kreuzpolarisationsverhalten aufweisen, sind Verhältnisse von T-Gruppen untereinander aussagekräftig.

Ist der Anteil der entstehenden T<sup>1</sup>-, T<sup>2</sup>-, und T<sup>3</sup>-Gruppen (in %) bekannt, so lässt sich daraus bei di- und trifunktionellen Silanen der Quervernetzungsgrad V [%] errechnen:

$$V = \frac{1}{3} T^1 + \frac{2}{3} T^2 + T^3$$

**Abbildung 17:** <sup>29</sup>Si-CP/MAS NMR-Spektren



Die Anbindung von Silanen oder Spacern kann durch NMR mittels <sup>29</sup>Si CP/MAS-Spektren kontrolliert werden (oben: reines Kieselgel, unten: das Auftreten von T-Gruppen, hier im am Beispiel von APS, bestätigt eine erfolgreiche Anbindung an die Kieselgeloberfläche).

## 5.4 Ellipsometrie

Die Ellipsometrie[53] ist ein zerstörungsfreies optisches Messverfahren der Materialforschung und der Oberflächenphysik. Mit dieser Methode lassen sich die Schichtdicken extrem dünner molekularer Oberflächenschichtsysteme bestimmen. Sie beruht auf der Bestimmung der Änderung des Polarisationszustandes eingestrahlten elliptisch polarisierten Laserlichts.

Die Messung erfolgt durch Vergleich mit einem mathematischen Modell des Schichtsystems im Computer, das die Abhängigkeit der komplexen Reflexionskoeffizienten von den Parametern der Probe (Brechungsindex, Schichtdicke), dem Einfallswinkel und der Wellenlänge berücksichtigt. Hierfür müssen die ungefähren Brechungsindizes der beteiligten Substanzen bekannt sein. Die Empfindlichkeit des Verfahrens liegt lt. Herstellerangaben bei ca.  $1 \text{ \AA}$ , allerdings gibt es kein standardisiertes Verfahren zur Fehlerabschätzung.

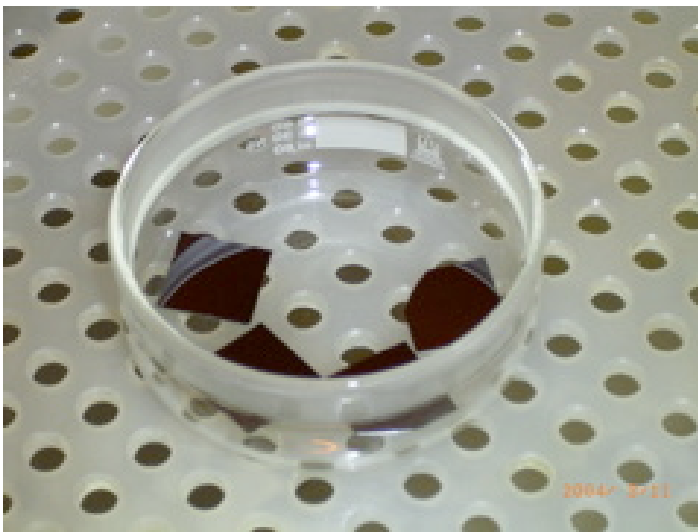
Da die Messung nur an glatten Oberflächen möglich sind, war es notwendig, nicht an der realen Trennphase zu messen, sondern ein ähnliches Modellsystem einzusetzen. Hierfür dienen Siliciumwafer, die mit ihrer natürlichen  $\text{SiO}_2$ -Oberflächenschicht die selbe Oberflächenchemie für die Anbindung erlauben, die auch zur Synthese der stationären Phasen Verwendung findet.

Zu beachten ist, dass Ellipsometer Durchschnittswerte der Schichtdicke über relativ große Bereiche des Substrats (hier  $1 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ ) ermitteln. Nur bei einem Monolayer mit einer Packungsdichte von ca.  $8 \mu\text{Mol/m}^2$  kann davon ausgegangen werden, dass die gemessene Dicke der Phasendicke und damit etwa der Konturlänge der Liganden entspricht. Bei weniger dichten Belegungen, wie sie für monomere

---

und lösungspolymerisierte Phasen typisch sind, ist ein entsprechend verringertes Messergebnis zu erwarten. Auch eventuelle Feinstrukturen auf der Oberfläche wie Inseln verstärkter *trans*- bzw. *gauche*-Konformationen würden ausgemittelt. Schließlich ist auch zu erwarten, dass bei sehr heterogenen Kettenlängen (z.B. bei Poly(ethyle-co-acrylsäure)) ein Mittelwert gemessen wird.

**Abbildung 18:** Wafer als Modell-Trägermaterial



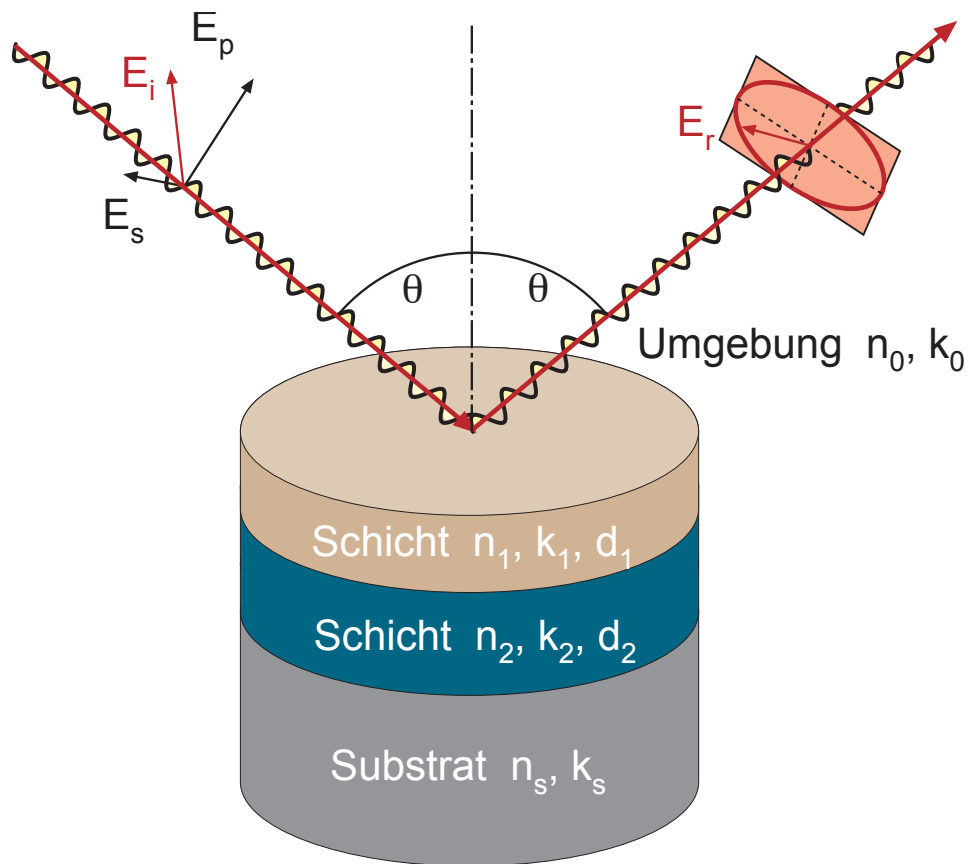
Vorbereitung der Waferstücke für die ellipsometrischen Messungen

**Abbildung 19:** Ellipsometer



Messung der Schichtdicke auf den Wafern mittels Ellipsometrie

---

**Abbildung 20:** Messverfahren der Ellipsometrie

Der einfallende Strahl mit dem Feldvektor  $E_i$  besteht aus fast vollständig linear polarisiertem Licht.  $E_i$  kann in die Komponenten  $E_p$  in der Einfallsebene (parallel) und  $E_s$  (senkrecht) zerlegt werden. Die Einfallsebene wird durch den einfallenden und den reflektierten Strahl gebildet. Der Feldvektor  $E_r$  des reflektierten Strahles läuft auf der gezeichneten Ellipse um.

erste Druckseite bei  
Doppelseitendruck

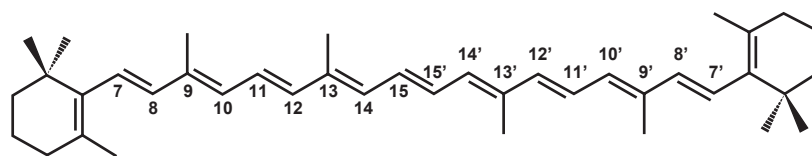


## 6 Ergebnisse

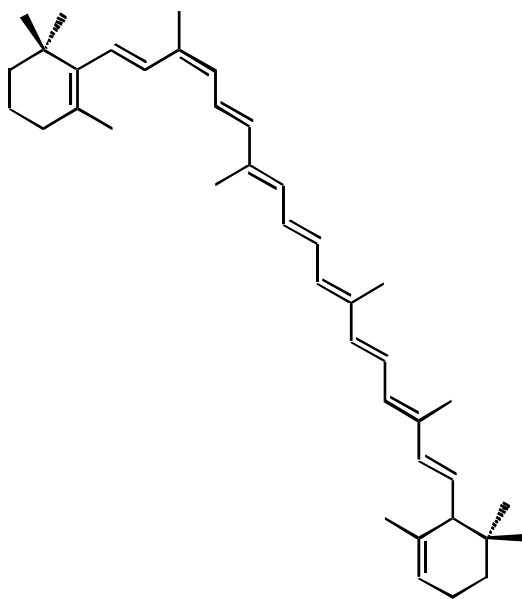
### 6.1 HPLC-Ergebnisse

Die Charakterisierung der neu synthetisierten stationären Phase PEA5 erfolgte durch RP-HPLC-Trennung eines Carotinoid-Gemischs auf der jeweiligen Trennphase [54] im Vergleich zu einer Trennung an einer kommerziell erhältlichen C<sub>18</sub>-Trennphase.

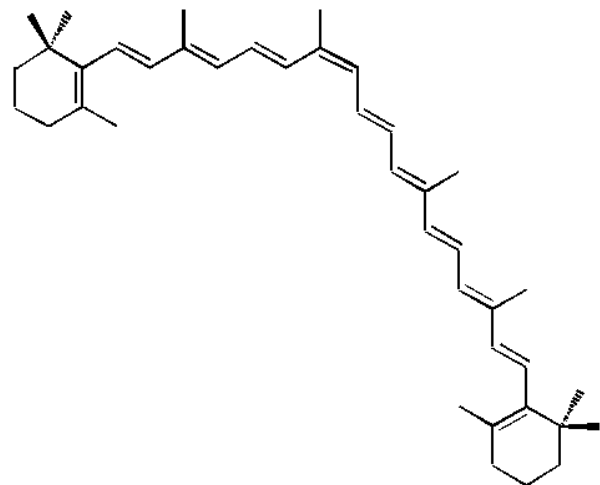
**Abbildung 21: Carotin-Isomere**



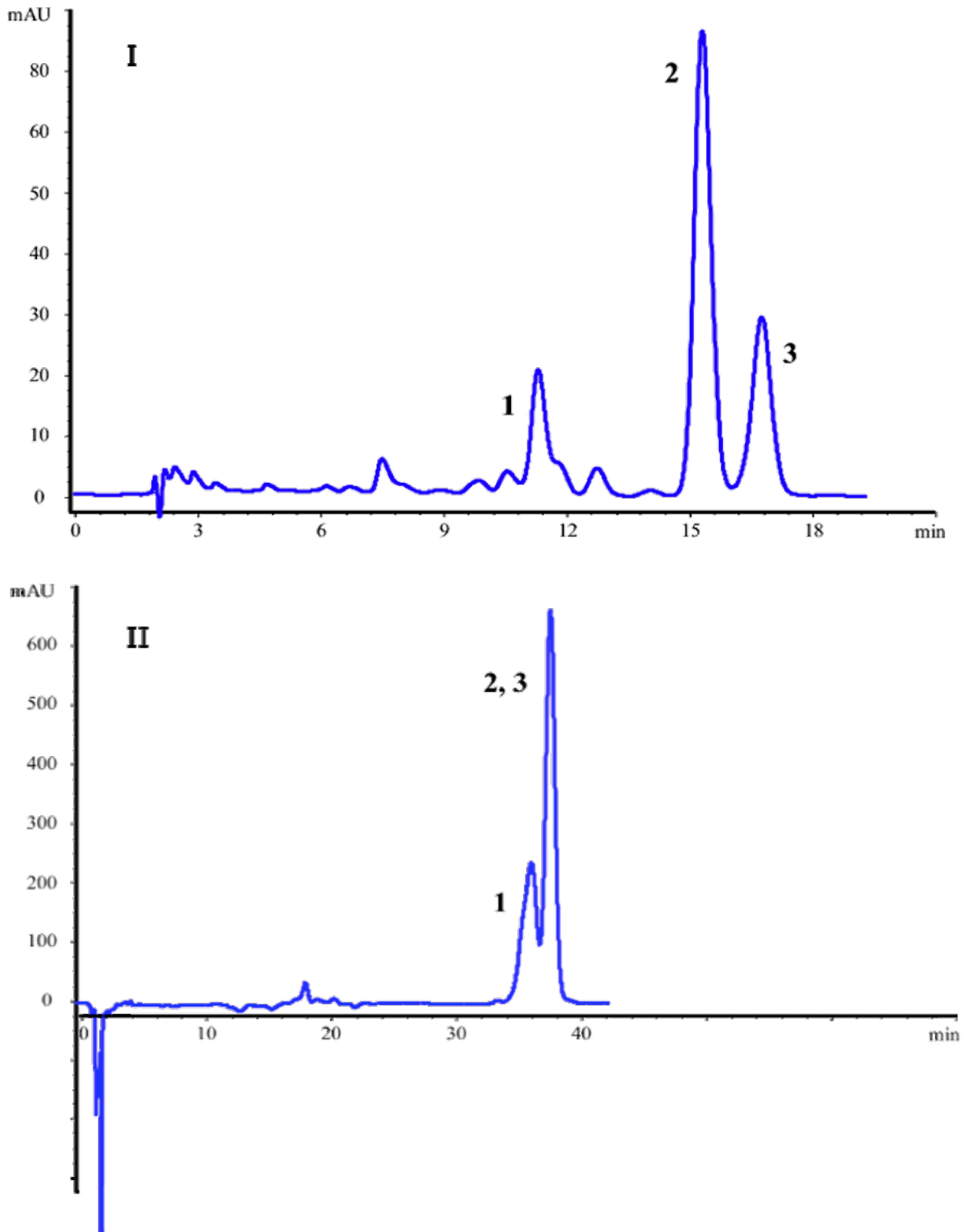
*all-trans*-β-Carotin



*9-cis*-β-Carotin



*13-cis*-β-Carotin

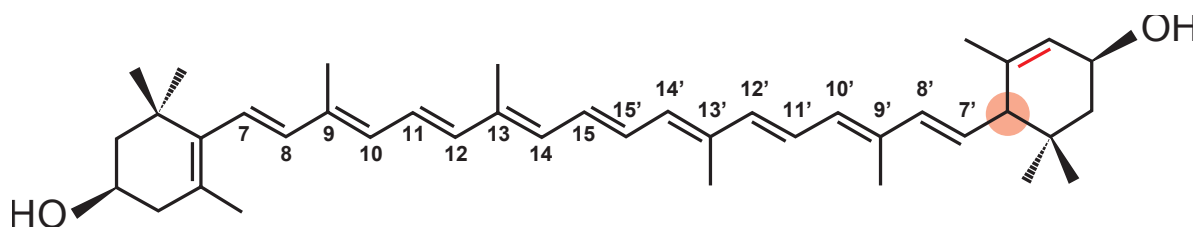
**Abbildung 22: Charakterisierung durch RP-HPLC von Carotin-Isomeren**

Chromatogramme von 13-*cis*-(1), all-*trans*-(2) und 9-*cis*-(3)  $\beta$ -Carotin. Mobile Phase: Methanol/Wasser 97.5/2.5; Stationäre Phase I: PEA5 (Poly(ethylen-*co*-acrylsäure)-Copolymer mit 5 % Massenanteil Acrylsäure), II: C<sub>18</sub> Phase. [55]

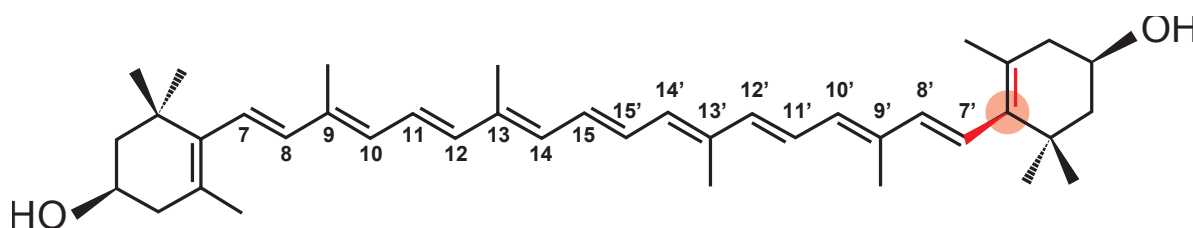
Die chromatographischen Ergebnisse zeigen, dass die Fähigkeit zur Formerkennung starrer Analytmoleküle bei über den Spacer GOPS angebondenen Poly(ethylen-co-acrylsäure)-Phasen weit ausgeprägter ist, als selbst bei den besten C<sub>18</sub>-Phasen, die mit Hilfe von Lösungspolymerisation mit trifunktionellen Alkylsilanen hergestellt wurden.

Dieses Ergebnis bestätigt sich bei der Trennung von Lutein und Zeaxanthin im Vergleich mit einer C<sub>30</sub>-Phase (Abbildung 24).

**Abbildung 23: Carotinoid-Isomere Lutein und Zeaxanthin**

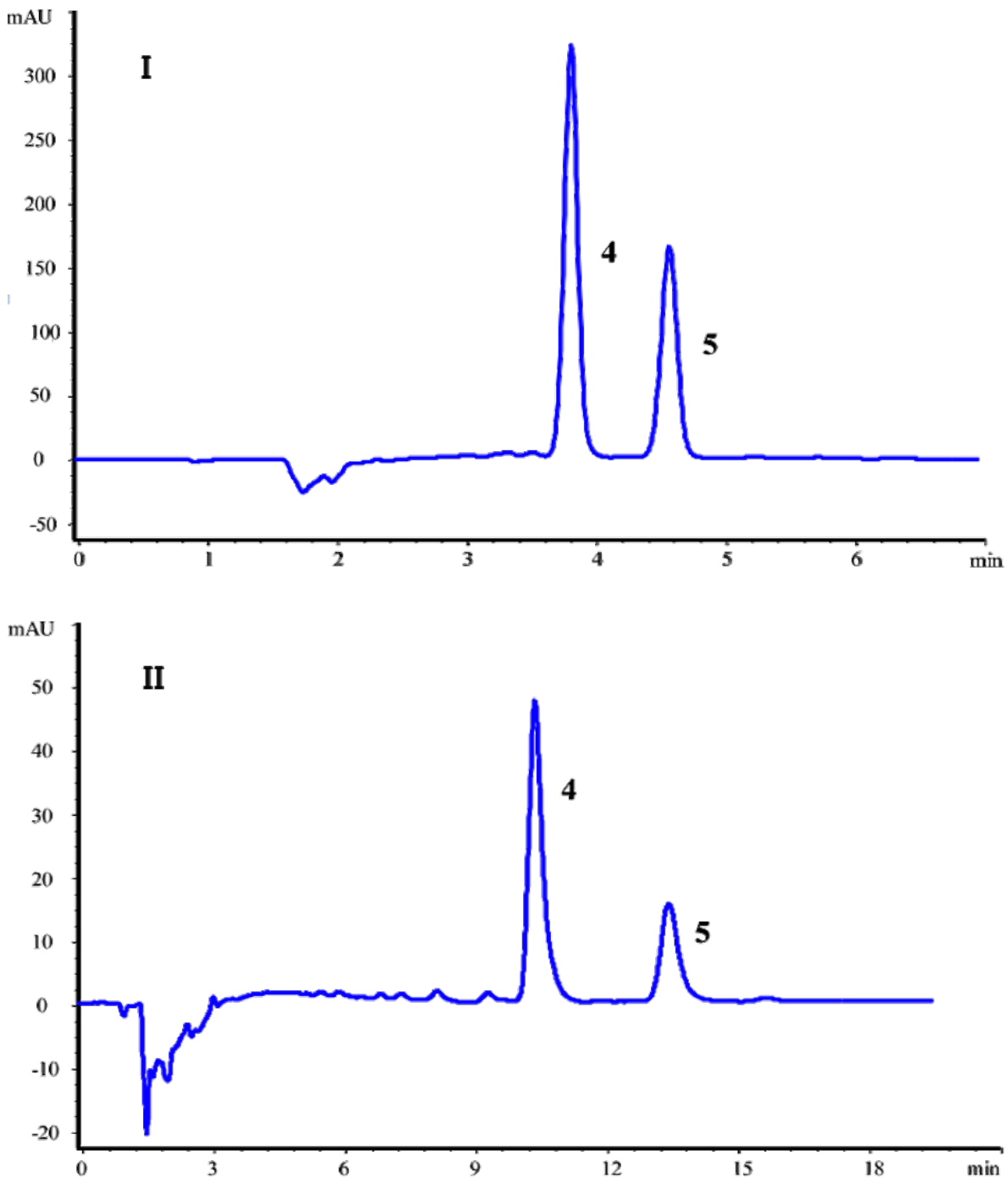


all-trans-Lutein



all-trans-Zeaxanthin

Die all-trans-Isomere der Carotinoide Lutein und Zeaxanthin unterscheiden sich lediglich in der Lage einer Doppelbindung in einem der Ringe und daher in der sterischen Situation am markierten C-Atom.

**Abbildung 24: Vergleich der PEA5- mit einer C<sub>30</sub>-Phase (Lutein/Zeaxanthin)**

Selbst bei höherer Beladung zeigt sich die PEA5-Phase (I) der C<sub>30</sub>-Phase (II) bei der Trennung von all-trans-Lutein (4) und all-trans-Zeaxanthin (5) in der Peakform überlegen. Die Analysenzeit ist mit 5 min gegenüber 15 min deutlich verbessert.

Wie gezeigt werden konnte [54, 55], erreichen die speziell auf bessere Formerkennung zugeschnittenen C<sub>30</sub>-Phasen wohl ähnliche

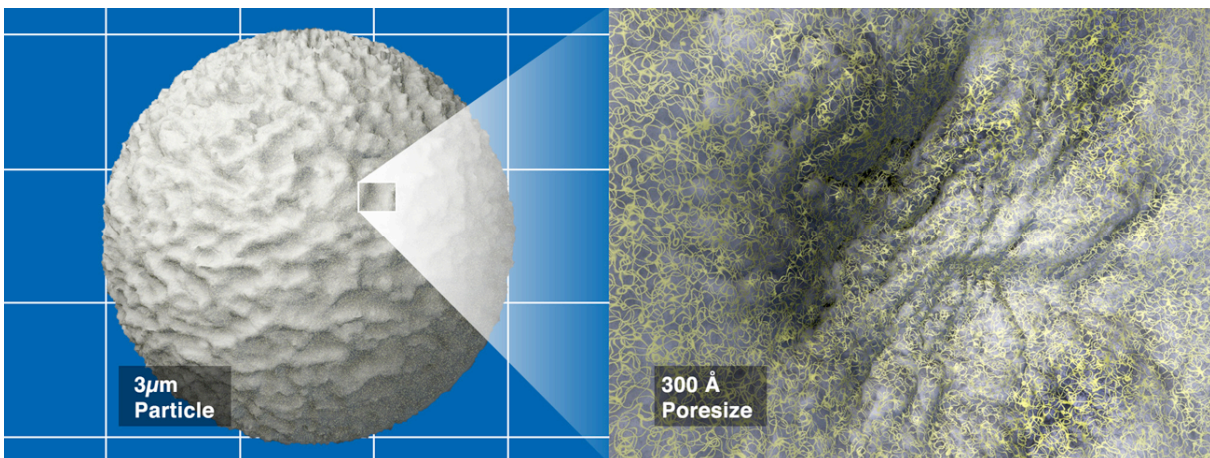
Trennergebnisse, zeigen dabei jedoch eine deutlich schlechtere Peakform (tailing). Tailing kann durch Überladung von Säulen mit zu viel Analytmaterial verursacht werden. Die neue Phase bietet also gegenüber C<sub>30</sub>-Phasen eine überlegene Beladbarkeit. Dies ist insbesondere für HPLC-NMR-Kopplungsmethoden von Bedeutung, denn für NMR-Untersuchungen werden möglichst hohe Konzentrationen der Analyten im Probenkopf benötigt. Insbesondere in kommerziellen Anwendungen ist auch die Geschwindigkeit einer Analyse von großer Bedeutung. Hier zeigt sich PEA5 einer C<sub>30</sub>-Phase um den Faktor drei überlegen (Abbildung 24).

## 6.2 Struktur und Trennprozess

Um einem Verständnis des Trennprozesses auf der Basis von Strukturparametern näher zu kommen, wurden Molecular-Modeling-Berechnungen und Visualisierungen mehrerer Komponenten des RP-HPLC-Systems vom Trägermaterial bis hin zu mehreren stationären Phasen durchgeführt.

Das Trägermaterial dient der mechanischen Fixierung der stationären Phase an seiner Oberfläche. Am häufigsten werden sphärische Partikel enger Größenverteilungen mit Durchmessern von 3 – 10 µm verwendet, auch monolithische poröse Materialien sind im Einsatz. Es sollte idealerweise kaum eine direkte Rolle bei den für die Trennung wichtigen Wechselwirkungen mit den Analytmolekülen spielen. Obwohl als Trägermaterial wegen ihrer besseren pH-Stabilität im alkalischen Bereich auch vereinzelt Zirkondioxid und Titandioxid zur Anwendung kommen, ist ganz überwiegend Siliciumdioxid in Form von amorphem Kieselgel im Einsatz. Über mehrere Mechanismen greift das Trägermaterial in der Realität allerdings sehr wohl in den Trennmechanismus ein.

---

**Abbildung 25: natives Kieselgel****Abbildung 26: Immobilisierte Moleküle an Kieselgel Prontosil 3 µm**

Visualisierung eines porösen spärlichen Kieselgelpartikels mit immobilisierter stationärer Phase (Partikelgröße 3µm, Porenweite 300 Å)

Zum einen können nicht abreagierte freie Silanolgruppen die Trennung durch ungewollte basische polare Wechselwirkungen beeinflussen und die Ursache für eine schlechte Peakform (tailing) darstellen. Man versucht, diesem Problem durch so genanntes End-Capping beizukommen (einer nach dem Aufbringen der Phase erfolgenden Umsetzung mit Trimethylchlorsilan). Da Trimethylchlorsilan-Moleküle deutlich kleiner sind als die für stationäre Phasen verwendeten längerkettigen Alkylsilane, ist die sterische Hinderung geringer und es werden werden mehr Silanolgruppen umgesetzt.

Zum anderen aber kann das Kieselgel auch über Umwege Einfluss auf die Trennung nehmen.

So spielt etwa die Größenverteilung und die Oberflächenform der Partikel sowie die Porenstruktur eine Rolle. Diese Parameter werden hier jedoch nicht weiter betrachtet.

Bezüglich der beobachteten Formerkennungseffekte (shape selectivity) einiger Alkyl- und PEA-Phasen ist die dynamische räumliche Struktur der Liganden der wichtigste Einflussfaktor. Diese kann von der Struktur des zugrunde liegenden Trägermaterials mit beeinflusst werden.

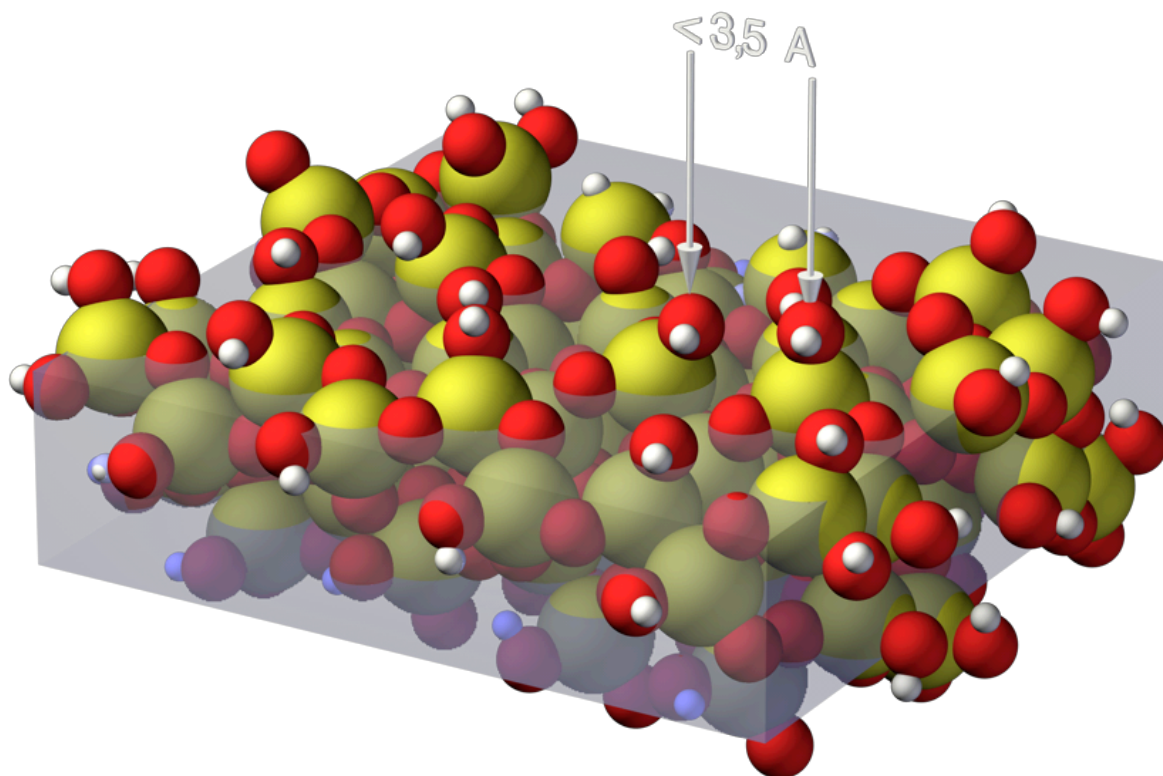
Für die Morphologie der aufgetragenen Alkylketten ganz entscheidend ist die Dichte und Verteilung möglicher Anknüpfungsstellen, also der Silanol- und Silandiolgruppen, die an der Oberfläche des Kieselgels auftreten. In der Literatur werden für die Dichte der Silanolgruppen Werte von 7 – 9  $\mu\text{Mol}/\text{m}^2$  (4,8-5,4 OH-Si-Gruppen/ $\text{nm}^2$ ) angenommen[56]. Oft werden für das Molecular Modeling ähnliche kristalline Modellsysteme wie Cristobalit oder Tridymit als Basisstruktur verwendet. Dabei ist jedoch nicht auszuschließen, dass sich unterschiedliche Distanzen der Anbindungsstellen auf die Details der Konformation in der stationären Phase auswirken können.

Für Monomerphasen stellt die theoretische Dichte der Silanolgruppen auf der Kieselgeloberfläche eine Obergrenze der Beladung dar, die jedoch in der Praxis nicht erreicht wird. Durch sterische Hinderung (umbrella effect) werden nur ca. 25-50% der Silanolgruppen umgesetzt, die Beladung beträgt typischerweise 2,5–3,5  $\mu\text{Mol}/\text{m}^2$  (1,5–2,5 Ketten/ $\text{nm}^2$ )

---

**Tabelle 8: Dichte von Silanolgruppen an Kieselgel**

Material	Silanoldichte [ $\mu\text{Mol}/\text{m}^2$ ]	[OH-Si-Gruppen/ $\text{nm}^2$ ]
Quarz (101) [57]	9,8	5,9
Kieselgel (amorph)	$8 \pm 1$	4,8 - 5,4

**Abbildung 27: Amorphes Kieselgel**

Der Block von Kieselgel wurde ausgehend von einer Cristobalitstruktur in HyperChem geometrieoptimiert (MM+-Kraftfeld, Optimierung nach Polak-Ribière). Es stellt ein gutes Modell für amorphes Kieselgel dar, in dem die möglichen Bindungsstellen signifikant dichter liegen, als in kristallinen Cristoballit- oder Tridymitstrukturen. Der eingezeichnete gläserne Bereich umfasst  $20 \times 20 \times 5 \text{ nm}$ . Auszählen der möglichen Bindungsstellen auf der Oberfläche ergibt ca. 4-5 Bindungsstellen auf einer Fläche von  $10 \times 10 \text{ nm}^2$ .



### 6.3 Oberflächenmorphologie

Trotz aller Fortschritte in der Anwendung von HPLC sowie in den Untersuchungsmethoden [58] ist auch heute noch kein detailliertes Verständnis der bei einer chromatographischen Trennung stattfindenden Interaktionen in der stationären Phase erreicht. Insbesondere für die erstaunliche Formerkennung starrer Analytmoleküle wie  $\beta$ -Carotinen an Selektoren mit langen Alkylketten existieren nur halbquantitative Modelle [59].

Nutzbare Informationen über molekulare Details wie Beweglichkeit, Verteilung und Anordnung der Ketten liegen aus so unterschiedlichen Verfahren wie HPLC [60, 61], Elektronenmikroskopie [62], Atomkraftmikroskopie [63], Ellipsometrie [64], Infrarot-Spektroskopie [65], transfer-NOESY [66], 2D-WISE-Experiment[67] und NMR-Spindiffusionsexperimenten [68] vor (siehe auch 69–77]). Bei der Erstellung der entsprechenden Grafiken [54, 55, 64] werden diese Informationen zu konsistenten Modellen zusammengefasst, gegen die neuere Befunde getestet werden können. Entscheidend für das Verständnis des Trennmechanismus der stationären Phasen ist die Kenntnis der Anzahl und Verteilung von *trans*- und *gauche*-Bindungen entlang der Alkylketten. Hierzu können neben den erwähnten analytischen Methoden auch theoretische Überlegungen herangezogen werden.

#### 6.3.1 Statistische Konformationsanalyse

Um die Einflüsse von Thermodynamik und anderer Parameter auf die Konformationen abschätzen zu können, ist es instruktiv, zunächst von einer eher trivialen rein statistischen Überlegung auszugehen. Betrachtet man die Wahrscheinlichkeit, dass sich bei z.B. einer C<sub>18</sub>-

---

Kette Strukturen mit *n-gauche*-Bindungen einstellen, so kommt man zu folgenden Werten:

**Tabelle 9: Konformationen an einer C<sub>18</sub>-Kette**

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	2															
1	4	4														
1	6	12	8													
1	8	24	32	16												
1	10	40	80	80	32											
1	12	60	160	240	192	64										
1	14	84	280	560	672	448	128									
1	16	112	448	1120	1792	1792	1024	256								
1	18	144	672	2016	4032	5376	4608	2304	512							
1	20	180	960	3360	8064	13440	15360	11520	5120	1024						
1	22	220	1320	5280	14784	29568	42240	42240	28160	11264	2048					
1	24	264	1760	7920	25344	59136	101376	126720	112640	67584	24576	4096				
1	26	312	2288	11440	41184	109824	219648	329472	366080	292864	159744	53248	8192			
1	28	364	2912	16016	64064	192192	439296	768768	1025024	1025024	745472	372736	114688	16384		
1	30	420	3640	21840	96096	320320	823680	1647360	2562560	3075072	2795520	1863680	860160	245760	32768	
1	32	480	4480	29120	139776	512512	1464320	3294720	5857280	8200192	8945664	7454720	4587520	1966080	524288	65536
<b>0,00</b> %	<b>0,00</b> %	<b>0,00</b> %	<b>0,01</b> %	<b>0,07</b> %	<b>0,33</b> %	<b>1,19</b> %	<b>3,40</b> %	<b>7,65</b> %	<b>13,61</b> %	<b>19,05</b> %	<b>20,78</b> %	<b>17,32</b> %	<b>10,66</b> %	<b>4,57</b> %	<b>1,22</b> %	<b>0,15</b> %

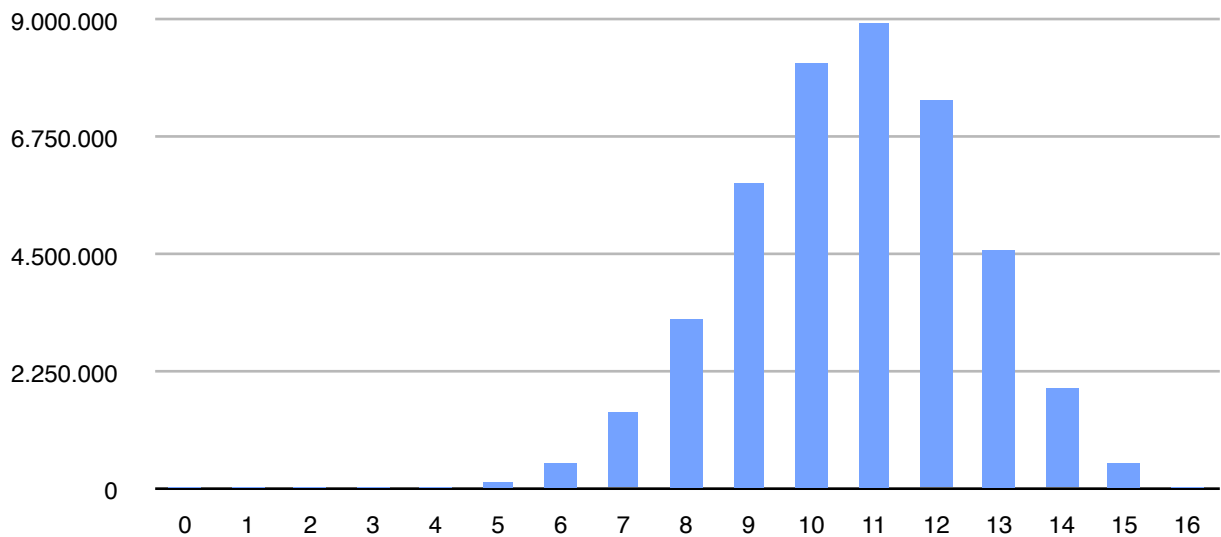
	B	C	D	E	F
1	0	1	2	3	
2	1	2			
3	1	4	4		
4	1	6	12	8	
5	1	8	$=2 \cdot C4 + D4$		
6	1	10	40	80	
7	1	12	60	160	
8	1				

Ausgehend von der Tatsache, dass an jeder C-C-Bindung eine *trans*- und zwei *gauche*-Konformationen vorliegen können, wurden alle Möglichkeiten der Anordnung der 0-16 *gauche*-Bindungen eines gebundenen C<sub>18</sub>-n-Alkans berechnet. Daraus ergeben sich die Häufigkeiten, mit denen Ketten mit k *gauche*-Bindungen vorkommen. Die Einblendung unten zeigt die verwendete Rechenmethode.

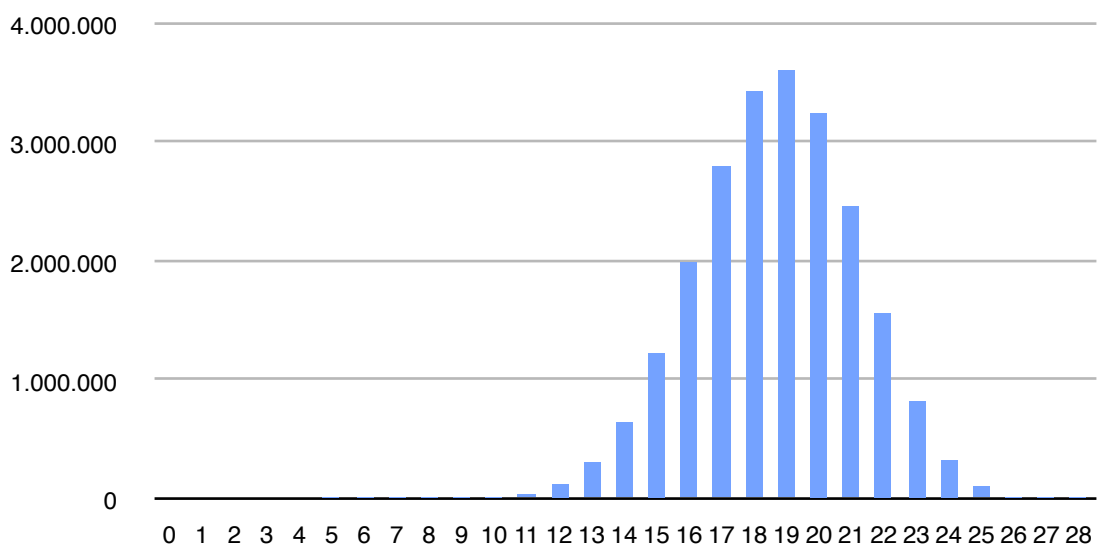
Trägt man die Werte als Histogramm auf, so gewinnt man eine Vorstellung von der Verteilung der Häufigkeiten, in der Alkylgruppen mit k *gauche*-Bindungen bei der Kettenlänge n unter Annahme energetischer Gleichwertigkeit vorkommen würden.

**Abbildung 28: Statistik an C<sub>18</sub>- und C<sub>30</sub>-Phasen**Statistische Konformationen einer C<sub>18</sub>-Kette (n = 18)

[gauche-Bindungen]

Statistische Konformationen einer C<sub>30</sub>-Kette (n = 30)

[Millionen gauche-Bindungen]



Die Diagramme zeigen die rein statistisch zu erwartenden Anzahl von *gauche*-Bindungen an einer C<sub>18</sub>- bzw. C<sub>30</sub> Phase bei Fixierung eines Endes und der Annahme freier Drehbarkeit der C-C-Bindungen.

Die Annahme freier Drehbarkeit ist eine grobe Vereinfachung, sie berücksichtigt nicht die des Energieunterschiede zwischen den Konformeren. Einzelne C-C-Bindungen (z.B. zwischen den C-Atomen 2 und 3 in Butan) zeigen ca.  $10^{11}$  Übergänge pro Sekunde und sind damit auf einer Nanosekunden-Zeitskala fast frei drehbar. Dies ist allerdings nur eingeschränkt auf längere Ketten und die Situation an der RP-HPLC Interphase übertragbar, da hier mit sterischen Hinderungen durch die Trägheit der fernerer Kettenglieder, der Nachbar Ketten und durch Lösungsmittelmoleküle zu rechnen ist.

### **6.3.2 Thermodynamische Konformationsanalyse**

Da die rein statistische Analyse keine Energieunterschiede zwischen den Konformationen berücksichtigt, ist die Betrachtung der Thermodynamik mittels Boltzmann-Verteilung[78] für das vorliegende Interphasensystem interessanter. Berücksichtigt man den Energieunterschied zwischen der *trans*-Konformation und der *gauche*-Konformation an einer C-C-Bindung im Alkan mit ca. 3,8 kJ/Mol (bei der mittleren Bindung von n-Butan), so kommt man zu der in Abbildung 29 gezeigten Temperaturabhängigkeit der Anzahl der *gauche*-Bindungen, die eine Kette ausbildet. Bei tiefen Temperaturen liegen vorwiegend *trans*-Konformationen vor, was mit der chromatographisch beobachteten besseren Formerkennung für starre Analytmoleküle der Phasen bei niedrigeren Temperaturen [79] übereinstimmt. Das Verhalten gegen unendlich hohe Temperaturen konvergiert zur rein statistischen Verteilung, wie sie in Abbildung 30 dargestellt ist.

Zur Ermittlung der Werte wurden die in Tabelle 9 ermittelten Anzahlen der Zustände mit  $j$  *gauche*-Bindungen (die Entartung der Zustände) und die Energie jedes Zustand berücksichtigt, die sich aus

---

der *trans-gauche*-Energiedifferenz und der Anzahl der *gauche*-Bindungen des Zustands ergibt.

Nach dem BOLTZMANNschen Verteilungsgesetz gilt für die Wahrscheinlichkeit eines Zustands:

$$\frac{N_j}{N} = \frac{e^{-\varepsilon_j/kT}}{\sum e^{-\varepsilon_j/kT}}$$

$N_j$  Anzahl der Ketten im jeweiligen Zustand mit  $j$  *gauche*-Bindungen

$N$  Gesamtanzahl der Kettenzustände

$T =$  Absolute Temperatur [K]

$k =$  BOLTZMANNsche Konstante =  $1,38 \cdot 10^{23}$  [J/K]

$\varepsilon_j =$  Energie des Faltungszustands mit  $j$  *gauche*-Bindungen

**Tabelle 10: Eingabeparameter für die Konformationsanalyse**

$N_A$	6,023E+23	
$k$	1,3805E-23	J/K
$T$	<b>400</b>	K
$\partial E$	<b>3800</b>	J/Mol
$E/kT$	6,8814E+23	
$N1/N0$	0,31901582	
Anz.Zustände	43046721	

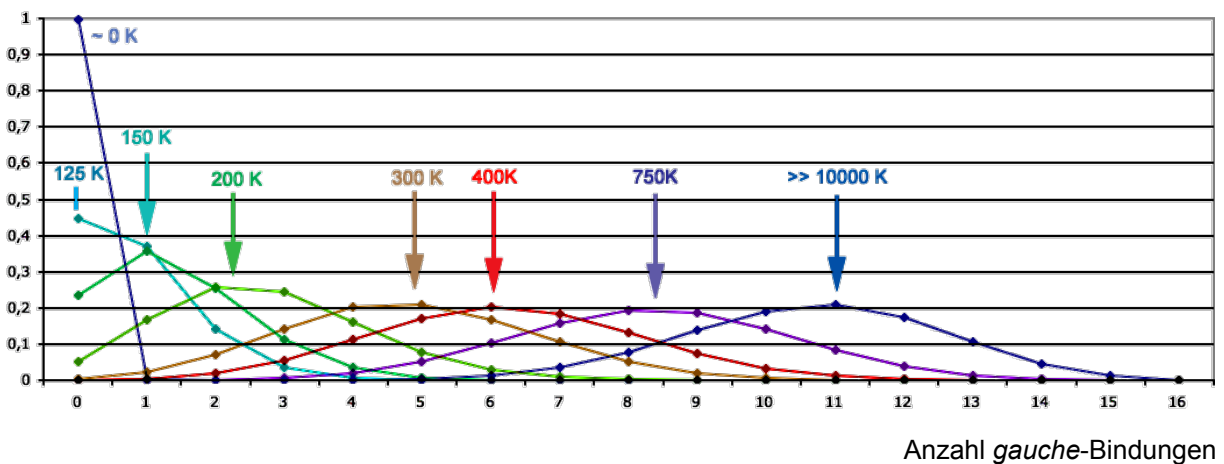
Die Temperatur wurden von nahe dem Temperaturnullpunkt bis zu extrem hohen Temperaturen variiert und ergeben die Kurven in Abbildung 29.

**Tabelle 11: Exemplarische Konformationsanalyse für 400 K**

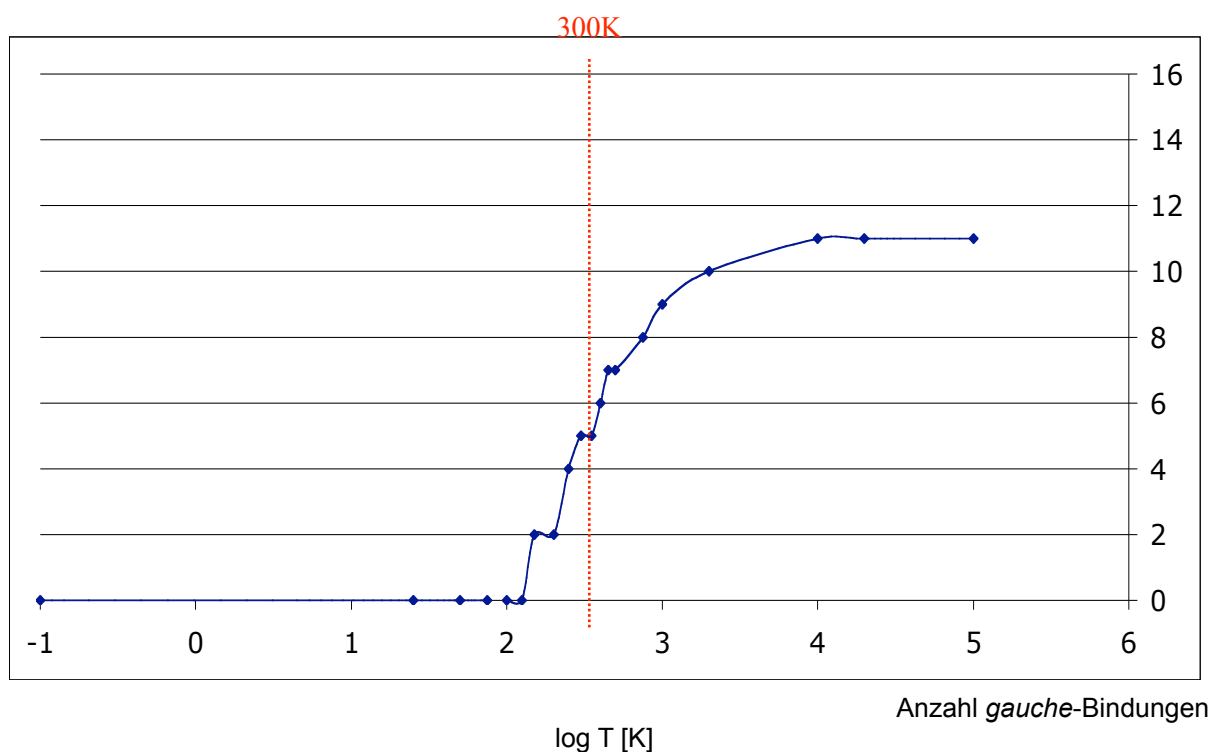
Zustand (gauche)	Entartung g(E)	Energie (J/Mol)	Zähler	$N_j/N$ $W(E)$	$W(E) \cdot \text{Energie}$	Zustands- wahrschein- lichkeit	Entropie/Mo- lekül
0	1	0	1	0,00037226	0	2,3231E-08	-5,637E-30
1	32	3800	10,2085064	0,00380019	14,4407312	7,4338E-07	-1,448E-28
2	480	7600	48,8501262	0,01818482	138,204653	1,1151E-05	-1,756E-27
3	4480	11400	145,450324	0,05414496	617,252598	0,00010407	-1,318E-26
4	29120	15200	301,606207	0,11227515	1706,58234	0,00067647	-6,816E-26
5	139776	19000	461,842334	0,17192424	3266,56062	0,00324708	-2,569E-25
6	512512	22800	540,22838	0,20110403	4585,17193	0,01190595	-7,283E-25
7	1464320	26600	492,404006	0,18330105	4875,80801	0,03401699	-1,588E-24
8	3294720	30400	353,440507	0,13157086	3999,75406	0,07653823	-2,716E-24
9	5857280	34200	200,449982	0,074619	2551,96968	0,13606797	-3,747E-24
10	8200192	38000	89,5254027	0,0333265	1266,40688	0,19049516	-4,361E-24
11	8945664	41800	31,1563856	0,0115982	484,804603	0,2078129	-4,507E-24
12	7454720	45600	8,2828167	0,00308334	140,600309	0,17317742	-4,192E-24
13	4587520	49400	1,62606129	0,00060531	29,9024823	0,10657072	-3,294E-24
14	1966080	53200	0,22231684	8,2759E-05	4,40278387	0,04567317	-1,946E-24
15	524288	57000	0,01891269	7,0404E-06	0,40130221	0,01217951	-7,412E-25
16	65536	60800	0,00075418	2,8075E-07	0,01706957	0,00152244	-1,364E-25
Zustandssumme			2686,31302	U	1393,0753	pro Mol	

**Abbildung 29: Wahrscheinlichkeiten der Molekülkonformationen**

Wahrscheinlichkeit



Die Wahrscheinlichkeit, eine Alkylkette in einem Molekülzustand mit  $j$  gauche-Bindungen anzutreffen, ist für mehrere Temperaturen aufgetragen.

**Abbildung 30: Temperaturabhängigkeit der Anzahl *gauche*-Bindungen**

Thermodynamische Wahrscheinlichkeit für eine bestimmte Anzahl von *gauche*-Bindungen einer C<sub>18</sub>-Alkylkette in Abhängigkeit von der absoluten Temperatur. Bei Raumtemperatur (ca. 300 K) kann man etwa 5 *gauche*-Knicke erwarten.

Die so ermittelten wahrscheinlichsten Werte für die Anzahl von *gauche*-Knicken wurden im folgenden in einer Simulation verifiziert.

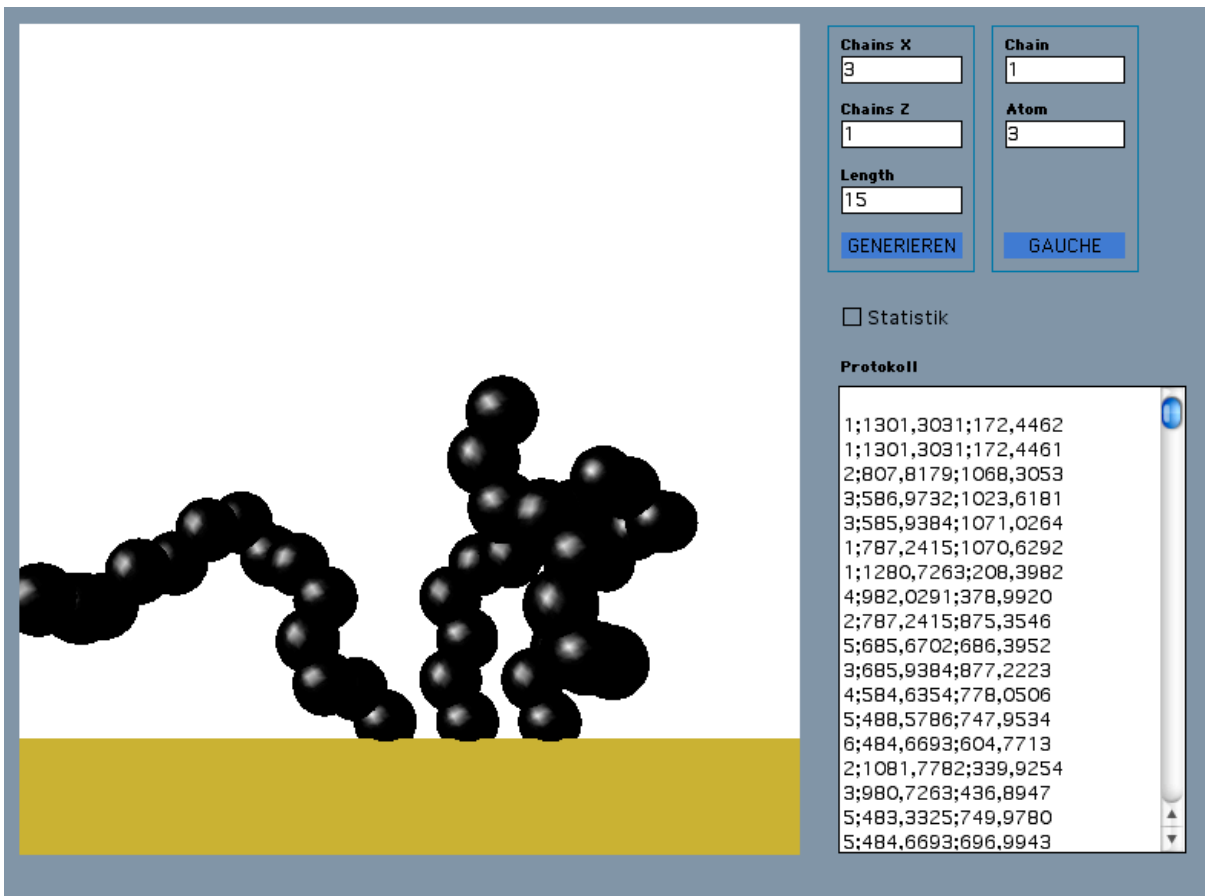
### 6.3.3 Simulation der Alkylkettenkonformation

Das in der Programmiersprache Lingo realisierte Programm Trans-Gauche vermittelt einen vereinfachten Eindruck von der Bewegung der Alkylketten. Die Ergebnisse der statistischen Auswertung zeigen gute Übereinstimmung mit den oben ermittelten *gauche*-Anteilen.

Berechnet wurde nur die Position der C-Atome der Alkylketten. Übergänge zwischen *trans*- und *gauche*-Konformationen wurden vom Programm nur durchgeführt, wenn dadurch keine Überschnei-

dung durch ein anderes Atom oder des als Einheit simulierten Substrats erfolgte.

**Abbildung 31: Trans-Gauche-Simulation von Alkylketten**



Das in der Programmiersprache Lingo (Macromedia Director) realisierte Programm Trans-Gauche vermittelt einen vereinfachten Eindruck von der Bewegung der Alkylketten. Die Ergebnisse zeigen gute Übereinstimmung mit den statistischen und thermodynamischen Berechnungen

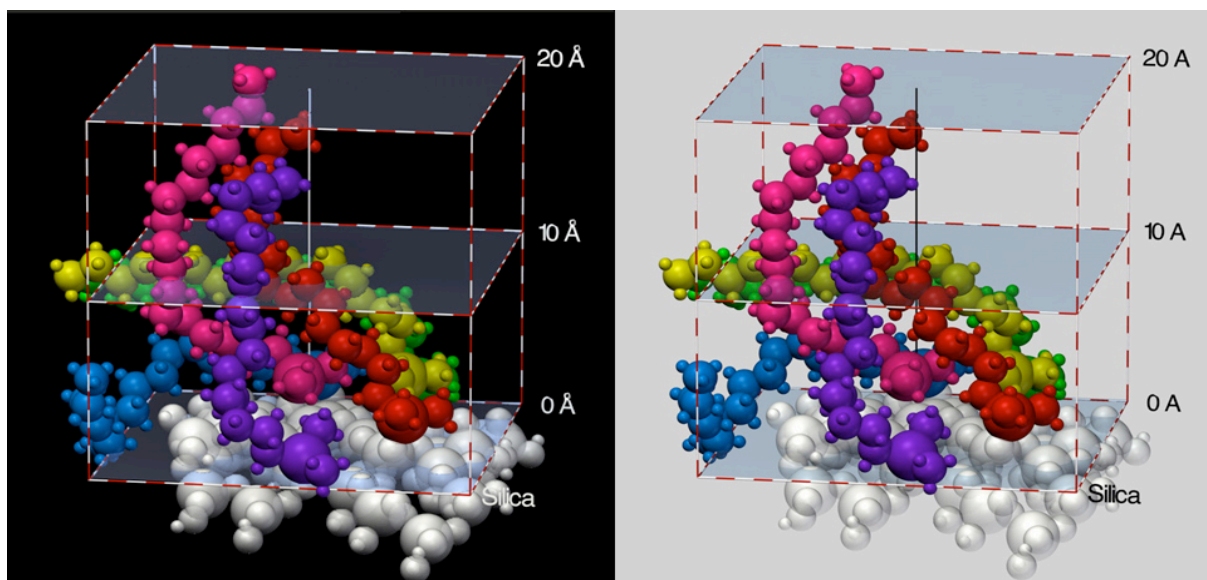
Neben den statistischen, thermodynamischen und Coarse-Grain-Ansätzen, wurden das Verhalten von  $C_{18}$ -Ketten auch mittels expliziter Moleküldynamik auf Basis von Kraftfeldern untersucht. Hierfür wurde das Programm HyperChem mit dem Kraftfeld MM+ eingesetzt. Simuliert wurde ein Bereich von  $20 \text{ \AA} \cdot 20 \text{ \AA}$  der Kieselgeloberfläche mit maximal sechs monomer angebundenen  $C_{18}$ -Alkylketten. In der Simulation bildeten sich nur dann trans-Bereiche aus, wenn die äu-



berer Ketten künstlich in ihrer Beweglichkeit eingeschränkt wurden und eine enge Beladung vorlag. Diese Verhältnisse sind bei lösungspolymerisierten Phasen zu erwarten. Benachbarte Ketten legen sich aber eindeutig eng aneinander an, wie die direkt auf einer Simulation beruhende Visualisierung in Abbildung 32 zeigt. Sie wurde erstellt durch Export des Berechnungsergebnisses als pdb-Datei. Über den Konverter wpMolecule wurde die Szene in VRML als 3D-Zwischenformat gewandelt und anschließend in das Programm Cinema4D übernommen. Nach Ergänzung um die eingezeichneten Maßstäbe wurde es im Format w3d gespeichert.

In dem für Online- und Offline-Produkte häufig eingesetzte Autorensystem Macromedia-Director lassen sich mit Hilfe von w3D-Dateien (Tabelle 4) interaktiv 3D-Animationen programmieren. Im QuickTime3D-Format gerendert kann die Szene in Echtzeit gedreht werden.

**Abbildung 32: Sechs monomer gebundene C<sub>18</sub>-Alkylketten**



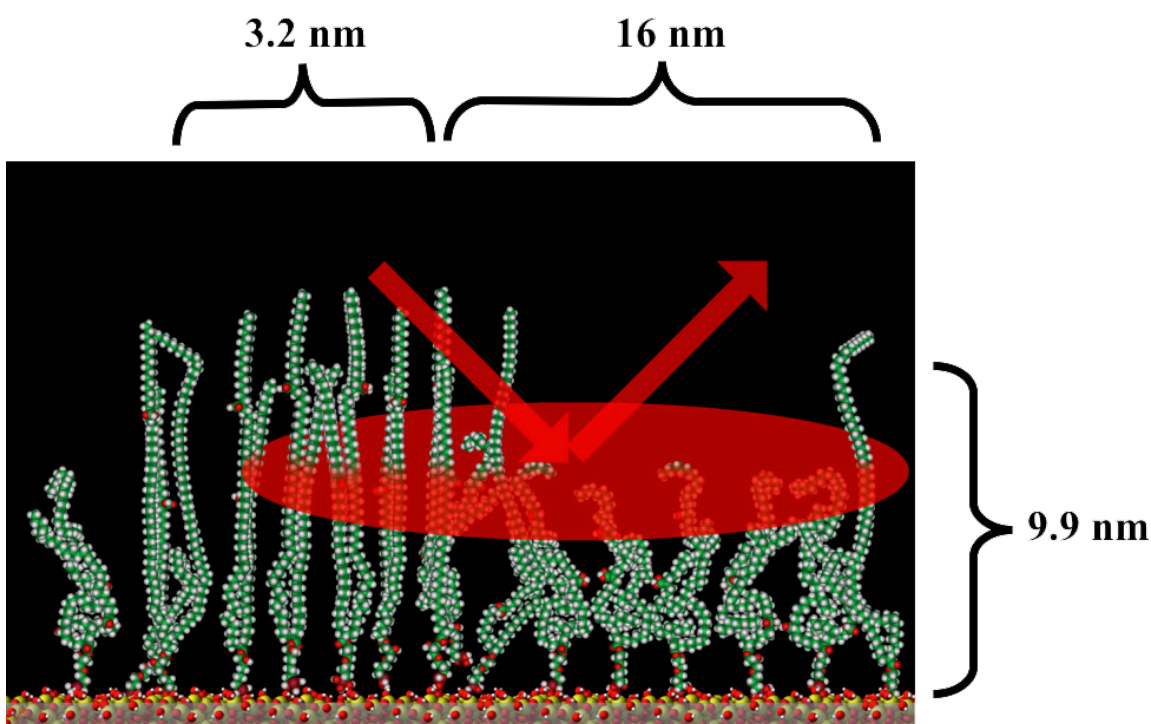
Die Konfiguration der Alkylketten wurde durch Kraftfeldrechnungen mit HyperChem (MM+-Kraftfeld) ermittelt. In diesem speziellen Fall haben sich die Ketten z.T. spiralgig umeinander gewunden. Zur besseren Unterscheidung der Ketten wurden diese unterschiedlich eingefärbt.

Aus den 3D-Daten lassen mit Hilfe von 3D-Programmen (Tabelle 5) Animationen auch als AVI oder Quicktime-Filme exportieren (Abbildung 32). Dadurch ergeben sich neue Visualisierungsmöglichkeiten für die Situation an der Oberfläche der Trennphasen.

#### 6.3.4 Untersuchung der PEA5-Phase

Die Morphologie der PEA5-Phase wurde mit Hilfe von Ellipsometrie untersucht. Dabei ergaben sich mittlere Schichtdicken von 99 Å, was in Übereinstimmung mit den aus den Molekulargewichten bestimmten Kontourlängen der angebondenen Moleküle steht, wenn deren Faltung und Verteilung berücksichtigt wird.

**Abbildung 33:** Morphologie der Stationären Phase / Ellipsometrie



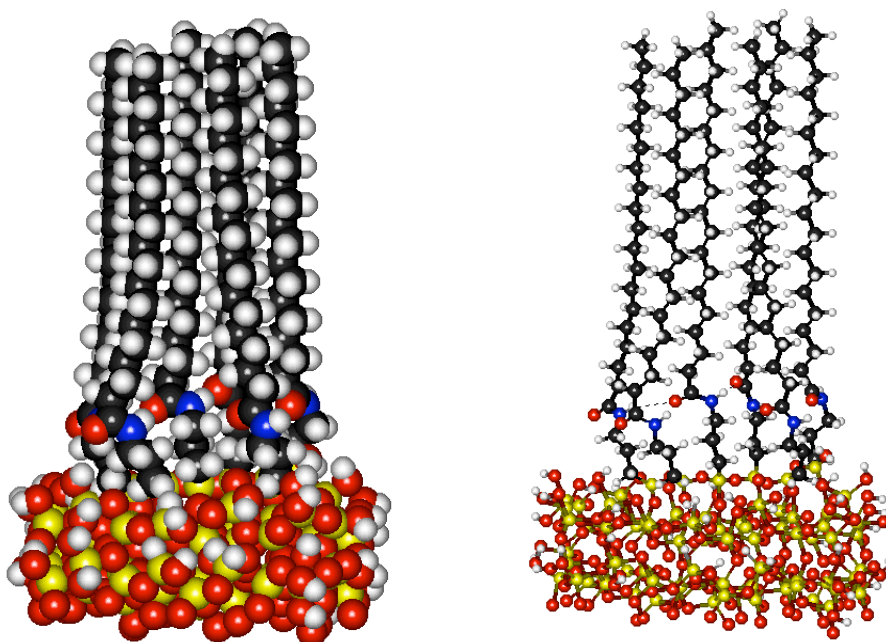
Herstellung: Stationäre Phase sowie Silicatmodelle getrennt in HyperChem erstellt, nach iMol übertragen, durch Bildschirmkopie in Photoshop-Ebenen übernommen. Verteilung der Moleküle nach NMR-Spindiffusionsmessungen [80], Höhe des Messflecks anhand der Ellipsometrie-Ergebnisse [64] eingezeichnet. Die PEA-Ketten sind aus zeichnerischen Gründen nur in halber Länge dargestellt.

### 6.3.5 Polar Embedded-Phasen

RP-Trennphasen zeigen eine verbesserte Peakform, wenn unreaktierte Silanolgruppen auf der Oberfläche über End-Capping (Methylierung) deaktiviert werden. Phasen dieser Art besitzen allerdings sehr unpolare Eigenschaften, was die Trennung von Analyten nach Polarität deutlich verschlechtert. Durch den Einbau polarer Gruppen wie etwa Säureamide in die Alkylkette versucht man dem entgegenzuwirken und stellt auf diese Weise so genannte Polar-Embedded-RP-HPLC-Phasen her, die auch eine Trennung mäßig polarer Analyten, z.B. wasserlöslicher Vitamine, bei guter Peakform gestatten.

In diesem Zusammenhang ist interessant herauszufinden, wie solche Ketten miteinander wechselwirken, ob die eingebundenen polaren Gruppen z.B. Wasserstoffbrücken miteinander ausbilden können.

**Abbildung 34: Polar-Embedded Phasen**



Raumfüllendes Modell und Kugelstab-Ansicht einer Polar-Embedded-Phase an amorphem Kieselgel (Beladung ca. 50%).

Durch Geometrieoptimierung und Moleküldynamik (MM+-Kraftfeld, Optimierung nach Polak-Ribière, MD 10 ps bei 300K) konnte vorläufig gezeigt werden, dass die Ketten ihre extrem dichte Interaktion beibehalten. Berechnet wurde ein Segment einer hypothetischen Polar-Embed-C<sub>18</sub>-Phase. Die raumfüllende Atomdarstellung zeigt, wie dicht die Polymerphasen die Kieselgeloberfläche bedecken.

Zwischen den polaren Gruppen, die im modellierten Fall alle die gleiche Entfernung von der Kieselgeloberfläche besitzen, konnten die Ausbildung wechselnder Wasserstoffbrücken festgestellt werden. Damit ist denkbar, dass bei solchen Phasen die Clusterbildung von vorwiegend in trans-Konformation vorliegenden Alkylketten durch die polaren Wechselwirkungen und die stärkere laterale Beweglichkeit der Ketten noch unterstützt wird.

#### **6.4 Modelle und Hypothesen zu formselektiven RP-Phasen**

Ziel dieser Arbeit war es, mit den Mitteln der Computervisualisierung und des Molecular Modeling die Vorstellungen zur Oberflächenstruktur stationärer Trennphasen und den formerkennenden Trennprozessen zu konkretisieren. Hierzu wurde das früher beschriebene Slot-Model von Wise [10, LS:56] auf Basis von HyperChem-Modellrechnungen visualisiert. Darüber hinaus wurden auf Basis der vorliegenden experimentellen und theoretischen Ergebnisse Modelle für die spontane Oberflächenstrukturierung erarbeitet.

##### **6.4.1 Slot-Model**

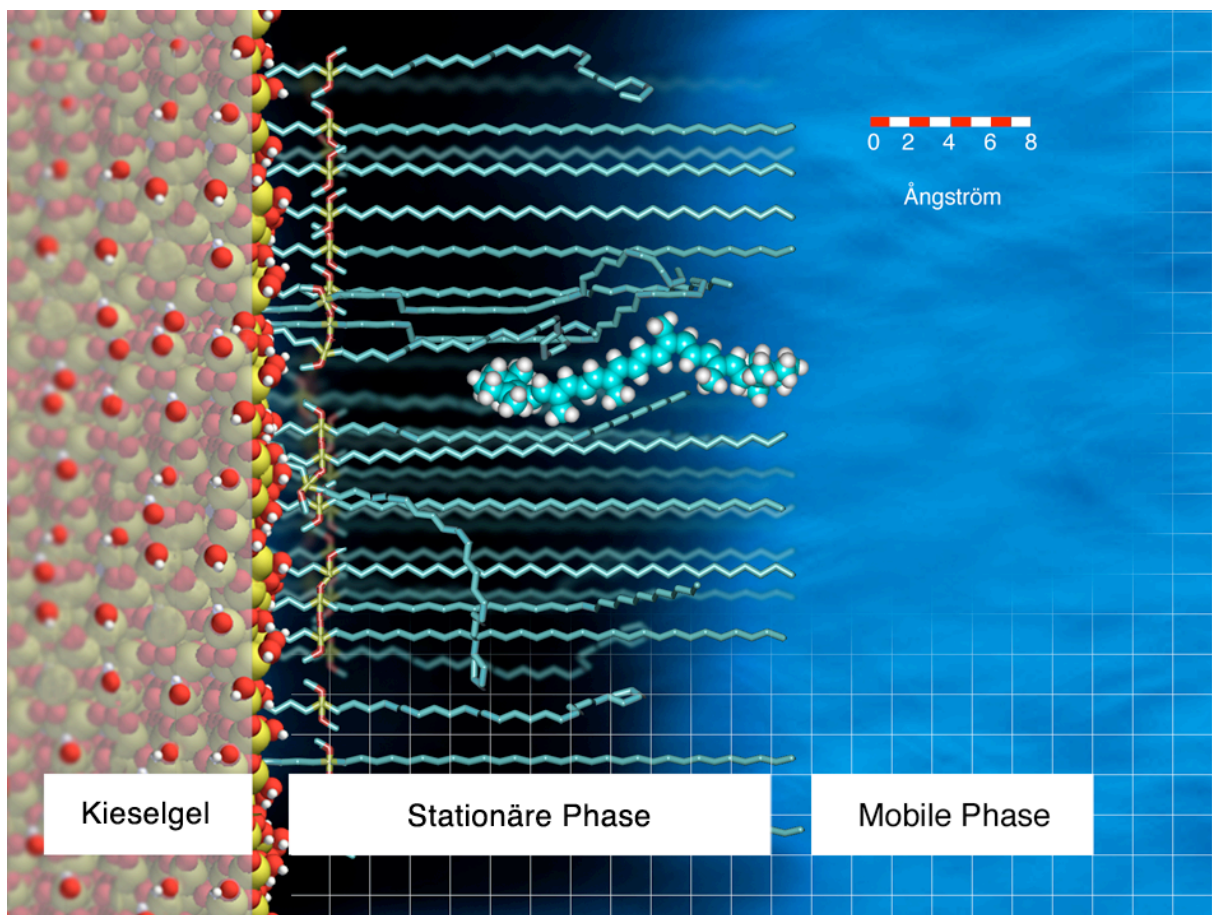
Das Slot-Model geht davon aus, dass die Fähigkeit bestimmter Trennphasen zur Formerkennung starrer Analyten auf der Ausbildung statistisch gesehen unterschiedlich großer oder unterschiedlich geformter Kavitäten, hauptsächlich in mehr rigiden Anteile der stati-

---

onären Phase zurückgeht, in denen Alkylketten mit hohen Anteilen an trans-Konformationen vorherrschen.

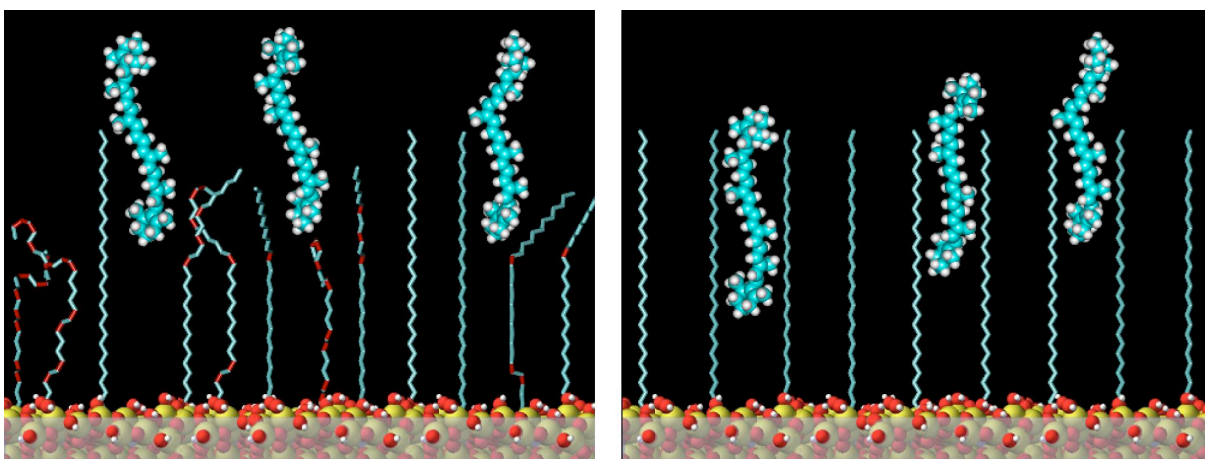
Abbildung 35 illustriert die Situation am Interphasensystem einer C<sub>30</sub>-Trennphase und die hypothetische Interaktion mit einem Analytmolekül.

**Abbildung 35:** Interphasensystem in der RP-HPLC



Herstellung: Analytmolekül und Stationäre Phase sowie Kieselgel getrennt in HyperChem erstellt und berechnet, durch wpMolecule über VRML zur 3D-Collage in Cinema4D übernommen und gerendert. Finale Collage in Photoshop-Ebenen für Hintergrund und Beschriftungen.



**Abbildung 36: Visualisierung des Slot-Modells an einer C<sub>30</sub>-Phase**

Diese Abbildung zeigt eine Visualisierung des Slot-Modells von WISE [LS:56] für die Formerkennung starrer Analyten am Beispiel von 9-*cis*- und 13-*cis*-Carotin. Die Konformationen der Analytmoleküle sowie exemplarische Konformationen der Liganden wurde durch Energieoptimierung mit Hilfe von Kraftfeldrechnungen in HyperChem bestimmt. Die Verteilung der Bereiche von *trans* bzw. *gauche*-Ketten auf der Kieselgel-Oberfläche ergibt sich aus Experimenten nach MARTIN RAITZA [MR]. C-C-Bindungen mit *gauche*-Konformation sind rot eingezeichnet, Sauerstoffatome des amorphen Kieselgels sind als rote Kugeln markiert.

#### 6.4.2 Modelle zur Strukturbildung in Alkylphasen

Eine Zusammenfassung des aktuellen Kenntnisstandes ergibt das folgende konsistente Gesamtbild:

Die Oberfläche des Interphasensystems hängt von der Art der angewandten Oberflächenchemie und der Reaktionsführung ab. Generell hat die Verwendung von monofunktionellen Alkoxysilanen mit der Folge der Anbindung von Monomeren eine relativ geringere Oberflächenbelegung von ca. 2,5  $\mu\text{Mol}/\text{m}^2$  zur Folge als die Benutzung von Trialkoxysilanen, die polymerisieren können. Wie bereits in Kapitel 4 dargelegt wurde, unterscheidet man bei der Anbindung die

Methoden der Oberflächenpolymerisation (durch Wasserzugabe zum Kieselgel vor der Reaktion) und der Lösungspolymerisation (durch Wasserzugabe direkt in die der Reaktionsmischung). Die erstere Methode liefert Oberflächenbelegungen, die z.T. nahe an oder noch über dem theoretisch zu erwarteten Höchstwert von ca.  $8 \mu\text{Mol}/\text{m}^2$  für eine zusammenhängende Polymerschicht (Self Assembled Monolayer) bzw. kristallinem Octadecan liegen. Offenbar wird dabei die Oberfläche weitgehend bedeckt und möglicherweise kann sogar Polymerisation in den Raum hinein auftreten.

Auch im Falle der Lösungspolymerisation werden sehr hohe Oberflächenbelegungen von ca.  $5 \mu\text{Mol}/\text{m}^2$  erreicht.

Alkylketten können an jeder C-C-Bindung entweder in der energetisch etwas stabileren *trans*-Konfiguration oder in einer *gauche*-Konformation vorliegen. Moleküle mit nur *trans*-Konfigurationen sind geradlinig und verhältnismäßig steif, jede *gauche*-Konformation bewirkt einen Knick in der Alkylkette. Die Anzahl der *gauche*-Bindungen pro Alkylrest ist zunächst thermodynamisch determiniert und beträgt im Gleichgewicht bei RT etwa 1/3 (bei einer  $\text{C}_{18}$ -Kette würden also z.B. ca. 5-6 *gauche*-Defekte auftreten, Abbildung 30). Dieser Anteil an *trans*-Bindungen ist allerdings nicht nur von der Temperatur, sondern auch anderen Parametern abhängig. Dazu zählen insbesondere die Nachbarschaft anderer Ketten und Van der Waals-Wechselwirkungen, die sich bei längeren Ketten stärker auswirken. So gibt es Hinweise auf Basis von FTIR-Messungen, dass die Zahl der *gauche*-Defekte bei alkylmodifiziertem Kieselgel bei RT eher niedriger liegt ( $\approx 3,6$  für  $\text{C}_{18}$ -Ketten und  $\approx 2,5$  für  $\text{C}_{30}$ -Ketten) [81].

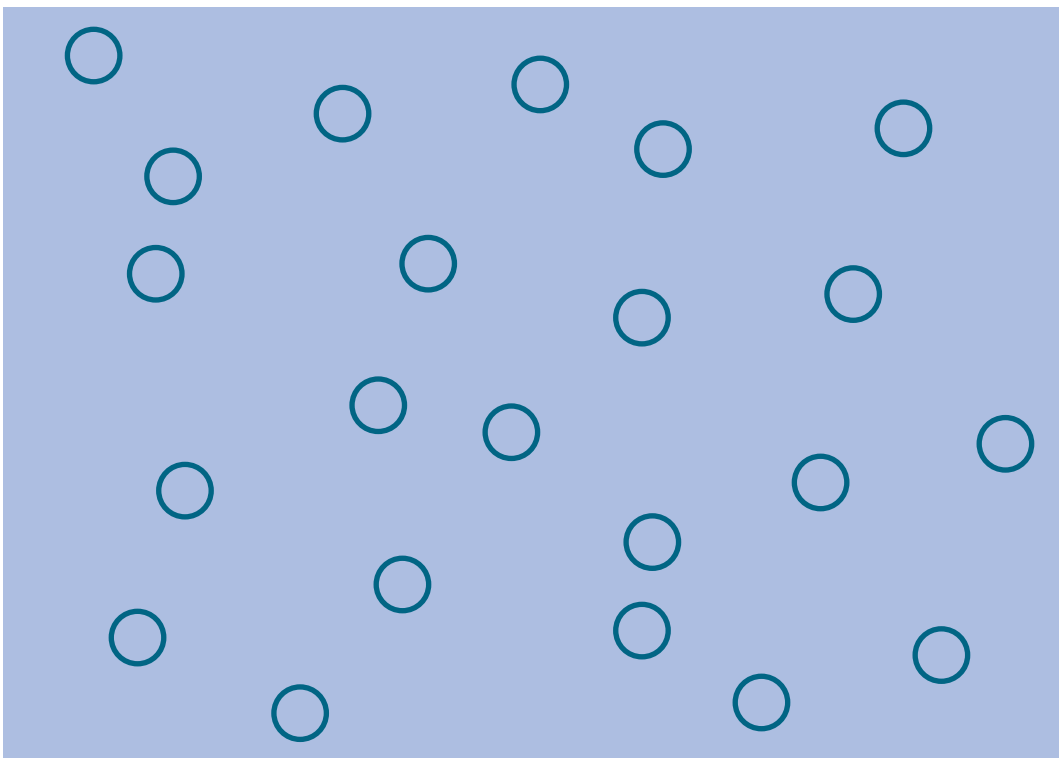
Bei hoher Dichte der Ketten (siehe z.B. Abbildung 34) können sich auf Grund sterischer Hinderung und hydrophober Wechselwirkungen

---

inselförmige, vorwiegend kristalline Bereiche ähnlich einer Biomembran ausbilden, in denen die Alkylketten verstärkt in *trans*-Konformation vorliegen [57].

Alle Untersuchungen haben ergeben, dass die Fähigkeit von RP-HPLC-Phasen, auch Analyten mit nahezu gleicher Polarität, aber eingeschränkter Molekülflexibilität zu trennen, direkt mit dem Anteil an *trans*-Konformeren korreliert ist. Im Slot-Model [59] wird angenommen, dass die Formerkennung auf das durch Eindringen der Analytmoleküle in unterschiedliche (dynamisch entstehende) Zwischenräume in einem mehr oder weniger homogenen Rasen von *trans*-Alkylketten zustande kommt.

**Abbildung 37:** Mögliche Anbindungsstellen auf amorphem Kieselgel



Silanolgruppen als mögliche Anbindungsstellen sind als Kreise gekennzeichnet.

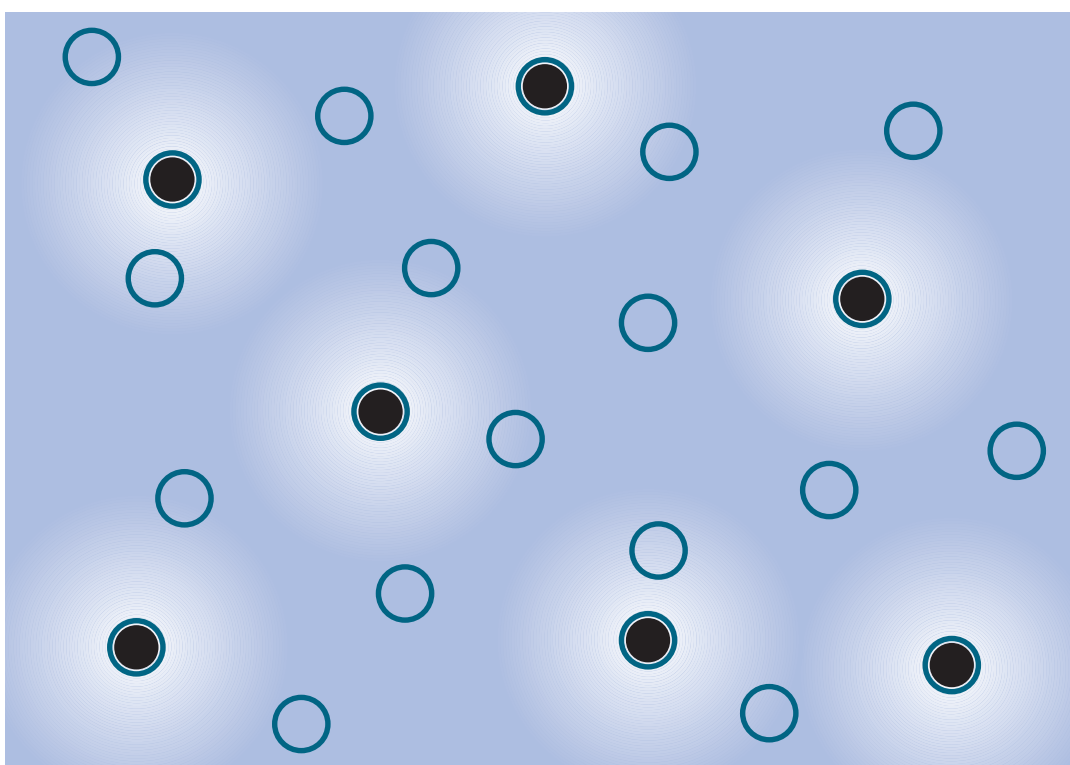
Infolge der von der Silicatstruktur fix vorgegebenen und statistisch genutzten Anbindungsstellen können Alkylketten monomer ange-

---



bundener Phasen im Vergleich zu Polymerphasen nicht leicht miteinander in hydrophobe Wechselwirkung treten. Dies ist eine direkte Folge der als "umbrella-Effekt" bekannten sterischen Hinderung aufgrund der Methyl-Seitengruppen der Monomere. Dadurch wird zum einen die erreichbare Oberflächenbelegung auf ca. 2,5 – 3,5  $\mu\text{Mol}/\text{m}^2$  begrenzt. Zum anderen aber ist zu erwarten, dass die Gruppen selbst bei gleicher Oberflächenbeladung keine engen Nachbarn besitzen, die Abstände also stets so groß wie möglich ausfallen.

**Abbildung 38: Umbrella-Effekt verhindert enge Nachbarschaften**



Angebundene Alkylgruppen sind in der Draufsicht als dunkle Kreisflächen markiert. In den hellen Bereichen um angebundene Alkylketten ist die Wahrscheinlichkeit einer weiteren Anbindung durch sterische Effekte reduziert.

Nur bei enger Nachbarschaft der Alkylketten, also bei hoher Oberflächenbelegung, kann es zur Ausbildung signifikanter *trans*-Bereiche kommen. Bei Phasen, die durch Oberflächenpolymerisation erzeugt werden, führt die extrem hohe Dichte aber zur Ausbildung

nahezu geschlossener Polymerfilme (Self Assembled Monolayer). Trotz des hohen *trans*-Anteils der Bindungen eignen sich diese Phasen daher wenig für chromatographische Zwecke, denn die Analytmoleküle können nicht mehr in ausreichendem Maße in den Film eindringen. (siehe Kapitel 4.3)

### 6.4.3 Lateralkoagulation

Bei Polymerphasen nach der Methode der Lösungspolymerisation entstehen in der Lösung Oligomere. Damit ist der Abstand zwischen zwei zu Oligomeren verbundenen Alkoxysilanen über die Si-O-Si-Bindung bereits auf ca.  $3,25 \text{ \AA}$  festgelegt. Dieser Abstand passt sehr gut zum Abstand möglicher Bindungsstellen auf amorphem Kieselgel. Es werden zuvor ausgebildete Oligomere an die Oberfläche gebunden. Dabei binden die Oligomere nicht an jeder Alkylkette an die Oberfläche. Gegenwärtige Vorstellungen gehen davon aus, dass im Mittel Pentamere vorliegen, die über 3 bis 4 Siloxanbindungen angebunden sind [88]. Damit können sich leichter Cluster untereinander wechselwirkender Ketten ausbilden wobei jedoch wegen der bei Lösungspolymerisation nicht kompletten Flächenbedeckung von nur ca. 60% der verfügbaren Bindungsstellen genügend Beweglichkeit verbleibt, um Analytmolekülen ein Eindringen in dynamisch entstehende Räume zwischen den Ketten zu ermöglichen. Damit lassen sich die formerkennenden Eigenschaften von durch Lösungspolymerisation hergestellten Phasen erklären.

Es ist naheliegend, eine Separation der Oberfläche in Bereiche verstärkter *trans*-Konformation und Bereiche verstärkter *gauche*-Konformation (Inselbildung), für die einige experimentelle Ergebnisse sprechen [MR], auf statistischen Schwankungen der Oberflächenbelegungen zurückzuführen, die an Stellen dichter Anbindung quasi

---

“Kristallisationskeime” für Bereiche mit vorherrschender *trans*-Konformation liefern. Verschiedene NMR-Untersuchungen zur Spindiffusion deuten auf die Existenz solcher Inseln von ca. 20 – 120 Å Durchmesser hin [80].

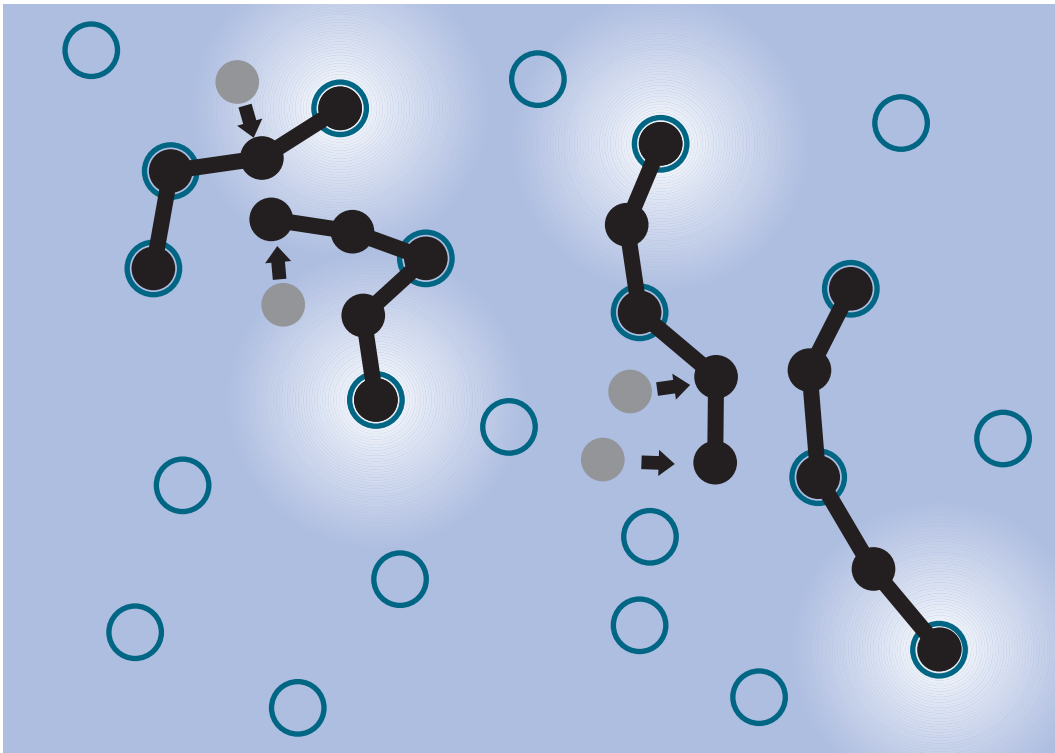
Auch fluoreszenzspektroskopische Untersuchungen an ähnlichen Systemen mit Pyrenliganden ergaben Hinweise auf dichtere und weniger dichte Oberflächenbereiche [83, 84].

Dadurch, dass die Anbindung nicht an allen Alkylketten stattfindet, sind Teile der Oligomere flexibel genug, um sich durch laterale Bewegung an benachbarte Gruppen von Ketten anzulegen. Es können demnach wesentlich leichter *trans*-Bereiche ausgebildet werden. In der Nähe einer so zustande gekommenen *trans*-Domäne würde es auf Grund dieses Mechanismus automatisch zu einer Verdünnung der Flächenbelegung kommen, was wiederum die Ausbildung von *gauche*-Konformationen in diesen Bereichen fördert. Im Gegensatz zu dem im thermodynamischen Gleichgewicht bei RT möglichen leichten *trans-gauche*-Übergang an isolierten drehbaren C-C-Bindungen (für die mittlere Bindung in Butan ca.  $2^{11}$  Übergänge pro Sekunde) zeigt sich im Falle der langen angebundenen Alkylketten ein gänzlich anderes Bild. Nach NMR-Ergebnissen zur Spindiffusion [MR] muss davon ausgegangen werden, dass in den *trans*-Domänen tatsächlich recht starre Gebilde vorliegen. Dies ist erklärlich aus der Bewegungsrestriktion durch die Anbindung an der Kieselgeloberfläche, durch das Trägheitsmoment der längeren Ketten, die bei einer Konfigurationsänderung an einer Bindung nah am proximalen Kettenende jeweils große Bewegungen ausführen müssten, sowie durch die Behinderung dieser Bewegungen durch Lösungsmittelmoleküle. Die wesentlichen Beiträge zur Stabilisierung der Domänen mit vor-

---

zugsweiser *trans*-Konformation liefern aber offenbar die sterische Hinderung durch Nachbarketten sowie hydrophobe Wechselwirkungen zwischen diesen[57].

**Abbildung 39: Ausbildung von Domänen durch laterale Beweglichkeit**



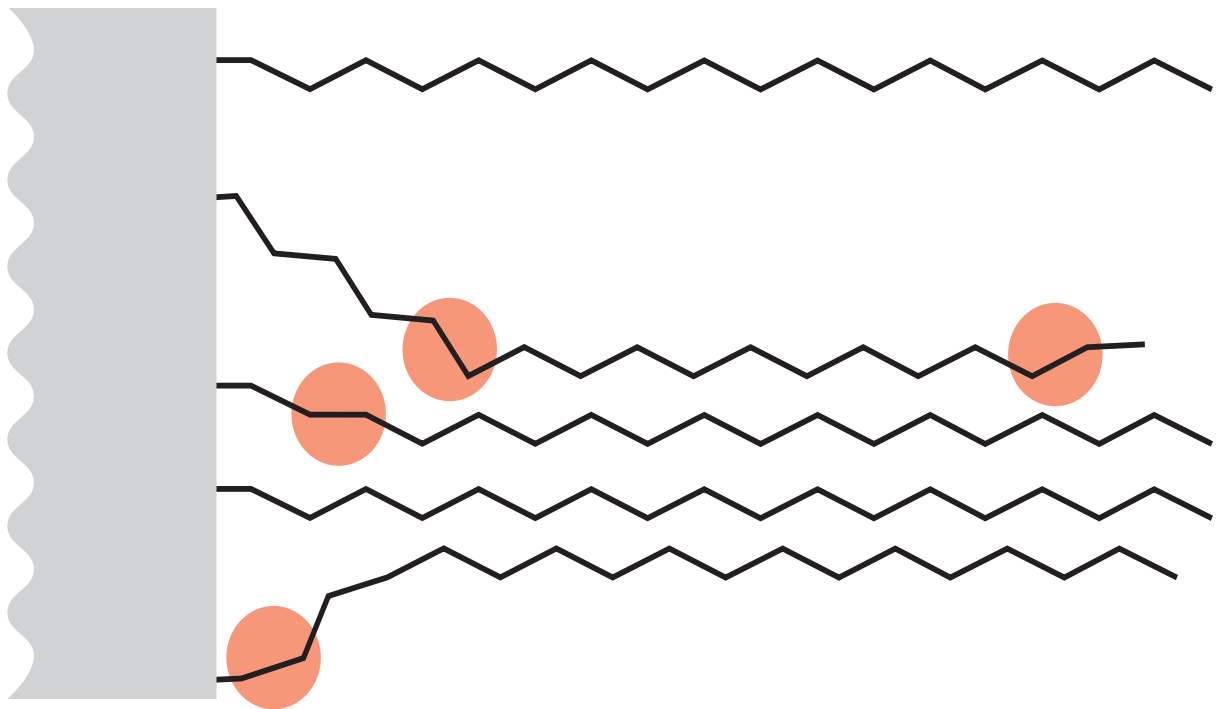
Für Oligomere, die nicht an allen Positionen an die Oberfläche gebunden sein müssen, ist die sterische Hinderung hauptsächlich an der ersten Anbindungsstelle wirksam. Nicht angebundene Alkylketten behalten eine laterale Beweglichkeit und können sich anderen Ketten durch Van der Waals-Kräfte nähern. Auf diese Weise ist die Entstehung verdichteter Domänen mit vorzugsweiser *trans*-Konformation denkbar. Zwischen diesen Bereichen entstehen automatisch Bereiche mit dünnerer Anbindung. Befinden sich dort Ketten (nicht eingezeichnet), so werden sie vorzugsweise die für einzelne Ketten energetisch günstigere *gauche*-Konformation einnehmen.

#### 6.4.4 Distalkoagulation

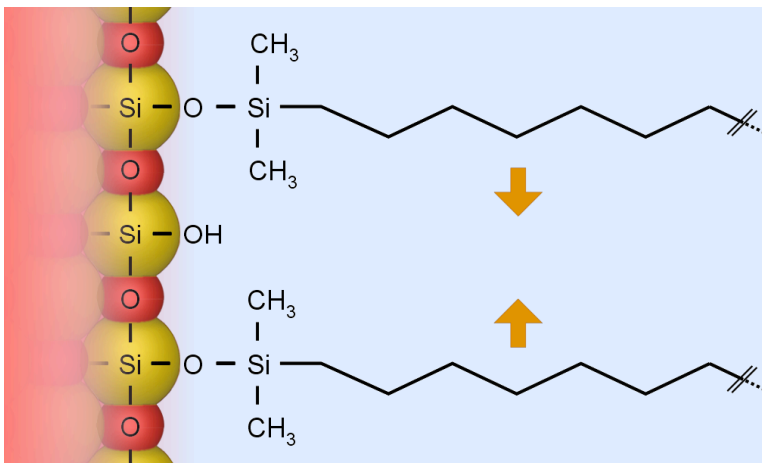
Ein weiterer Effekt beruht möglicherweise darauf, dass die Anbindungsstellen verschiedener Monomere und Oligomere auf der Oberfläche in manchen Fällen zu weit voneinander entfernt liegen,

um ohne weiteres Wechselwirkungen über die gesamte Länge der Ketten zu ermöglichen. Damit wird ein Mechanismus denkbar, der ebenfalls in der Lage ist, vorhandene *trans*-Domänen an ihren Rändern zu vergrößern und den Kontrast zwischen *trans*- und *gauche*-Bereichen zu erhöhen. Im unteren Bereich können sich Ketten von außerhalb der Domäne an *trans*-Bereiche anlagern. Im Gegensatz zu Ketten innerhalb von *trans*-Bereichen, bei denen die Beweglichkeit und der *gauche*-Anteil am distalen Ende der Kettenn stärker ist, würden bei den Randketten einer Domäne auch verstärkt *gauche*-Anteile am proximalen Kettenende auftreten. Da hierbei außerhalb der Domänen automatisch eine Verdünnung der Kettendichte verursacht wird, könnte Distalkoagulation dazu beitragen, messbare, klar abgegrenzte Domänen zu erzeugen, deren Auftreten durch die Spindiffusion bewiesen wurde.

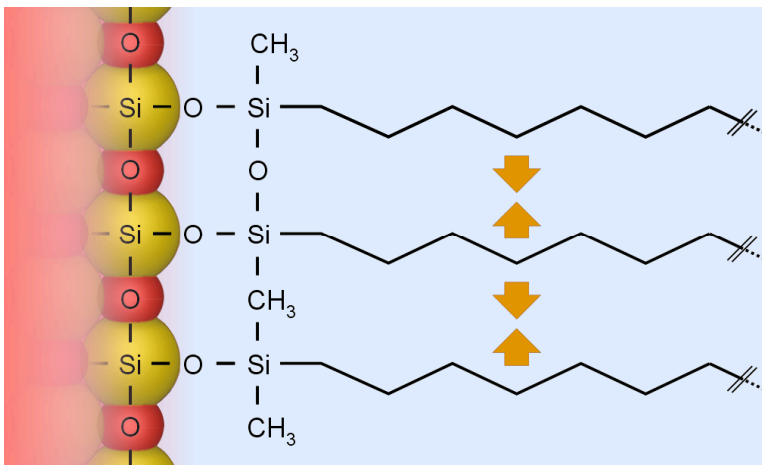
**Abbildung 40: Distalkoagulation**



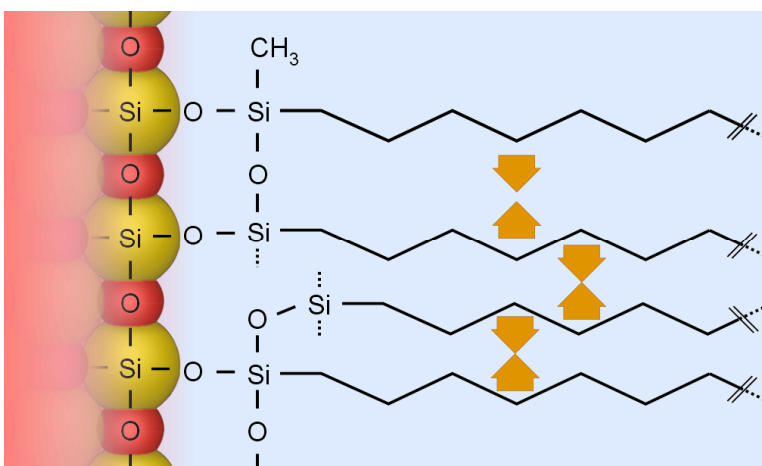
Prinzipische Skizze zum Zustandekommen vermehrter *gauche*-Konformationen am proximalen Kettenende bei Ketten am Rande von *trans*-Domänen.

**Abbildung 41: Auswirkungen der Synthesestrategien**

Monomer



Oberflächenpolymerisation



Lösungspolymerisation

Die Benutzung monomerer (oben) oder polymerer Alkylsilane sowie die Reaktionsführung (Oberflächenpolymerisation, Mitte bzw. Lösungspolymerisation, unten) kann sich über die erreichbare Belegungsdichte, über die statistische Verteilung und über die laterale Beweglichkeit der Oligomeren auf die Ausbildung formerkennender *trans*-Bereiche auswirken.

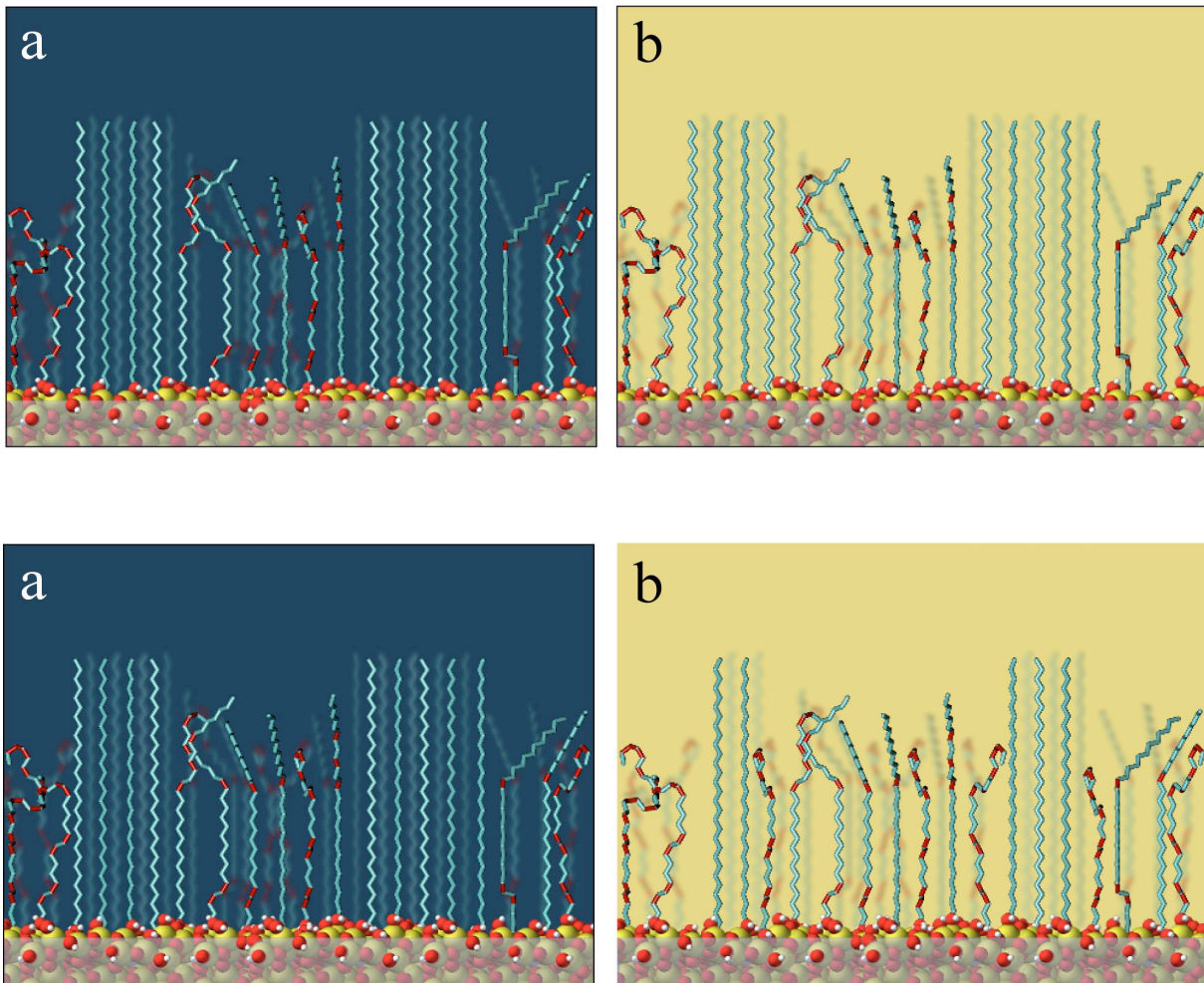
In der Tat bestätigen FTIR-Untersuchungen mittels gezielter Deuterierungen einzelner Kettenpositionen [81], dass *trans*-Anteile in den ersten C-C-Bindungen nahe der Oberfläche mit verminderter Häufigkeit auftreten, sondern sich stärker auf das distale Ende der Ketten konzentrieren. Kürzere Ketten zeigen generell einen verringerten *trans*-Anteil.

Eine deutliche Lösungsmittelabhängigkeit der Konformationen, wie sie experimentell oft gefunden wird [85-87] konnte an angebondenen C<sub>30</sub>-Ketten durch die Simulationen nicht nachgewiesen werden. Vollständig in Wasser solvatisierte Moleküle verhielten sich nicht auffällig anders, als bei Berechnung im Vakuum, was auch von Molecular-Modeling-Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen [57] bestätigt wird. Allerdings sprechen auch neueste experimentelle Befunde für eine solche Abhängigkeit. Dies gilt insbesondere für die PEA5-Phase [54, 55] (Abbildung 42). An dieser Stelle besteht also weiterer Klärungsbedarf.

Bei Betrachtung dieser längerkettiger Phase (über GOPS-Spacer angebondenen Poly(ethylen-co-acrylsäure)), zeigt sich auch, dass hier trotz relativ niedriger Oberflächenbelegung sehr gute Trennergebnisse erreicht werden. Wegen ihrer großen Längenausdehnung von bis zu 310 Å und ihrer sehr heterogenen Anbindungsstruktur (die Anbindung kann an beliebiger Stelle im Molekül erfolgen) sind diese Phasen einer Analyse durch Molecular Modeling allerdings viel schwieriger zugänglich. Es ist konsistent mit der obigen Argumentation (Lateral- und Distalkoagulation), dass diese Moleküle durch ihre größere laterale Beweglichkeit bezüglich der Silicatoberfläche trotz der heterogenen effektiven Kettenlängen leichter *trans*-Cluster ausbilden können.

---



**Abbildung 42: Lösungsmittelleffekte auf Kettenkonformationen**

Visualisierung der Alkylkettenkonformation in verschiedenen Lösungsmitteln (a: 50% MeOH in H<sub>2</sub>O, b: 100% MeOH). Oben: C<sub>30</sub>-Phase, Unten: PEA5-Konformation (zur besseren Vergleichbarkeit grafisch wie C<sub>30</sub> dargestellt). Die PEA5-Trennphase zeigt ebenso wie C<sub>30</sub>-Trennphasen[KA129] experimentell eine Lösungsmittelabhängigkeit der Konformationen. Die Abbildung beruht auf <sup>13</sup>C-HPDEC-NMR-Messungen der *trans*- und *gauche*-Anteile [55].

Zumindest die beiden Kettenteile eines in der Mitte angeordneten Moleküls könnten sich ähnlich wie die Ketten polymerer Alkylphasen zusammenlagern. Durch die geringe Dichte der Acrylsäurereste über die Kette sind kaum polare Wechselwirkungen der Ketten miteinander weniger zu erwarten, wohl aber hydrophobe Wechselwirkungen und eine verstärkte Abhängigkeit vom Lösungsmittel auf Grund von



Solvatisierung der polaren Bereiche. Die Beobachtung, dass Alkylketten verstärkt in der *trans*-Konformation vorliegen, lässt sich also eingeschränkt auf diese Phasen übertragen und kann helfen, ihre ausgesprochen gute Fähigkeit zur Formerkennung zu erklären.

## 6.5 Wechselwirkungsstudien

Verschiedene Berechnungsmethoden und Visualisierungen wurden punktuell eingesetzt, um die Wechselwirkungen zwischen Liganden der stationären Phase bzw. zwischen Analyten und stationärer Phase zu untersuchen.

### 6.5.1 Chirale Selektoren

Für viele Anwendungszwecke wäre es vorteilhaft, wenn sich die hohe Beladbarkeit, die für die PEA5-Phase [Poly(ethylen-co-acrylsäure)-Phase mit 5% Acrylsäureanteil] nachgewiesen werden konnten mit den chiralen Eigenschaften einer Pirkle-Phase kombinieren ließen. Untersuchungen hierzu wurden von [55] durchgeführt. In diesem Zusammenhang sollte die Stabilität der von PIRKLE [88–91] postulierten Bindungskomplexe mit Hilfe von Molecular Modeling untersucht, und basierend auf diesen Ergebnissen eine Visualisierung des Prozesses erstellt werden.

Nach PIRKLE müssen für die chirale Erkennung mindestens drei Wechselwirkungszentren vorhanden sein, die als primäre, sekundäre und tertiäre Wechselwirkungen bezeichnet werden. Am Beispiel der chiralen Trennung der R- und S-Enantiomere von 2-2-2-Trifluoro-1-(9-anthryl)ethanol wurde durch Molecular Modeling die Stabilität der jeweiligen Komplexe verifiziert und die Bindungsstellen auf Basis dieser Ergebnisse visualisiert (Abbildung 43). Als primäre Interaktion wird eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Amid-Gruppe

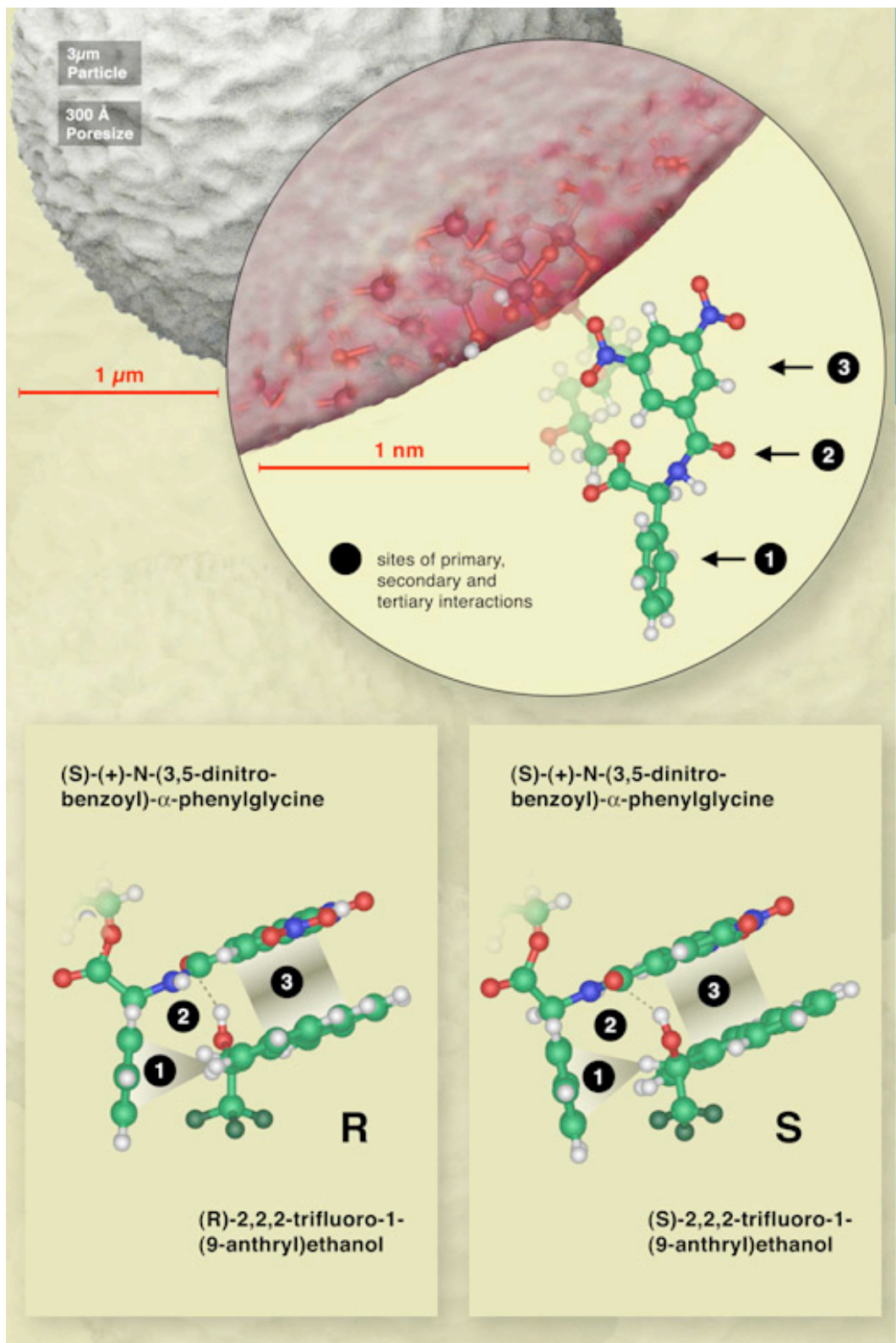
---

des Selektors und der Hydroxylgruppe als Modellanalyten verwendeten Fluoroalkohols angenommen. Die sekundäre Interaktion besteht in einer Wechselwirkung des Phenylrings des Selektors mit dem positivierten Wasserstoffatom des Analyten. In dem während der Trennung entstehenden diastereomeren Komplex zwischen Analytmolekül und Selektor kann sich aus sterischen Gründen im R- bzw. S-Fall eine unterschiedlich starke  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkung zwischen dem Dinitro-Benzoylring des Liganden und dem aromatischen System des Analyten ausbilden.

In den Molecular-Modeling-Berechnungen konnte nachgewiesen werden, dass beide Komplexe sich tatsächlich ausbilden können. Sie wiesen eine leicht unterschiedliche Stabilität auf (MM+-Kraftfeld, Berechnung im Vakuum), die in Einklang mit den chromatographischen Trennergebnissen steht.

Um die Ausbildung der Komplexe zu provozieren, wurden im Modell zunächst künstliche Kräfte für die postulierten primären und sekundären Interaktionen angebracht. Das Analytmolekül bildete leicht die in Abbildung 43 gezeigten Komplexe unter Änderung seiner im freien Zustand optimalen Konformation. Nach Ausbildung der Komplexe wurden die künstlichen Kräfte entfernt und das System bei 300 K äquilibriert. Die Komplexe blieben innerhalb der ersten 1-2 ps der Simulation stabil. Nach mehr als 2 ps wurde in beiden Fällen ein unterschiedlich schneller Zerfall der Komplexe beobachtet.

---

**Abbildung 43: Chirale Pirkle-Phase**

Herstellung: Moleküleingabe und Geometrieoptimierung in HyperChem, Moleküle in iMol rotiert, Bildschirmkopie freigestellt und in Photoshop mit in Cinema4D gerendeter Kieselgeloberfläche und Beschriftung kombiniert.

### 6.5.2 Lokalisierung von Wechselwirkungen

Mit Hilfe der NMR-Spektroskopie können unter bestimmten Umständen auch Informationen über den Ort und die Intensität der Wechselwirkungen zwischen einem Analyten und einer stationären Phase gewonnen werden.

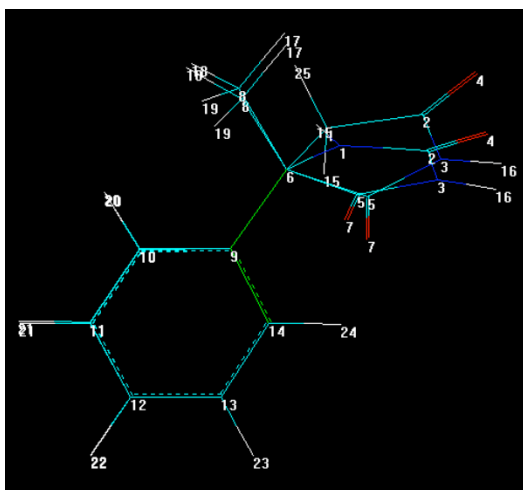
Der Nuclear-Overhauser-Effekt (NOE) wurde erstmals im Jahre 1965 von ANET und BOURN [92] beschrieben. Er ist ein Doppelresonanz-Entkopplungsexperiment, bei dem die Übergangsfrequenz eines ausgewählten  $^1\text{H}$ -Kerns bis zur Sättigung eingestrahlt und damit sein Boltzmann-Gleichgewicht gestört wird. Durch dipolare Kopplung wird dabei das Relaxationsverhalten eines Kerns in unmittelbarer räumlicher Nähe so beeinflusst, dass es zu einer Zu- oder Abnahme der Intensität von  $^1\text{H}$ -Resonanzsignalen kommt. Für den Effekt müssen die koppelnden Kerne nicht über Bindungen verknüpft sein. Die Wirkung durch den Raum nimmt mit der sechsten Potenz des Abstands ab und ist daher nur in der unmittelbaren Umgebung bei Kerndistanzen von weniger als ca. 3 Å nachweisbar.

Der Effekt ist abhängig von der Spektrometerfrequenz und der Molekülgröße. Er kann intra- und intermolekular zur halbquantitativen Ermittlung von Kernabständen genutzt werden. Insbesondere sind Untersuchungen zur Interaktion von Analyten ("kleine" Moleküle) und stationärer Phase ("großes" Molekül") durchführbar. Es ist bekannt, dass das Vorzeichen des NOE, entweder positiv oder negativ, aufgrund verschiedener Relaxationsmechanismen in einem großen (Zero Quantum) bzw. kleinen (Double Quantum) Molekül, von der Molekülgröße abhängt [93]. Kleine Moleküle bis zu einem Molekulargewicht von ca. 1000 Dalton zeigen einen positiven NOE, ein negativer NOE tritt bei großen Molekülen (Makromolekülen) auf. Bei Kon-

takt eines kleinen Moleküls mit einem Makromolekül in einem Wechselwirkungskomplex übernimmt dieses für eine gewisse Zeit den negativen NOE des Makromoleküls.

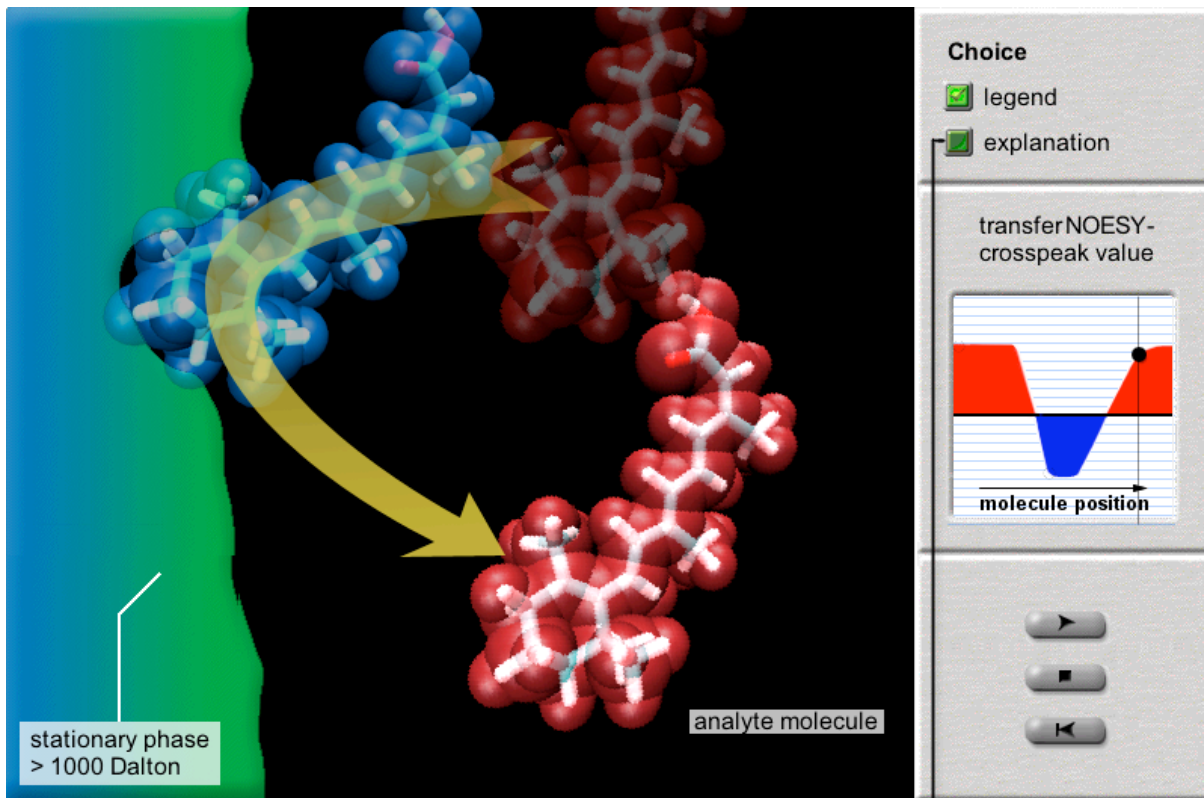
Dieser transfer-NOE wird auf eine Abbremsung des kleinen Moleküls infolge des Wechselwirkungskontakts zurückgeführt bzw. auf eine auch noch einige Zeit nach dem Kontakt andauernde verringerte freie Beweglichkeit (Reduktion der Freiheitsgrade) des Moleküls. Je intensiver die Wechselwirkung ist, desto stärker wirkt sich der transfer-NOE auf die wechselwirkenden Bereiche des kleineren Moleküls aus.

Die experimentellen Messungen wurden von U. Skogsberg mittels Suspensions-HR/MAS-NMR-Spektroskopie durchgeführt. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die relevanten Molekülparameter der verwendeten Beispielanalyten Methylphenylhydantoin und Methylphenylsuccinimid durch Geometrieoptimierung im MM+-Kraftfeld bestimmt.



Die Berechnungen ergaben, dass die einzigen relevanten Unterschiede zwischen den beiden Molekülen im Torsionswinkel 5-6-9-10 (Abbildung) liegen, der für Methylphenylhydantoin einen Wert von  $120,8^\circ$ , für Methylphenylsuccinimid einen Wert von  $133,9^\circ$  ergab. Die transfer-NOESY-Untersuchungen zu den Auswirkungen dieses Unterschieds sind noch nicht abgeschlossen.

Mit Hilfe einer Simulationsanwendung im Programm Macromedia-Director wurden diese Vorstellungen visualisiert und didaktisch aufbereitet.

**Abbildung 44: Interaktive Simulation zur transfer-NOESY**

The Nuclear-Overhauser-Effekt (NOE) is observed and used in a group of Nuclear Magnetic Resonance (NMR) experiments. It is a change in the relaxation time of a nucleus caused by spin-spin-coupling to a near by located excited proton.

Small molecules up to about 1000 Dalton show an positive Nuclear-Overhauser-Effekt (NOE) (indicated in red) while macromolecules such as a chromatographic matrix have a negative NOE (indicated in blue).

It was found that small molecules which are docked to a macromolecule are adapting their NOE to that of the big molecule. Even after disassociation from the binding site they need some time to return to their original value. Because the time to regain the positive NOE depends on the docking-time, this effect can readily be used to study the interaction between analytes and the stationary phase of a chromatographic system.

Die interaktive Simulation zeigt das theoretische Verhalten unterschiedlich großer Moleküle bei der transfer-NOESY-NMR-Technik. In einer Suspension von Trennphasen und Analytmolekülen kann damit Stärke und Ort der Wechselwirkung im Molekül untersucht werden[66, 100].



## **7 Diskussion**

### **7.1 Zum Interphasensystem der RP-HPLC**

Durch die Forschungen der letzten Jahre, insbesondere basierend auf NMR-Untersuchungen und auf Molecular-Modeling [57, 79], aber auch auf diversen anderen Untersuchungsmethoden [28] haben sich einige Vorstellungen zum Verhalten der stationären RP-HPLC bei Trennungen im Allgemeinen und der Formerkennung von Analyten eingeschränkter Beweglichkeit im Speziellen weiter verfeinern lassen. Diese stützen Ideen, die bereits in frühen Arbeiten zu diesem Thema [85–87] dargelegt sind, gehen aber an einigen Stellen über diese hinaus.

### **7.2 Gefahren der Visualisierung**

So nützlich Visualisierungen auch für die jeweilige Disziplin sind, muss auch auf die Gefahren immer perfekterer Simulation der Wirklichkeit aufmerksam gemacht werden. Auch wenn der Betrachter eine Visualisierung bewusst erkennt, kann sie zu Verfestigung falscher Hypothesen führen. Jeder Illustration sollte mit einem gehörigen Maß an Misstrauen begegnet werden. Eine richtige Hypothese schlecht dargestellt ist immer noch besser als eine falsche Hypothese perfekt in Szene gesetzt.

Neuere Visualisierungen können einen solchen Grad an Realismus erreichen, dass sie nicht mehr eindeutig von einer Abbildung unterschieden werden können. Dies resultiert nicht allein aus dem Fortschritt photorealistischer Darstellungen, sondern ebenso aus den Entwicklungen der modernen bildgebenden Verfahren wie AFM, die immer bessere Bilder liefern.

Noch deutlicher als in der Chemie tritt diese Entwicklung in anderen Wissenschaften zu Tage. Ob beispielsweise der dargestellte Ring eines neuen Protoplaneten ein neues Hubble-Bild oder eine Grafik ist, ob die eingezeichneten aktiven Bereiche in einer Gehirnabbildung ein Tomografieergebnis oder eine visualisierte Hypothese sind, kann häufig ohne eine entsprechende Bildunterschrift nicht mehr entschieden werden. In der Astronomie ist es auch heute schon völlig üblich, Bilder durch die Computerverarbeitung von Quelldaten herzustellen, die unter Umständen aus völlig unterschiedlichen Instrumenten stammen. Bildverarbeitungstechniken retuschieren unerwünschte Bildinhalte, (wie etwa Vordergrundsterne) automatisch heraus und verstärken das abzubildende Objekt. In diesen Fällen verschwimmt auch der logische Unterschied zwischen Abbildung und Visualisierung. Umso wichtiger wird deshalb die genaue Dokumentation der Verarbeitungsmethoden und der Zugriff auf die jeweiligen Originaldaten.

Zusammenfassend kann man folgende Regeln angeben:

Bei allen Visualisierungen sollte man auf Unverwechselbarkeit mit Realabbildungen achten. Wissenschaftlich ungesicherte Anteile in einer Grafik sollten graphisch oder notfalls durch Begleittext klar gekennzeichnet werden. Gegenüber tatsächlichen Abbildungen sollte man die Möglichkeit nutzen, die Aufmerksamkeit des Betrachters auf die wesentlichen Inhalte zu hin zu lenken, indem man diese hervorhebt und somit leichter erfassbar macht, weniger wichtiges entweder weglässt oder in einem deutlich abgegrenzten, vereinfachten Stil darstellt. Hierzu sind in statischen Darstellungen z.B. eingeblendete Lupenbereiche bzw. bei interaktiven Medien interaktiv einblendbare Zusatzinformationen geeignet. Insbesondere in der Chemie zumeist

---



ist die Einblendung von Maßstäben oder von Objekten bekannter Größe wünschenswert, um die Bilddimensionen kenntlich zu machen. Eine einheitliche Farbwahl und ein einheitlicher Darstellungsstil auch über mehrere Darstellungen zum selben Thema hinweg (z.B. für Magnetpole, elektrische Ladungen, Atome etc.) verbessert die intuitive Verständlichkeit.

---



## 8 Experimenteller Teil

### 8.1 Chemikalien

3-Glycidoxypropyltrimethoxysilan (98%), Poly(ethylen-co-acrylsäure)-Copolymere mit einem massenbezogenen Acrylsäureanteil von 5% und (S)-(+)-N-(3,5-Dinitrobenzoyl)- $\alpha$ -phenylglycin wurden von Aldrich Chemical Company Inc. (Milwaukee, WI, USA) bezogen. ProntoSIL-300-3-SI Kieselgel (3  $\mu\text{m}$  Partikelgröße, 300 Å Porengröße) mit einer spezifischen Oberfläche von 150  $\text{m}^2/\text{g}$  von der Firma Bischoff Chromatographie (Leonberg, Deutschland) wurde eingesetzt. 1-Hydroxybenzotriazol (99%), (S)- (98%) und (R)- (98%) 2,2,2-Trifluoro-(9-anthryl)ethanol und N,N'-Diisopropylcarbodiimid (99%) stammte von Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland). All-*trans*- $\beta$ -Carotin wurde von Fluka (Buchs, Schweiz) erworben und zur Präparation einer Mischung von 13-*cis*-, all-*trans*- und 9-*cis*- $\beta$ -Carotin nach einer Methode von Zechmeister [95] isomerisiert. Lutein, Zeaxanthin und Astaxanthin waren ein Geschenk der BASF Aktiengesellschaft (Ludwigshafen, Deutschland). Die SRM 869 LC-Säulenselektivitäts-Testmischung entstammten dem NIST standard reference materials program (NIST, Gaithersburg, MD, USA) [41]. Die Tocopherole wurden von Calbiochem (San Diego, CA, USA) bezogen. Alle in den HPLC Experimenten eingesetzten Lösungsmittel waren vom Typ HPLC grade (Solusorb, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, PA, USA und LiChrosolve, Merck, Darmstadt, Deutschland). Die Lösungsmittel für die Suspensions-NMR-Experimente und die Kapillar-HPLC-NMR Experimente waren Methanol- $\text{d}_4$  (Uvasol, 99.8%) und  $\text{D}_2\text{O}$  (Uvasol, 99.8%) (Merck, Darmstadt, Germany). Die Siliciumwafer wurden von Wacker Chemitronic (Burghausen, Germany) geliefert.

---

## 8.2 Synthese der HPLC-Phasen

### 8.2.1 Synthese von 3-Glycidoxypropyl-Kieselgel

Kieselgel wurde 4 h unter Vakuum bei 453 K getrocknet, um alles an die Oberfläche adsorbierte Wasser zu entfernen. Es wurde dann auf RT abgekühlt und unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre gelagert. 4 g des Kieselgels wurden in einem Dreihalsrundkolben mit Rückflusskühler in 20 ml trockenem Xylol suspendiert. Es wurde dann mit einer Injektionsspritze ein dreifacher Überschuss von 3-Glycidoxypropyltrimethoxysilan (2,5 mL) zugegeben und unter Stickstoffatmosphäre 12 h unter Rückfluss erhitzt. Die heiße Suspension wurde abfiltriert und mit Toluol, Aceton und n-Hexan gewaschen. Das 3-Glycidoxypropyl-Kieselgel wurde bei RT für 24 h getrocknet.

### 8.2.2 Anbindung von Poly(ethylen-co-acrylsäure)-Copolymer

1,6 g Poly(ethylen-co-acrylsäure) mit 5% Massenanteil Acrylsäure wurde in 50 ml trockenem Xylol gelöst. Das Material wurde unter 30 min Stickstoff bei Rückfluss zum Sieden erhitzt. Danach wurden 4 g 3-Glycidoxypropyl-Kieselgel zugegeben und weitere 24 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsprodukte wurden heiß filtriert und nacheinander mit kleinen Mengen heißen Xylols (Isomerenmischung von *o*-, *m*-, *p*-Xylol), Aceton, Methanol, Methanol/Wasser (50/50 v/v), Methanol, Aceton und n-Pentan gewaschen. Die resultierende weiße chromatographische Phase wurde 24 h getrocknet.

### 8.2.3 Synthese der Wafer für die Ellipsometrie

Zur Modifikation wurden einseitig polierte Siliciumwafer mit einer natürlichen SiO<sub>2</sub>-Schicht von ca. 2 nm in ca. 1,5 cm x 1,5 cm große Stücke geschnitten. In einem Reinraum wurden die Siliciumstücke zunächst in einem Ultraschallbad gereinigt und dann 15 min lang mit

---

frisch bereiteter Piranha-Lösung ( $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2 = 2/1$  (v/v)) aktiviert. Danach wurden die Waferstücke mit ultrareinem Wasser ( $>18 \text{ M}\Omega$  Widerstand) gereinigt und mit Stickstoff getrocknet. Um die Dicke der  $\text{SiO}_2$ -Schicht zu ermitteln, wurden die Waferstücke mit einem Null-Ellipsometer vermessen. Die gereinigten Waferstücke wurden 1h bei Raumtemperatur einer Lösung von  $20 \mu\text{L}$  3-Aminopropyltriethoxylilan bzw.  $20 \mu\text{L}$  Glycidoxypropyltrimethoxysilan in  $20 \text{ mL}$  Toluol ausgesetzt. Nachdem die Waferstücke aus der Lösung entnommen wurden, wurden sie mit reinem Toluol gewaschen und die Oberfläche ellipsometrisch charakterisiert. Die stationäre Phase wurden entsprechend der Arbeitsvorschrift für die Synthese der chromatographischen Trennphasen aufgebracht (s.o.). Danach wurden die Waferstücke erneut im Ellipsometer vermessen.

### 8.3 Ellipsometrie Messungen

Die ellipsometrischen Messungen wurden auf einem Ellipsometer EL X-02C der Firma DRE (Dr. Riss Ellipsometerbau, Ratzeburg, Deutschland) mit Ansteuerungscomputer und Messsoftware in Zusammenarbeit mit Stefan Busche (Institut für Physikalische Chemie, Universität Tübingen) durchgeführt. Die Messwellenlänge betrug  $\lambda = 632,8 \text{ nm}$ . Die Größe der Messfläche, über die Schichtdicken gemittelt werden (spot size) beträgt  $1 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ . Alle Messungen wurden mindestens dreifach durchgeführt.

### 8.4 Berechnungen und Visualisierungen

Die molekülmechanischen Berechnungen wurden mit dem Programm HyperChem Version 5.2 der Firma HyperCube auf einem handelsüblichen PC sowie mit Hilfe des Programms NAMD (Theoretical and Computational Biophysics Group der University of Illinois,

Urbana-Champaign) auf einem Apple-Macintosh G4-Powerbook-Computer durchgeführt.

Zur Visualisierung und Bildbearbeitung kamen ferner die Programme VMD (Theoretical and Computational Biophysics Group der University of Illinois, Urbana-Champaign), iMol (Piotr Rotkiewicz), PhotoShop (Adobe, Inc.), FreeHand Version 10 (Macromedia, Inc.) und Director (Macromedia, Inc.) zum Einsatz. Das Layout der Arbeit wurde mit dem Programm Pages (Apple, Inc.) durchgeführt. Alle Visualisierungen und graphischen Arbeiten wurden auf einem Apple-Macintosh G4-Powerbook-Computer erstellt.

---

## 9 Zusammenfassung

Der Trennprozess der RP-HPLC wird wesentlich durch die Morphologie der stationärer Phasen und des Trägermaterials bestimmt.

Auf experimentellen Daten sowie auf den Ergebnissen von Molecular-Modeling-Berechnungen beruhende Visualisierungen des Interphasensystems der RP-HPLC können dazu beitragen, dem Verständnis dieser Zusammenhänge näher zu kommen.

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten statistischen und thermodynamischen Berechnungen der Alkylketten-Konformationen sowie die Coarse-Grain-Modellierungen der Alkylkettenbeweglichkeit zeigen Übereinstimmungen mit experimentellen ellipsometrischen Schichtdickenmessungen und NMR-spektroskopischen Ergebnissen.

Für durch Aminopropyl-Spacer angebundene Polar-Embedded-Phasen konnte durch Molecular-Modeling die räumlich sehr enge Packung mit der Möglichkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen den Protonen der R-NH-CO-Gruppen und den Sauerstoffatomen der Amidbindungen nachgewiesen werden.

Untersuchungen zur formselektiven Trennung von Molekülen mit eingeschränkter Beweglichkeit an polymeren C<sub>30</sub>-Trennphasen sowie an der polymerbasierten PEA5-Phase lieferten Ergebnisse, die konsistent sind mit dem Slot-Model von WISE [59]. Die Ergebnisse sind weiterhin konsistent mit der Theorie unterschiedlich beweglicher Domänen verschiedener *trans-gauche*-Konformationen auf der Kieselgeloberfläche. Der Einfluss des Lösungsmittels konnte angesichts der Limitierungen der Rechenkapazitäten im Molecular-Modeling noch nicht hinreichend berücksichtigt werden. Zwei neue hypothetische Mechanismen, die Lateralkoagulation und die Distalkoagulation,

---

wurden in dieser Arbeit vorgeschlagen. Sie könnten die die Ausbildung der experimentell [80] beobachteten Domänen begünstigen.

Wechselwirkungsstudien an Trennphasen vom Pirkle-Typ [88-91] durch Molecular-Modeling konnten die relative Stabilität der angenommenen Wechselwirkungskomplexe für die chiralen Trennungen bestätigen.

---



## **10 Ausblick**

### **10.1 Direkte Abbildung**

Der Erforschung der Vorgänge im Interphasensystem der RP-HPLC bei der Trennung könnten mittelfristig auch direkte Abbildungen mittels nicht auflösungsbegrenzter optischer Superlinsen [96] dienen. Bei dieser revolutionären lichteoptischen Abbildungstechnik werden synthetische nanostrukturierte Materialien mit negativem Brechungsindex (!) eingesetzt. Durch Rekombination des normalen beugungsbedingt degenerierten Lichts mit einer im Nahfeld angeregten Oberflächenplasmonwelle wurde mit diesem Verfahren bereits Abbildungen mit einer Auflösung unter 40 nm erreicht. Obwohl im Augenblick nicht absehbar ist, ob es jemals gelingen wird, diese Methoden auch an anwendungsnahen Systemen wie dem Interphasensystem der RP-HPLC einzusetzen, ist es denkbar, damit zumindest die Verteilung der angebondenen Liganden auf der Kieselgeloberfläche zu untersuchen.

### **10.2 Molekülmechanische Berechnungen**

Obwohl molekülmechanische Kraftfeldrechnungen im Vergleich zu quantenmechanischen Methoden nur bescheidene Ressourcen erfordern, unterliegen selbst diese Methoden in ihrer Anwendbarkeit auf RP-HPLC-Systeme wegen der enormen benötigten Rechenleistungen noch beträchtlichen Einschränkungen. Hierfür gibt es drei Hauptgründe:

#### **10.2.1 Anzahl der notwendigen Rechenschritte**

Um Artefakte zu vermeiden, müssen die Zeitintervalle für einen Rechenschritt bekanntermaßen [97] im Bereich einer bis einer halben Femtosekunde ( $10^{-15}$  s). Da sich Faltungen großer Moleküle über

---

lange Zeiträume erstrecken können, sollten aussagekräftige Simulationen zumindest über mehrere Mikrosekunden ( $10^{-6}$  s) berechnet werden. Die sich daraus ergebende Anzahl von ca.  $10^9$  Rechenschritten kann auch heute nur ansatzweise und unter sehr hohen Kosten auf Großrechnern durchgeführt werden.

### **10.2.2 Größe der Systeme**

Die Dimensionen der molekularen Systeme, die für die anstehenden Fragestellungen von Interesse sind, können heute mit Desktop-Rechnern noch nicht in ihrer Gesamtheit befriedigend behandelt werden. Dies gilt in besonderem Maße für länger-kettige Liganden ( $\geq C_{30}$ ) wie z.B. die sehr langen Poly(ethylen-co-acrylsäure)-Copolymer-Phasen. Da mindestens ein Raum simuliert werden muss, der deutlich größer ist als die Kontourlänge eines Liganden (dieser soll sich ggf. aufstellen oder flach auf das Substrat legen können!), erreicht man schnell Dimensionen von  $(10,0 \text{ nm})^3$  mit  $> 30\,000$  zu simulierenden Atomen. Diese Problematik verschärft sich bei Untersuchungen zur Verteilung der angebondenen Ketten auf der Oberfläche (z.B. hinsichtlich Inselstrukturen), da hierzu noch großflächigere Bereiche simuliert werden müssen.

### **10.2.3 Coarse-Grain-Modeling**

Will man die für die Simulation sehr großer Systeme erforderliche Rechenleistung bei sehr großen Systemen reduzieren, so bietet sich der Einsatz von Coarse-Grain-Simulationen an, wie sie in der Polymerforschung häufig genutzt werden. Sie sind eine logische Fortsetzung des United-Atoms-Ansatzes der Molekülmechanik. Dabei wird nicht mehr jedes Einzelatom simuliert, sondern man versucht, das Verhalten des Gesamtsystems mit sinnvoll gewählten Untereinheiten zu beschreiben, z.B. kann man Alkylketten rein mechanisch als Kette

---

einzelner aus einzelnen CH<sub>2</sub>-Gliedern auffassen oder bei langen Ketten sogar wenige zu einer Kette verbundene Stäbchen als Modell wählen. Zur Realisierung stehen verschiedene physikalische Modellierungs-Programmpakete wie ODE (Open Dynamics Engine) zur Verfügung. Im Rahmen dieser Arbeit wurden erste Versuche in dieser Richtung unternommen. Es zeigte sich allerdings, dass die Ergebnisse solcher Simulationen schwieriger zu interpretieren sind, als bei klassischem Molecular Modeling.

#### ***10.2.4 Physik-Coprozessoren***

In den nächsten Jahren wird es möglich werden, immer größere Systeme auch auf breiter verfügbaren Computern mit Hilfe von Kraftfeldrechnungen zu simulieren. Insbesondere die neuerdings (hauptsächlich für die Spieleindustrie) entwickelten Physik-Koprozessoren [98] werden einen beträchtlichen Leistungssprung auslösen, wenn es gelingt, sie für die Algorithmen bei Molecular Modeling einzusetzen. So könnte die komplexe Oberflächenmorphologie und Funktionsweise der RP-HPLC-Phasen, die ihre Details nun seit ca. 50 Jahren jeweils nur bruchstückhaft preisgibt, endlich realistisch simuliert und aufgeklärt werden.

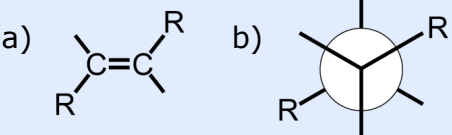
---



## 11 Glossar

Begriff	Erklärung
ab-initio	von Grund auf
Analyten	Bezeichnung für Moleküle, die durch ein chromatographisches System getrennt werden sollen.
<i>cis</i>	<p>Bezeichnung für Substitution an einer C-C-Doppelbindung, bei der die größeren Reste an beiden C-Atomen auf der gleichen Seite der Doppelbindung liegen. (Gegenteil: <i>trans</i>)</p> <div style="text-align: center;"> <p style="margin: 0;"><i>cis</i>                      <i>trans</i></p> </div>
coarse grain modeling	Berechnungsmethoden, die von größeren Modelleinheiten ausgehen, statt die Interaktionen einzelner Atome direkt zu berücksichtigen
Elutionsmittel	Eluens – Zum Herauslösen einer Substanz aus einer stationären Phase verwendetes Lösungsmittel.
<i>gauche</i>	<p>Bezeichnung für die im Vergleich zur <i>trans</i>-Stellung energetisch ungünstigere Stellung an einer drehbaren Einfachbindung, in der die zwei größten Substituenten benachbart sind. (Gegenteil: <i>trans</i>)</p> <div style="text-align: center;"> <p style="margin: 0;"><i>gauche</i>                      <i>trans</i></p> </div>
<i>geminal</i>	Bezeichnung für zwei Substituenten am selben Atom (1,1-Substitution). Gegenteil: <i>vicinal</i>
High Performance Liquid Chromatography	Eines der wichtigsten Trennverfahren in der chemischen Analytik. Substanzgemische, gelöst in einer mobilen Phase, werden aufgrund unterschiedlicher Wechselwirkungen mit einer stationären Phase getrennt.
Hamiltonian	In der klassischen Mechanik eine Funktion, die den Energiezustand des Systems auf Basis von Positions- und Impulsvariablen beschreibt. In der Quantenmechanik steht Hamiltonian für einen Operator, der die Gesamtenergie des Systems ausdrückt.

Ligand	Bezeichnung für einzelne immobilisierte Gruppen der stationären Phase, welche die Wechselwirkung mit Analytmolekülen bestimmen.
Kieselgel	Silicagel – amorphe poröse Modifikation von Siliciumdioxid (SiO <sub>2</sub> ) mit großer innerer Oberfläche. Kieselgel ist hygroskopische und weist an der Oberfläche an Siliciumatomen gebundene HO-Gruppen (Silanolgruppen) auf.
Kraftfeld	Gesamtheit aller Parameter und Kraftkonstanten, die zur Berechnung der Energie eines Moleküls nach der klassischen Mechanik erforderlich sind
mobile Phase	Bezeichnung für das Fluid (Gas, Flüssigkeit oder superkritische Phase) die die bewegte Komponente eines Chromatographiesystems darstellt
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernmagnetische Resonanz) – Eines der wichtigsten Verfahren zur Strukturanalyse chemischer Verbindungen.. Dabei werden Kerne mit magnetischem Moment durch Einstrahlung von Radiowellen zum Umklappen ihres Kernspins veranlasst. Die bei der Relaxation ausgesendete Strahlung wird analysiert und liefert Information über die Bindungsverhältnisse.
Objektgrafik	Vektorgrafik – Methode bei der zeichnerische Objekte (wie Kreise, Polygone, Kurven) als mathematische Elemente mit bestimmten Eigenschaften (Farbe, Füllung, Strichstärke etc.) definiert werden.
Rastergrafik	Bitmap-Grafik – Methode bei der ein Bild durch die Farbwerte (meist Rot, Grün, Blau bzw. alternativ für den Druck Cyan, Magenta, Gelb und Schwarz) vieler nebeneinander liegender Bildpunkte definiert wird.
Phase	Bezeichnung für einen strukturell einheitlicher Bereich eines Stoffes.
Rendern	Prozess, bei dem ein Objektmodell (meist in einem 2D- oder 3D-Vektorformat vorliegend) in eine Rasterrepräsentation überführt wird. Dies ist erforderlich, um Moleküle oder Zeichnungen auf dem Bildschirm anzuzeigen, sie auszudrucken oder in Colagetchnik zusammen mit Fotos weiterzuverarbeiten.
Reversed Phase-Chromatography	Umkehrphasen-Chromatographie – Im Gegensatz zur klassischen Chromatographie an polaren Substanzen wie nativem Kieselgel oder Cellulose unpolare stationäre Phasen mit polaren mobilen Phasen kombiniert.
Selektor	Gruppe einer stationären Phase, die für spezifische Wechselwirkungen mit Analyten verantwortlich ist

Silanolgruppe	Bezeichnung für eine Hydroxylgruppe (-OH) an einem Siliciumatom
SMILES	Simplified molecular input line entry specification – Spezifikation für eine eindeutige Beschreibung molekularer Strukturen durch kompakte Zeichenketten.
Spacer	Spacer-Moleküle wie APS oder GOPS werden bei der Synthese mancher Phasen genutzt, um stationäre Phasen an Kieselgel anzubinden. Sie binden einerseits an die Kieselgeloberfläche und stellen andererseits mit ihrer Amino- bzw. Oxiranstruktur die Bindung zur eigentlichen langkettigen stationären Phase wie PEA her.
stationäre Phase	Bezeichnung für die unbewegliche Phase eines Chromatographiesystems. Bei der Umkehrphasen-Chromatographie bezeichnet man damit die auf einem Trägermaterial immobilisierte wechselwirkende Schicht.
superkritische Phase	Zustand eines Stoffs oberhalb des kritischen Punktes von Druck und Temperatur, an dem keine Unterscheidung zwischen Gas und Flüssigkeit mehr auftritt
<i>trans</i>	Bezeichnung für a) diagonal gegenüberliegende Stellung von Substituenten an einer Doppelbindung und b) für die energetisch günstigste Stellung bei diagonal gegenüberliegenden größten Substituenten an einer drehbaren Einfachbindung. <div style="text-align: center;">  </div>
<i>vicinal</i>	Bezeichnung für zwei Substituenten an benachbarten Atomen (1,2-Substitution). Gegenteil: <i>geminal</i>
Viewer	Allgemeines Hilfsprogramm zum Betrachten eines statischen, dynamischen oder interaktiven Bildmediums (z.B. Bilder, Filme, 3D-Objekte, Moleküle).





## 12 Anhang

**Tabelle 12: Atomdichten in Materialien**

	Atome	MW	Dichte			
		g/Mol	g/cm <sup>3</sup>	Mol/g	Atome/nm <sup>3</sup>	Atome/Å <sup>3</sup>
<b>Wasser</b> H <sub>2</sub> O	3	18	1	0,0556	100,38	0,100
<b>Kieselgel</b> SiO <sub>2</sub>	3	60,084	2,65	0,0166	79,69	0,080
<b>Hexan</b> C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	17	84,16	0,6594	0,0119	80,22	0,080
<b>Octadecan</b> C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	56	254,56	0,7767	0,0039	102,91	0,103

Für die Visualisierung müssen die Atomdichten (Atome pro Volumeneinheit) in den beteiligten Materialien abgeschätzt werden. Diese lassen sich aus der Dichte und den Summenformeln der Substanzen ermitteln.

**Tabelle 13: Atomradien**

OZ	Element	Atomradius pm
1	H	30
2	He	120
6	C	77
7	N	70
8	O	66
14	Si	117
15	P	110
16	S	104
17	Cl	99

**Tabelle 14: Bindungslängen**

Bindung	Bindungslänge	Bindung	Bindungslänge
C-C	1,55 Å	C=O	1,18 Å
C-H	1,09 Å	C-Cl	1,77
C-Si	1,880 Å	N-H	1,01
C-N	1,47 Å	Si-O	1,626 Å
C=N	1,28 Å	Si-Si	2,332 Å
C-O	1,43 Å	Si-H	1,489 Å

**Tabelle 15: Konturlängen von Alkylketten**

Alkyl-C-Atome	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Bindungen	max. Konturlänge (bei all-trans-Konformation)
C <sub>2</sub>	1	1,281 Å
C <sub>4</sub>	3	3,844 Å
C <sub>8</sub>	7	8,970 Å
C <sub>18</sub>	17	21,78 Å
C <sub>30</sub>	29	37,16 Å
C <sub>60</sub>	59	75,60 Å
C <sub>100</sub>	99	126,86 Å
C <sub>120</sub>	119	152,48 Å
C <sub>245</sub>	244	312,65 Å

Die Werte wurden nach Geometrieoptimierung an Modellen im MM+-Kraftfeld gemessen und verifiziert über die Näherungsformel:

$$l_{\max} = N \cdot l \cdot \sin(\Theta/2)$$

$\Theta = 111,5^\circ$  (Bindungswinkel -C-C-C-)

$l = 1,54 \text{ \AA}$  (Bindungslänge -C-C-)

## 13 Literatur

- [1] L. C. Sander, K. E. Sharpless und M. Pursch, *J. Chromatogr. A* **2000**, *880*, 189.
- [2] S. Strohschein, M. Pursch, H. Händel und K. Albert, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1997**, *537*, 4498.
- [3] M. Dachtler, K. Kohler und K. Albert, *J. Chromatogr. B* **1998**, *720*, 211.
- [4] M. Pursch, S. Strohschein, H. Händel und K. Albert, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 386.
- [5] S. Strohschein, G. Schlotterbeck, J. Richter, M. Pursch, L.-H. Tseng, H. Händel und K. Albert, *J. Chromatogr. A* **1997**, *765*, 207.
- [6] A. Kammal-Eldin und L.-A. Appelquist, *Lipids* **1996**, *31*, 671-701.
- [7] R. Wolf, D. Wolf und V. Ruocco, *Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **1998**, *10*, 103-117.
- [8] D. C. Liebler, *Crit. Rev. Toxicol.* **1993**, *23* (2), 147-169.
- [9] M. Tswett, *Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft* **1906**, *24*, 316-323.
- [10] N. Welsch und C. C. Liebmann, *Farben: Natur, Technik, Kunst*, 2. Aufl., Elsevier, München, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2004**.
- [11] S. Bachmann, J. Wegmann UND K. Albert, *Sphärische Kieselgel-Partikel mit unterschiedlichen Durchmessern*, GIT Verlag, **2000**.
- [12] A.M. van Nederkassel et al., *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2003**, *32*, 233-249.
- [13] E. W. Abel, F. H. Pollard, P. C. Uden und G. Nickless, *J. Chromatogr.* **1966**, *22*, 23-28.
- [14] U. D. Neue, *HPLC columns, theory, technology, and practice*, Wiley, New York **1997**.
- [15] J. G. Dorsey und K.A. Dill, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 331 - 346.
- [16] US Environmental Protection Agency, *Fed Regist*, **1979**, *44*, 233.
- [17] J. Itatani et al., *Nature* **2004**, *432*, 867-871.
- [18] C. Hellriegel, U. Skogsberg, K. Albert, M. Lämmerhoffer, N. E. Maier und W. Lindner, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3809-3816.
- [19] *Mediothek Chemie 1, , Atombau, Periodensystem und chemische Bindungen*, CD-ROM, Ernst Klett Verlag, Stuttgart, ISBN 3-12-155020-9 **2002**.
- [20] *Mediothek Chemie 2, , Chemische Prozesse I*, CD-ROM, Ernst Klett Verlag, Stuttgart, ISBN 3-12-155023-3 **2003**.
-

- 
- [21] Mediothek Chemie 3, , Chemische Prozesse II, CD-ROM, Ernst Klett Verlag, Stuttgart, ISBN 3-12-155025-X **2004**.
- [22] N. Welsch, [www.welsch.com/welschware/wpmolecule.php](http://www.welsch.com/welschware/wpmolecule.php) (22.07.2005).
- [23] N. Welsch et. al., Farben 1, Farben der Natur – Natur der Farben, CD-ROM, Welsch & Partner scientific multimedia, Tübingen, ISBN **2004**.
- [24] N. Welsch et. al., Farben 2, Farben der Künstler – künstliche Farben, CD-ROM, Welsch & Partner scientific multimedia, Tübingen, ISBN **2005**.
- [25] National institutions of Health, <http://cactus.nci.nih.gov/services/translate/> (22.07.2005).
- [26] N. L. Allinger, J. Am. Chem. Soc. **1977**, 99, 8127.
- [27] U. Berkert und N. L. Allinger, Molecular Mechanics, American Chemical Society Monograph 177, Washington D.C. **1982**.
- [28] L. C. Sander, K. A. Lippa und S.A. Wise, Anal. Biological Chem. **2005**, 382, 646-668.
- [29] L. C. Sander und S.A. Wise, Anal. Chem. **1995**, 67, 3284-3292.
- [30] H. O. Fatunmbi, M. D. Bruch und M. J. Wirth, Anal. Chem. **1993**, 65, 2048-2054.
- [31] A. Ulman, Chem. Rev. **1996**, 96, 1533-1554.
- [32] A. N. Parikh, M. A. Schivley, E. Koo, K. Seshadri, D. Aurentz, K. Mueller und D. L. Allara, J. Am. Chem. Soc. **1997**, 119, 3135-3143.
- [33] V. Meyer, Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie, 8. Aufl., Salle + Sauerländer Verlag, Frankfurt am Main **1999**.
- [34] B. L. Karger, J. R. Gant, A. Hartkopf und P. H. Weiner, J. Chrom. **1976**, 128, 65-78.
- [35] C. S. Horvath, W. R. Melander und I. Molnar, J. Chrom. **1976**, 125, 129-156.
- [36] C. S. Horvath und W. R. Melander, J. Chrom. Sci. **1977**, 15, 393-404.
- [37] L. C. Sander und S. A. Wise, Anal. Chem. **1984**, 56, 504-510.
- [38] A. Radecki, H. Lamparczyk und R. Kaliszan, Chromatographia **1979**, 12, 595-599.
- [39] S. A. Wise, W. J. Bonnett, F. R. Guenther und W. E. May, J. Chromatogr. Sci **1981**, 19, 457-465.
- [40] L. C. Sander und S.A. Wise, J. Sep. Sci. **2001**, 24, 910-920.
-

- 
- [41] SRM 869a, Column Selectivity Test Mixture for Liquid Chromatography (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons), Certificate of Analysis, NIST, Gaithersburg, MD.
- [42] S. Brunauer, P.H. Emmett, und E. Teller, *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 309.
- [43] F. Bloch, W. W. Hansen und M. Packard, *Phys. Rev.* **1946**, *69*, 127.
- [44] F. Bloch, *Phys. Rev.* **1946**, *70*, 460.
- [45] E. M. Purcell, H. C. Torrey und R. V. Pound, *Phys. Rev.* **1946**, *69*, 37.
- [46] R. R. Andrew, A. Bradbury und R. G. Eades, *Nature* **1959**, *183*, 1802.
- [47] S. R. Hartmann und E. L. Hahn, *Phys. Rev.* **1962**, *128*, 2042.
- [48] E. Bayer, K. Albert, J. Reiners, M. Nieder und D. Müller, *J. Chromatogr.* **1983**, *264*, 197.
- [49] B. Pfeleiderer, K. Albert, E. Bayer, L. van de Ven, J. de Haan und C. Cramers, *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 4189.
- [50] B. Pfeleiderer, K. Albert und E. Bayer, *J. Chromatogr.* **1990**, *506*, 343.
- [51] K. Albert, B. Pfeleiderer, E. Bayer und R. Schnabel, *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, *142*, 35.
- [52] K. Albert und E. Bayer, *J. Chromatogr.* **1991**, *544*, 345.
- [53] [www.wpr.fh-kiel.de/competence/ellipsometer/ellipson.htm](http://www.wpr.fh-kiel.de/competence/ellipsometer/ellipson.htm), (22.07.2005).
- [54] C. Meyer, U. Skogsberg, N. Welsch und K. Albert, *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *382*, 679-690 (Titelblatt).
- [55] C. Meyer, Dissertation, Universität Tübingen **2005** .
- [56] J. Nawrocky, *J. Chromatogr. A* **1997**, *779*, 29-71.
- [57] K. A. Lippa, L. C. Sander, R. D. Mountain, *Analytical Chemistry*, "Molecular Dynamics Simulations of Alkylsilane Stationary Phase Order and Disorder. 1. Effects of Surface Coverage and Bonding Chemistry", Publikation in Vorbereitung.
- [58] K. Albert, B. Evers and E. Bayer, *J. Magn. Reson.* **1985**, *62*, 428.
- [59] S. A. Wise und L. C. Sander, *J. High Resolut. Chromatogr. Commun.* **1985**, *8*, 248-255.
- [60] E. Bayer, A. Paulus, B. Peters, G. Laupp, J. Reiners und K. Albert, *J. Chromatogr.* **1986**, *364*, 25.
- [61] B. Pfeleiderer, K. Albert, K. Lork, K. Unger, H. Brückner und E. Bayer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 327.
-

- 
- [62] Gerd Fischer, , Universität Tübingen **2004** .
- [63] J. Wegmann, Dissertation, Universität Tübingen **2000** S. 27.
- [64] C. Meyer, S. Busche, N. Welsch, J. Wegmann, G. Gauglitz und K. Albert, Anal. Bioanal. Chem. **2005**, *382*, 1465-1471.
- [65] J. Wegmann, Dissertation, Universität Tübingen **2000** S. 45.
- [66] C. Hellriegel, Dissertation, **2001** .
- [67] M. Pursch, L. C. Sander, H. J. Egelhaaf, M. Raiza, S. A. Wise, D. Oelkrug und K. Albert, J. Am. Chem. Soc. **1999**, *121*, 3201-3213.
- [68] K. Albert, J. Sep. Sci. **2003**, *26*, 215-224.
- [69] K. Albert, B. Pfeleiderer und, in: Chemically Modified Surfaces, Vol.2 (D. E. Leyden und W. T. Collins, eds.), Gordon and Breach Science Publ., New York, 1988, S. 287.
- [70] E. Bayer, W. Müller, M. Ilg und K. Albert, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. **1989**, *28*, 1029.
- [71] B. Buszewski, Z. Suprynowicz, P. Staszczuk, K. Albert, B. Pfeleiderer und E. Bayer, J. Chromatogr. **1989**, *499*, 269.
- [72] B. Buszewski, M. El Mouelhi, K. Albert und E. Bayer, J. Liq. Chromatogr. **1990**, *13*, 505.
- [73] K. Albert, B. Pfeleiderer and E. Bayer, in Chemically Modified Surfaces, Vol. 3 (D. E. Leyden and T. Collins, eds.), Gordon and Breach Science Publ., New York, 1990, S. 233.
- [74] B. Buszewski, J. Schmid, K. Albert und E. Bayer, J. Chromatogr. **1991**, *552*, 415.
- [75] K. K. Unger, K. D. Lork, B. Pfeleiderer, K. Albert und E. Bayer, J. Chromatogr. **1991**, *556*, 395.
- [76] K. Albert, J. Schmid, B. Pfeleiderer und E. Bayer, in: Chemically Modified Surfaces, Vol. 4 (H. A. Mottola und J. R. Steinmetz, eds.), Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1992, S. 105.
- [77] M. Hanson, K. Unger, J. Schmid, K. Albert und E. Bayer, Anal. Chem. **1993**, *65*, 2249.
- [78] W. J. Moore und D. O. Hummel, Physikalische Chemie, 2. Aufl., Walter de Gruyter Verlag, Berlin **1976**.
- [79] K. A. Lippa, L. C. Sander, R. D. Mountain, Analytical Chemistry, "Molecular Dynamics Simulations of Alkylsilane Stationary Phase Order and Disorder. 2. Effects of Temperature and Chain Length", Publikation in Vorbereitung.
-

- 
- [80] M. Raitza, Dissertation, Universität Tübingen **1998** .
- [81] S. Singh, J. Wegmann, K. Albert und K. Müller, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 878-888.
- [82] L. C. Sander und S.A. Wise, *J. Chromatogr.* **1984**, *316*, 163-181.
- [83] C. H. Lochmüller, A. S. Colborn, M. L. Hunnicutt und J. M. Harris, *Anal. Chem.* **1983**, *55*, 1344-1348.
- [84] C. H. Lochmüller, A. S. Colborn, M. L. Hunnicutt und J. M. Harris, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4077-4082.
- [85] K. Albert, T. Lacker, M. Raitza, M. Pursch, H.J. Egelhaaf und D. Oelkrug, *Angew. Chem Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 778.
- [86] K. Albert, *Trends Anal. Chem.* **1998**, *17*, 648.
- [87] M. Raitza, M. Pursch, S. Strohschein, K. Albert und L. C. Sander, *GIT Laboratory Journal* **1998**, *2*, 237.
- [88] W. H. Pirkle und D. W. House, *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1957-1960.
- [89] W. H. Pirkle, D. W. House und J. M. Finn, *J. Chrom.* **1980**, *192*, 143-158.
- [90] W. H. Pirkle, C. J. Welch und M. H. Hyun, *J. Chrom.* **1992**, *601*, 126-130.
- [91] C. J. Welch, *J. Chrom.* **1994**, *666*, 3-26.
- [92] F. A. L. Anet und A. J. R. Bourn, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5250.
- [93] D. Neuhaus und P. Williamson, *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis*, VCH, Weinheim **2000**.
- [94] N. Welsch, *Visualisierung des trNOESY in der NMR (Unterrichtsmaterial für Universitäten)*, **2004**.
- [95] L. Zechmeister und P. Tuzson, *Chem. Ber.* **1939**, *72*, 1340-1346.
- [96] N. Fang et al, *Science* **2005**, *308*, 534.
- [97] , *HyperChem Computational Chemistry*, HyperCube Inc., **1998**.
- [98] <http://www.heise.de/newsticker/meldung/57232>, (24.09.2005).
-





Leerseite

### **Meine akademischen Lehrer waren**

K. Albert, E. Bayer, V. Breitenberg, H. Eckstein, M. Fahle, F. Gönnerwein, K.P. Haderler, G. Häfelinger, H. P. Hagenmaier, M. Hanack, P. H. Hof-schneider, G. Jung, H. R. Karfunkel, S. Kemmler-Sack, B. Koppenhöfer, W. Kraus, D. Krug, U. Kunze, E. Lindner, I.-P. Lorenz, H. Oberhammer, F. Oberwinkler, D. Oelkrug, G. Palm, H. Pauschmann, H. Pommer, A. Rieker, O. E. Rössler, H. Schott, V. Schurig, Schwemmler, F. F. Seelig, W. Seyffert, H. B. Stegmann, J. Strähle, H. Suhr, W. Voelter, W. Zeil, W. Zimmermann

---



## Lebenslauf

### Persönliche Daten:



Name: Norbert Joachim Otto Welsch

Geburtsdatum: 9. Juli 1954

Geburtsort: Reutlingen

Anschrift: Lilienweg 1  
D-72072 Tübingen

e-Mail: nw@welsch.com

Familienstand: ledig

Nationalität: deutsch

### Schulische und universitäre Ausbildung

1961-1969 Besuch verschiedener Schulen in Süddeutschland

1971 Realschulabschluss (Eichendorf-Realschule Reutlingen)

Juni 1974 Fachgebundene Hochschulreife (Technisches Gymnasium Reutlingen)

ab Oktober 1974 Studium des Faches Chemie an der Universität Tübingen

- ab 1975           Nebentätigkeit als Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen im Bereich Gaschromatographie und HPLC
- ab 1976           Wiederholte Tätigkeit als Werkstudent im Bereich Materialforschung und Prozessoptimierung für die Halbleiterherstellung bei IBM in Sindelfingen während der folgenden Jahre jeweils in den Semesterferien
- ab Mai 1976       zusätzlich Aufnahme des Studiums der Biologie an der Universität Tübingen
- August 1977      Diplomvorprüfung im Fach Chemie an der Universität Tübingen bestanden
- Oktober 1978     Diplomvorprüfung im Fach Biologie an der Universität Tübingen bestanden
- Juli-August 1979 Praktikum am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried bei München im Bereich Virologie/ DNA-Hybridisierung
- 1981-1983        Diplomarbeit für das Fach Biologie am Institut für organische Chemie der Universität Tübingen über das Thema "Chemische Synthese eines Oligodesoxyribonucleotids"
- Juli 1983         Diplomprüfung an der Fakultät für Biologie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen bestanden mit der Note - sehr gut -

### **Berufstätigkeit, Publikationen und Dissertation**

- 1983-1988        Freiberufliche Tätigkeit als selbstständiger Programmierer und EDV-Berater in der Chemischen Industrie und Nahrungsmittelindustrie
- 1989             Gründung der Firma Welsch & Partner EDV mit Schwerpunkt auf der Programmierung für Apple-Macintosh, Unix- und DOS-Systeme
- 1989-1992        Ausweitung der Tätigkeit auf die Bereiche Softwareschulung für DTP, Bildbearbeitung, Datenbanken

- und Multimedia-Anwendungen mit den Autorensystemen HyperCard und SuperCard
- ab 1994      Anwendungsprogrammierungen mit dem Autorensystem Macromedia-Director
- 1995      Veröffentlichung des ersten Buches über das DTP-Programm "QuarkXPress" beim Verlag Addison-Wesley, Auftragsarbeiten, Seminare
- 1996      Herausgabe weiterer eigener Bücher über Bildbearbeitung mit dem Programm "Photoshop" sowie über "Macromedia Director" beim Springer-Verlag und Übersetzung englischer Fachliteratur ins Deutsche.
- seit 1996      Dozententätigkeit bei Firma IComm Heidelberg für die jährlich Ausbildung zum "Multimedia Projektkoordinator" im Auftrag des Arbeitsamtes Heidelberg.
- Auftragsarbeiten zur CD-ROM-Produktion unter anderem für die Automobilindustrie und für das Kunsthistorische Museum Wien. Einbeziehung neuer Techniken wie Internet, Virtual Reality und 3D. Seminare und Vorträge über Multimedia-Entwicklung
- 1997      Dozententätigkeit bei der "Zelig Schule für Film und Fernsehen" in Bolzano, Italien
- 1998      Herausgabe eines Werkes über "Macromedia Director" in italienischer Sprache beim Springer-Verlag, Milano, Italien
- 2000      Herausgabe weiterer Buchwerke zum Thema "Multimedia" beim Springer-Verlag, Heidelberg
- ab 1998      Gesamtherstellung von Großprojekten aus dem Bereich naturwissenschaftlicher Lehr-CD-ROMs für den Schulmarkt im Auftrag mehrerer Verlage
- 20.04.2001      Geburt meiner Tochter Laura-Marie Charlotte
- 2000 - 2001      Dozent am Bildungszentrum für informationsverarbeitende Berufe, Paderborn für das Studienfach Autorensysteme

- 2002 Herausgabe des Werkes „Farben – Natur · Technik · Kunst“ beim Spektrum Akad. Verlag, Heidelberg sowie in der Folge dreier interaktiver CD-ROMs zum selben Thema
- 2002-2005 Anfertigung einer Dissertationsarbeit unter der Anleitung von Prof. Dr. Klaus Albert am Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen mit dem Thema: „Beiträge zum Verständnis des chromatographischen Trennprozesses der RP-HPLC mit den Mitteln der Computer-Visualisierung“

Tübingen, 28. 09 2005

Norbert Welsch