

Bestimmung von Alkylpolyglucosiden in komplexer Matrix mittels MEKC-PAD und GCxGC-(TOF)MS

**Vom Fachbereich C (Mathematik und Naturwissenschaften)
der Bergischen Universität Wuppertal
zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften
- Dr. rer. nat. -**

genehmigte Dissertation

von

Jane Hübner
(Dipl.Chem.)

aus Jekaterinburg



Wuppertal 2007

Gutachter: Prof. Dr. S. Gäb Analytische Chemie

Gutachter: PD Dr. O. J. Schmitz Analytische Chemie

Diese Dissertation kann wie folgt zitiert werden:

urn:nbn:de:hbz:468-20070615

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=urn%3Anbn%3Ade%3A468-20070615>]

Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und unter Leitung von

Herrn Prof. Dr. S. Gäb

in der Analytischen Chemie der Bergischen Universität Wuppertal

in der Zeit von Februar 2004 bis März 2007

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit im Arbeitskreis Analytische Chemie unter der Leitung von Prof. Dr. S. Gäb eigenständig durchgeführt und keine anderen als die angegebenen Quellen verwendet habe.

Wuppertal, im April 2007

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Mein erster und ganz besonderer Dank geht an Prof. Dr. Sigmar Gäb, der mich freundlich in seine Arbeitsgruppe aufnahm und mir mit den hilfsreichen fachkundigen Gesprächen vielfach beistand.

Herrn PD Dr. Oliver Schmitz danke ich herzlich für seine Unterstützung in Form von konstruktiven und wertvollen Hinweisen, vielseitigen fachlichen Rat, Ideen und Hilfe bei Problemlösungen.

Herrn Axel Brakelmann sowie alle anderen Mitarbeitern der Feinmechanischen Werkstatt danke ich für die exzellente Umsetzung technischer Ideen.

Herrn Prof. Dr. W. Schuhmann (Ruhr-Universität Bochum, Abteilung Elektronik und Sensorik) danke ich für die Kooperation und die zur Verfügung gestellte Apparatur bei der Herstellung von Arbeitselektroden.

Ein besonderes Dankeschön geht an Rahil Taheri für ihre freundliche und sachkundige Einführung in die Welt der zweidimensionalen Gaschromatographie.

Ich bedanke mich auch bei Herrn Dr. W. Turner für seine kompetente Hilfe bei den Übersetzungen einiger englischer Texte und seine stete Diskussionsbereitschaft.

Allen Kollegen des Arbeitskreises „Analytische Chemie“ danke ich für die freundliche, angenehme und hilfsbereite Arbeitsatmosphäre und ausgezeichnete Zusammenarbeit. Insbesondere bin ich Frau Dr. Michaela Wirtz für ihre Inspirationen und ihr Dasein in einer für mich schwierigen Zeit dankbar.

Mein herzlicher Dank geht an Herrn Bernd Wallmichrath für die Durchsicht des Manuskripts.

Ich bedanke mich bei der Firma Cognis für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Meinen Eltern

sowie

Alexander und Gregor

ABSTRACT

In the work presented here, two independent methods were developed for the analysis of alkylpolyglucosides (APGs) in technical mixtures and in commercial products. The methods are based on micellar electrokinetic chromatography with pulsed amperometric detection (MECC-PAD) and two-dimensional gas chromatography with mass-spectrometric detection (GCxGC-MS). While, of the two detection principles applied, MECC-PAD exhibits high selectivity for the analysis of the APGs, GCxGC-(TOF)MS, because of its high separative power, makes possible the collection and quantification not only of the APGs, but also, after appropriate sample preparation, of other classes of tensides.

For carrying out the MECC-PAD analysis, a detection cell was designed, with which disturbances of the detection signal could be eliminated. This made possible routine measurements with high reproducibility. An important step in the separation and optimization of the method was the use of two different electrolytes for the separation and detection. During the APG investigations two separation buffers were used:

Dehydol LS 50 (2500 mg/mL); SDS (12 mM) in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9.5)

Na-tetradecylsulfonate (3 mM); Brij 58 (5000 mg/mL); in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9.5); ACN 25 %(v/v)

Separation buffer (1) was suitable for the determination of short-chained APGs in technical products without sample preparation. The analysis of APG[®]-220 (Cognis Deutschland GmbH & Co. KG) resulted in 16.18 ± 0.31 % n-octyl- α -D-glucopyranoside (α C₈) and 8.22 ± 0.26 % n-octyl- β -D-glucopyranoside (β C₈) and confirmed thereby quite well the manufacturer` data (23.26 % $\alpha\beta$ C₈). The detection limit of the method were to 0.070 g/L (α C₈) and 0.075 g/L (β C₈). With neither separation buffers was it not possible to achieve complete separation of all homologues and anomers. Thus the separation of anomers with the separation buffer (1) succeeded up to $\alpha\beta$ C₁₀, but all higher homologues were detected unseparated as a single signal. Although separation buffer (2) permitted homologue separation up to $\alpha\beta$ C₁₂, no separation of anomers could be observed. This separation buffer was preferred because with it the homologue distribution in technical and commercial products could be determined.

With GCxGC-(TOF)MS the separation limits of the MECC-PAD could be overcome. In the case of the APGs, the sample preparation amounted to nothing more than silylation. Thus not only the homologues (discrimination according to alkyl chain length and number of glucose units) and anomers (α,β), but even the pyranosides and furanosides could be separated completely from each other. In addition, the high peak capacity and the better detection limit of GCxGC-(TOF)MS made possible the determination of other tenside classes like fatty alcohol ethoxylates (FAEO) and cocamidopropylacetobetaines (CAPB) in a single run. In order to determine the fatty alcohol sulfates (FAS) and fatty alcohol ether sulfates (FAES) at the same time, the samples had to be hydrolyzed before the silylation. In an excellent confirmation of the manufacturer's data, the analysis of a model shampoo (Cognis Deutschland GmbH & Co. KG) resulted in 1.96 ± 0.02 % (APG), 2.5 ± 0.4 % (FAEO), 4.5 ± 0.03 % (CAPB) and 6.5 ± 1.2 % (FAES).

APG [®]	Alkylpolyglucosid
ACE	Affinitätskapillarelektrophorese
ACN	Acetonitril
BSTFA	N,O-Bis-trimethylsilyl-trifluoroacetamid
CAPB	Cocamidopropylbetain
CE	Kapillarelektrophorese
CEC	Kapillarenelektrochromatographie
CGE	Kapillargelelektrophorese
CI	Chemische Ionisation
CITP	Kapillarisotachophorese
CMC	Kritische Micellare Konzentration
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
C _x	Alkylkettenlänge
Da	Dalton
DC	Dünnschichtchromatographie
DE	Dextroseäquivalent
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
dp	Polymerisationsgrad
EC	Elektrochemische Detektion
EI	Elektronenstoßionisation
EKC	elektrokinetische Chromatographie
ELSD	Evaporative Light Scattering Detektor
EOF	Elektroosmotischer Fluss
EPC	Electronic Pressure Control System
ESI	Elektronensprayionisation
E _y	Ethoxylierungsgrad
FAEO	Fettalkoholethoxylate
FAES	Fettalkoholethersulfate
FAS	Fettalkoholsulfate
FID	Flammenionisationsdetektor
FT	Fourier Transformation
GC	Gaschromatographie
GCxGC	zweidimensionale comprehensive Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
HLB	Hydrophilie-Lipophilie-Balance
HPIC	Hochleistungionenchromatographie

HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
HT-GC-Säule	Hochtemperatur-GC-Säule
ID	Innendurchmesser
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
IR	Infrarotspektroskopie
k'	Retentionsfaktor
Kap.	Kapitel
LAS	Lineare Alkylbenzolsulfonate
LC	Flüssigchromatographie
LI	Laserionisation
LIF	Laser-induzierte Fluoreszenz
LMCS	Longitudinally Modulated Cryogenic System
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization
MEKC	Micellare Elektrokinetische Chromatographie
MS	Massenspektrometrie
MSTFA	N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid
m/z	Masse/Ladungs-Verhältnis
N	Zahl der theoretischen Böden
NaTDS	Natrium-Tetradecylsulfonat
NIR	Nahinfrarot Spektroskopie
NIST-Library	National Institut of Standards and Technology Library
OD	Aussendurchmesser
PAD	Pulsamperometrische Detektion
pK_a	Säurekonstante
POE	Polyethylenoxid
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVC	Polyvinylchlorid
R_s	Auflösung
RID	Refraktive Index Detektor
SAS	Sekundäres Alkansulfonat
SDS	Natrium Dodecylsulfat
SFC	Superkritical Fluid Chromatography
SIMS	Secondary Ion Mass Spectrometry
SPE	Festphasenextraktion
$S_{y,x}$	Reststandardabweichung
t_{EOF}	Migrationszeit des EOF
$t_{f,\alpha}$	Faktoren für die zweiseitige Fragestellung

THF	Tetrahydrofuran
t_{MC}	Migrationszeit der Micelle
TMCS	Trimethylchlorsilan
TMS	Trimethylsilyl
TMSI	Trimethylsilylimidazol
TOF	Flugzeitanalysator
t_R	Migrationszeit eines Analyten
Trisil Z	TMSI/MSTFA in Pyridin
TSP-MS	Thermospray Mass Spectrometry
UV	Ultraviolett
α	Selektivitätsfaktor
αC_8	n-Octyl- α -D-Monoglucopyranosid
αC_{10}	n-Decyl- α -D-Monoglucopyranosid
αC_{12}	n-Dodecyl- α -D-Monoglucopyranosid
βC_8	n-Octyl- β -D-Monoglucopyranosid
βC_{10}	n-Decyl- β -D-Monoglucopyranosid
βC_{12}	n-Dodecyl- β -D-Monoglucopyranosid
βM_{10}	n-Decyl- β -D-Maltosid
βM_{12}	n-Dodecyl- β -D-Maltosid
βM_{14}	n-Tetradecyl- β -D-Maltosid
βM_{16}	n-Hexadecyl- β -D-Maltosid
F_x	Monoglucofuranoside
μ ECD	Mikro-Elektroneneinfangdetektor

1	<i>EINLEITUNG</i>	1
1.1	Tenside	1
1.2	Alkylpolyglucoside	2
1.2.1	Herstellung von APGs.....	3
1.2.2	Chemische Charakterisierung der APGs.....	6
1.2.3	Eigenschaften und Einsatzbereiche der APGs	7
1.3	Stand der Tensidanalytik	10
2	<i>THEORETISCHER TEIL: GRUNDLAGEN DER ANGEWANDTEN ANALYTIK</i> ..	13
2.1	Trennmethoden	13
2.1.1	Kapillarelektrophorese	13
2.1.2	Komprehensive zweidimensionale Gaschromatographie (GCxGC).....	16
2.2	Detektorsysteme	19
2.2.1	Pulsamperometrische Detektion (PAD)	19
2.2.1.1	Konfiguration der amperometrischen Messzelle und Anforderungen	21
2.2.1.2	Arbeitselektroden	23
2.2.2	Massenspektrometrie (MS)	25
3	<i>AUFGABENSTELLUNG UND ZIELSETZUNG</i>	29
4	<i>ERGEBNISSE UND DISKUSSION</i>	30
4.1	MEKC-PAD	30
4.1.1	Elektrochemische Zelle	30
4.1.2	Neukonstruktion der Messzelle	31
4.1.3	Detektionsbedingungen	36
4.1.4	Entwicklung einer MEKC-PAD-Methode für APGs	36
4.1.4.1	Post-column Elektrolyt-Modifizierung	36
4.1.4.2	Optimierung des Trennelektrolyten	37
4.1.4.3	Analyse von technischen APG-Produkten	57
4.1.4.4	Quantifizierung von APGs in technischen Produkten.....	59
4.1.4.5	Analyse von kommerziellen Produkten	63
4.2	GCxGC-(TOF)MS-Analyse von APG-Gemischen	66
4.2.1	Grundlagen	66
4.2.2	Analysenbedingungen	68
4.2.3	Untersuchung von technischen Gemischen.....	71
4.2.4	Untersuchung von Handelsprodukten	79
4.2.5	Quantifizierung der Komponenten eines Shampoos	82
4.3	Vergleich der APG-Befunde mittels MEKC-PAD und GCxGC-(TOF)MS	84
5	<i>ZUSAMMENFASSUNG</i>	87
6	<i>EXPERIMENTELLER TEIL</i>	89
6.1	Apparatur	89
6.2	Chemikalienliste	90
6.3	Vorbereitung von Lösungen und Proben	92
6.3.1	MEKC-PAD	92
6.3.2	GCxGC-(TOF)MS	94
7	<i>ANHANG</i>	97

7.1	Tabellen	97
7.2	Abbildungen	101
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	118
9	TABELLENVERZEICHNIS	120
10	LITERATURVERZEICHNIS	121

1 EINLEITUNG

Nur wenige wissen, wie viel man wissen muss, um zu wissen, wie wenig man weiß.

J. W. von Goethe

Der Seifenverbrauch ist zugleich ein Maßstab der Kultur eines Landes.

J. von Liebig

1.1 Tenside

Der Begriff „Tenside“ (von lat. „tendere“ – spannen) wurde 1964 von *Götte* eingeführt und bezeichnet oberflächenaktive Stoffe. Die Tenside sind die wichtigsten Wirkstoffe aller Reinigungs- und Waschmittel. Ihre Reinigungswirkung basiert auf der Benetzung, Ablösung und anschließender Dispergierung der Schmutzpartikel. Dabei tritt eine Reduzierung der Oberflächenspannung des Wassers an der Wasser/Öl- bzw. Wasser/Luft-Grenze auf. Die Herstellung von einfachsten Tensiden (Seifen) war schon den alten Ägyptern, Babyloniern und auch den Germanen bekannt.

Die Oberflächenaktivität der Tenside wird durch ihre amphiphile molekulare Struktur verursacht. Bei dem hydrophoben Molekülteil handelt es sich um einen Kohlenwasserstoffrest. Nach ihrem hydrophilen Molekülteil werden Tenside klassifiziert und in anionische, kationische, zwitterionische und nichtionische unterteilt:

- Anionische Tenside sind die Hauptbestandteile praktisch aller Wasch- und Reinigungsformulierungen und stellen nach wie vor die bedeutendste Gruppe dar. Als Ladungsträger kommen Sulfat-, Sulfonat-, Phosphat- oder Carboxylatgruppen vor.
- Kationische Tenside (Fettaminsalze und quartäre Ammoniumverbindungen) tragen eine positive Ladung und werden als so genannte Avivagemittel und Antistatika in Weichspülern und kosmetischen Pflegepräparaten eingesetzt. Als waschaktive Substanzen sind sie nicht gebräuchlich.
- Zwitterionische Tenside haben amphoterer Charakter, tragen in einem Molekül sowohl eine positive als auch eine negative Ladung (Betainstruktur). Diese Tenside haben geringere Bedeutung und werden meistens in Shampoos, Körperpflegemitteln, Schaumbädern und milden Haushaltsreinigern eingesetzt.

-
- Nichtionische Tenside sind ungeladen und enthalten alkoholische Hydroxylgruppen oder Polyethylen- bzw. Polypropylenoxidketten, die zur negativen Polarisierung ihrer hydrophilen Molekülteile beitragen. Sie werden meistens als Co - Tenside eingesetzt. Dank ihres guten Waschvermögens (besonders bei niedrigen Temperaturen), ihrer Toleranz gegen Wasserhärte, guter Löslichkeit und vollständiger biologischer Abbaubarkeit nimmt der Marktanteil der nichtionischen Tenside seit Jahren zu.

Einen Überblick über die Strukturen, Eigenschaften und Einsatzbereiche gängiger Tenside geben die Tabellen 7.1 und 7.2 im Anhang [1-5].

Zu den wichtigsten Eigenschaften der Tenside zählt ihre Fähigkeit, oberhalb der kritischen micellaren Konzentration (CMC) große Molekülaggregate (Micellen) auszubilden. In stark konzentrierten Lösungen bilden sich sogar flüssigkristalline Phasen [6-8]. Den Effekt der Micellenbildung machen sich einige analytische Methoden wie z.B. die Micellare Elektrokinetische Chromatographie (MEKC) zu Nutze. Da diese Methode in der vorliegenden Arbeit für die Analyse der Alkylpolyglucoside eingesetzt wurde, sind genaue Kenntnisse über die Eigenschaften der Tenside von großer Bedeutung.

1.2 Alkylpolyglucoside

Alkylpolyglucoside (APGs) - sind nichtionische Tenside auf Zuckerbasis, die im Gegensatz zu herkömmlichen Tensiden aus nachwachsenden Rohstoffen hergestellt werden. Die Moleküle der APGs enthalten glycosidisch am Glucoserest gebundene Alkylketten, deren Längen zwischen 8 und 18 Kohlenstoff - Atomen variieren.

Die Entwicklung zu kommerziellen APGs [9] fand in folgenden Schritten statt:

- 1870. *M.A.Colley*. Reaktion von Dextrose mit Acetylchlorid zum 1-Chlor-tetra-acetylglucopyranosid [10]
- 1879. *A. Michael*. Arylierung eines 1-Chlor-tetra-O-acetylglucopyranosids zu einem Arylglucosid [11]

- 1893. *E. Fischer*. Erste Synthese von Glucosiden (Abbildung 1.1): Glycosylierung von Glucose mit einem Alkohol ($C < 4$); hohe Stabilität im alkalischen Milieu wurde dokumentiert [12]
- 1901. *W. Koenigs und E. Knorr*. Stereoselektive Glycosylierung [13]
- 1911. *E. Fischer, B. Helferich*. Kombination der Fischer-Methode mit der Koenigs-Knorr-Synthese; Gewinnung eines langkettigen Alkylglucosids mit oberflächenaktiven Eigenschaften [14]
- 1940 – 1950. Entwicklung eines industriellen Herstellungsverfahrens in Deutschland [15, 16]
- 1990-e Jahre. Entscheidende Verbesserung des Qualität-Preis-Verhältnisses. Beginn der Entwicklung von Produktformulierungen

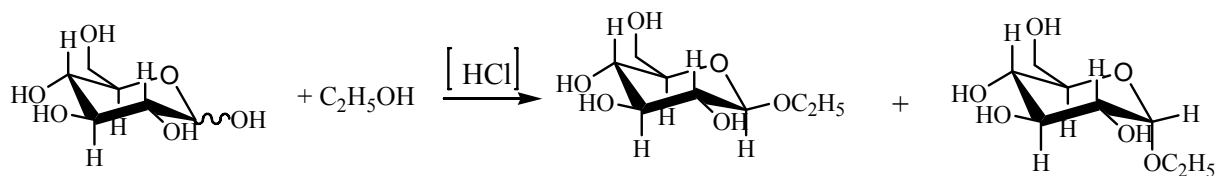


Abbildung 1.1: Glycosylierung nach *E. Fischer*

1.2.1 Herstellung von APGs

Das Herstellungsverfahren ist relativ umweltverträglich und basiert auf der nach Emil Fischer benannten Reaktion (Fischer-Glycosylierung) - einer sauer katalysierten Reaktion von Glucose mit Alkoholen. In der Industrie werden im wesentlichen zwei Herstellungswege für die APG-Produktion angewandt (Abbildung 1.2), deren Auswahl nur von den Edukten abhängig ist [9]:

- bei der direkten Umsetzung wird als Edukt feinpulverisierte Glucose, Glucosemonohydrat oder Glucosesirup mit einem hohen Dextroseäquivalent (Hydrolysegrad nach der enzymatischen Hydrolyse von Stärke) ($DE > 96$) eingesetzt und mit einem Fettalkohol alkyliert
- bei der zweistufigen Reaktionsdurchführung wird als Ausgangsstoff Glucosensirup mit einem niedrigeren Dextroseäquivalent ($DE < 96$) oder Stärke verwendet. Im ersten

Schritt werden die eingesetzten Kohlenhydrate depolymerisiert und anschließend mit einem Alkohol (n-Butanol, Propylenglycol) alkyliert. Bei dem zweiten Herstellungsschritt werden die gewonnenen Glucoside mit einem Fettalkohol umgesetzt.

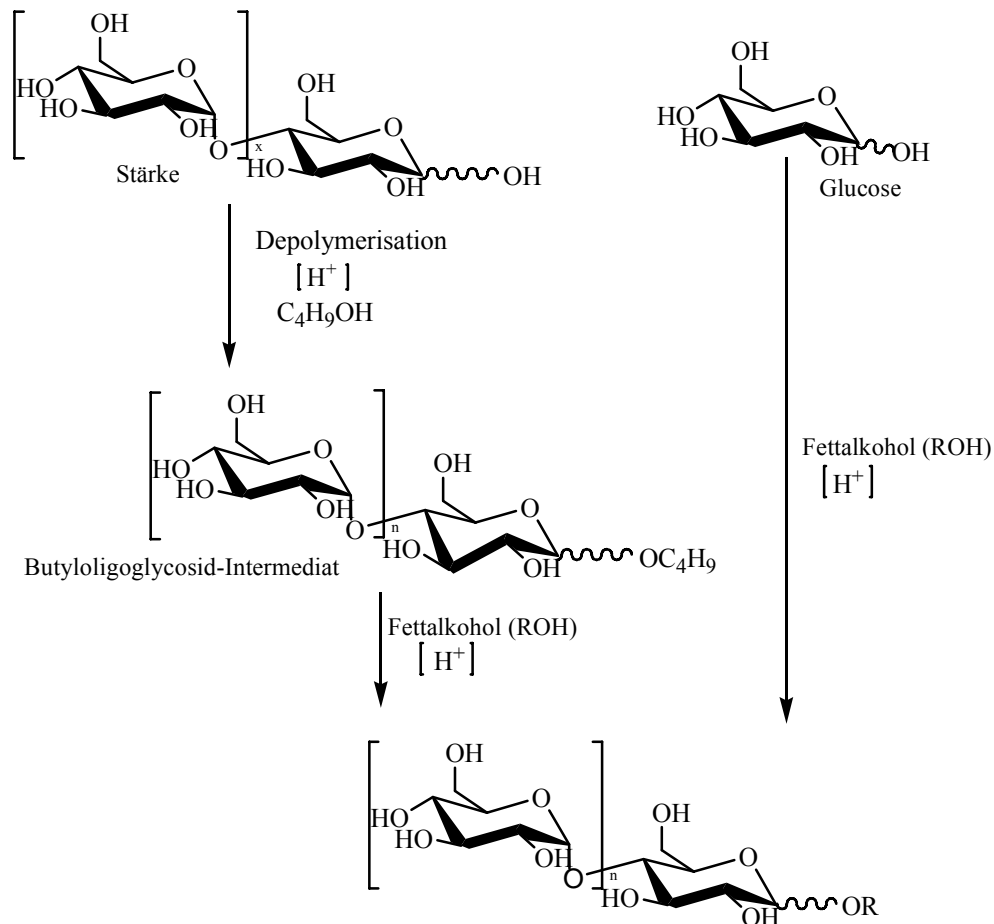


Abbildung 1.2: Industrielle Herstellungswege der APGs

Die verwendeten Fettalkohole werden aus natürlichen Fetten und Ölen durch die Fettspaltung und anschließende Hydrierung gewonnen. Kokos- und Palmkernöle haben durchschnittliche Kettenlängen von 12 - 14, Palm- und Rapsöle von 16 - 18 Kohlenstoffatomen.

Glucosesirupe mit gleichem DE-Wert können je nach Hydrolysemethode unterschiedliche Kohlenhydratzusammensetzungen aufweisen und demnach eine Vielzahl von Produkten bei weiterer Umsetzung verursachen. Die Produkte der beiden Verfahren sind in ihren Zusammensetzungen und Eigenschaften nahezu identisch; beide Herstellungswege führen zu

komplexen Gemischen von verschiedenen Homologen und Isomeren, während die stereoselektiven Synthesen (Abbildung 1.3) bestimmte Reaktionsprodukte liefern [17].

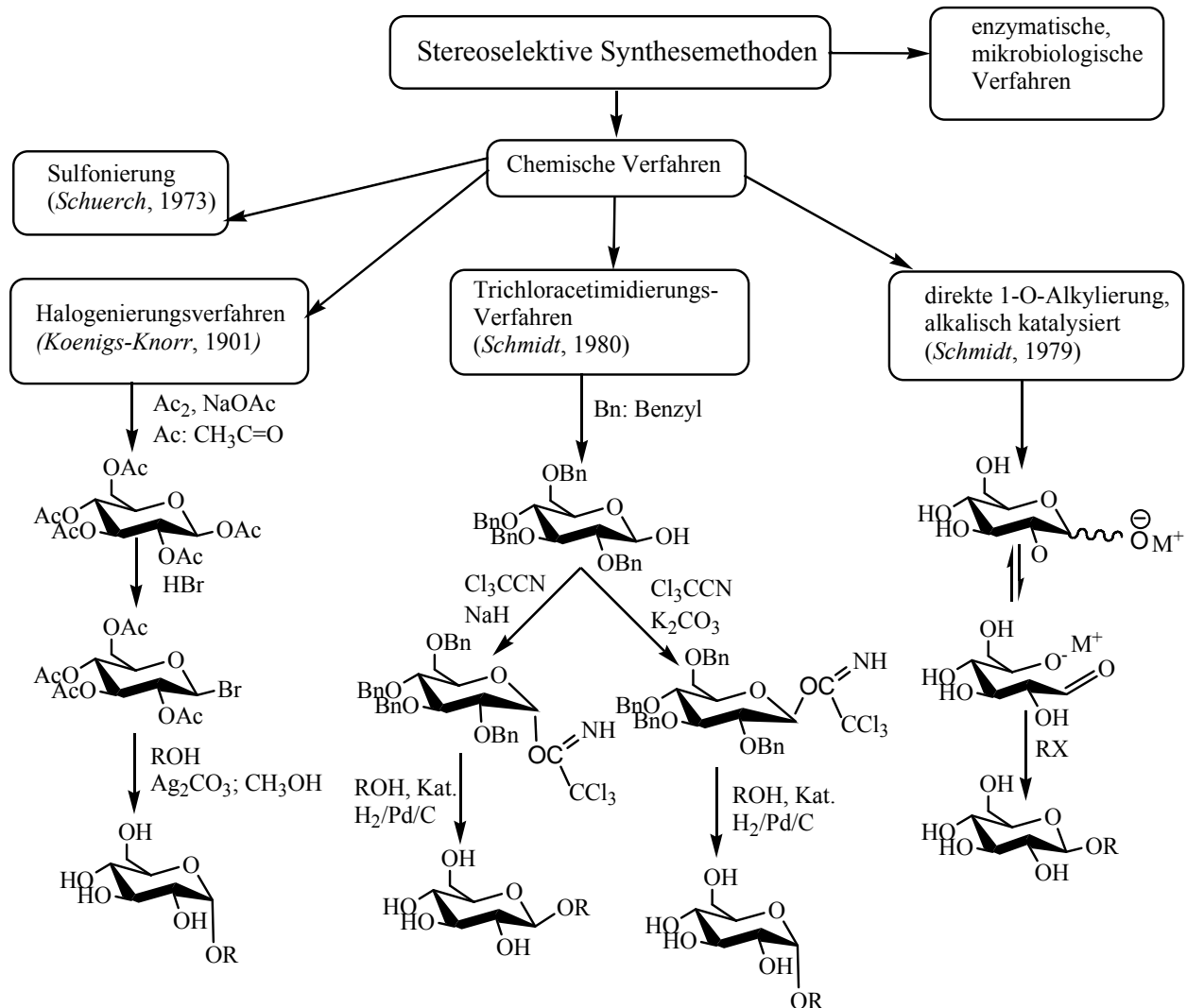


Abbildung 1.3: Stereoselektive Synthesemethoden von APGs

Das Vorhandensein einer primären Hydroxylgruppe ermöglicht die gezielte Einführung verschiedener funktioneller Gruppen (z.B. durch die Veresterung, Ethoxylierung, Sulfatierung, Aminierung oder Umesterung von Alkylcarbonaten) [9, 18-20]. Dadurch werden Tenside mit bestimmten nützlichen Eigenschaften synthetisiert. Abbildung 1.4 gibt einen Überblick über die möglichen APG - Derivate.

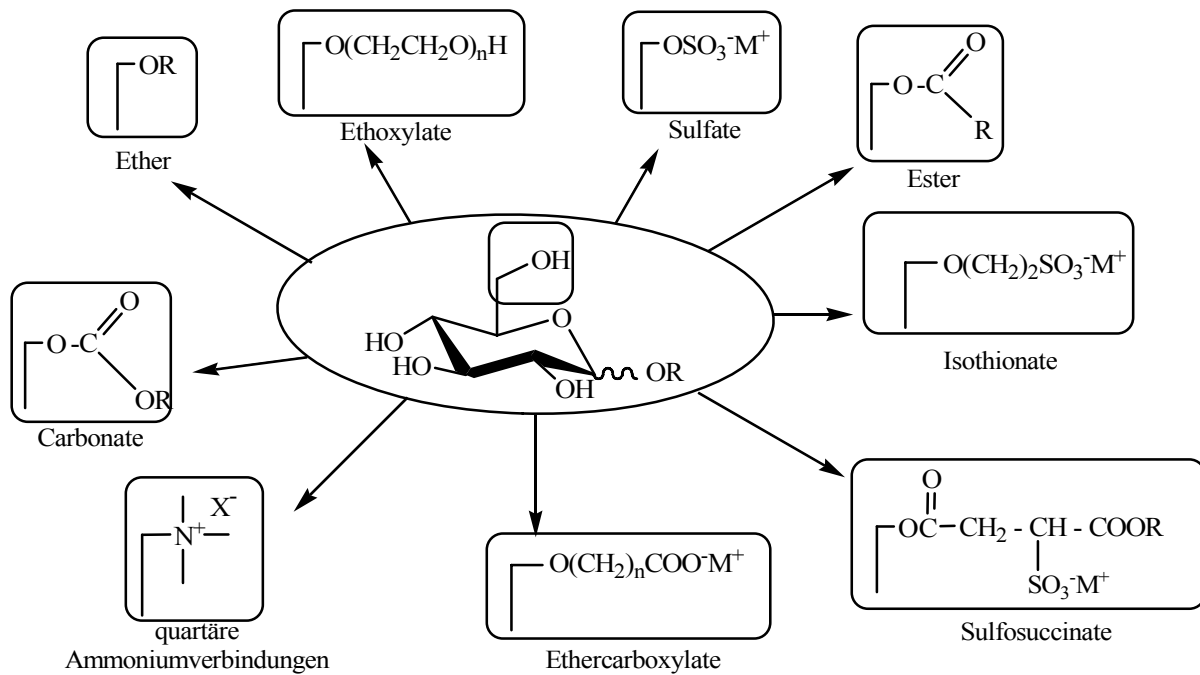


Abbildung 1.4: Derivate der APGs

1.2.2 Chemische Charakterisierung der APGs

APGs sind in Elektrolytlösungen und im alkalischen Milieu stabil, während sie im sauren pH-Bereich zu Alkoholen und Zuckern hydrolysiert werden.

Eine APG - Mischung stellt ein dreidimensionales Bild dar, in dem neben der ersten (Zahl der Glucosenringe) und der zweiten (Länge des Alkylrestes) die dritte Dimension die α/β -Isomerenverteilung ist. So lassen sich bei einem Alkyldiglycosid bereits mehr als 30 Isomere formulieren. Eine APG-Mischung mit nur zwei verschiedenen Alkylketten und einem angenommenen maximalen Glucosidierungsgrad von drei hat nur sechs Homologe, gleichzeitig aber mehr als 1000 Isomere [21].

Die chemische Charakterisierung technischer APG - Gemische erfolgt über die Angabe der vorkommenden Alkylreste und über die Zahl der durchschnittlich an einem Alkylrest gebundenen Glucoseeinheiten, was als Polymerisationsgrad (dp) bezeichnet wird. Industriell hergestellte Formulierungen weisen in der Regel einen Polymerisationsgrad zwischen 1,4 und 1,7 auf. Der Polymerisationsgrad lässt sich über das Konzentrationsverhältnis von eingesetztem Kohlenhydrat zu Fettalkohol in der Reaktionsmischung steuern und ist für die

Einschätzung der Löslichkeit und der Hydrophilie des Produktes sehr wichtig. Der Polymerisationsgrad in einem Gemisch wird nach der Formel berechnet [22, 23]:

$$dp = \sum_{i=1}^{\infty} \frac{P_i}{100} * x_i \quad \text{mit } x_i = \text{Oligomere und } P_i = \text{molarer Anteil des Oligomers}$$

Die Zusammensetzung verschiedener technischer APG-Gemische ist in Tabelle 1.1 aufgeführt.

Handelsname	Alkylkettenlänge	dp	INCI - Bezeichnung
Glucopon 215 CS UP	C ₈₋₁₀	1,5	Capryl Glucoside
Glucopon 220 UP	C ₈₋₁₀	1,5	keine Angabe
Glucopon 225 DK	C ₈₋₁₀	1,7	Decyl Glucoside
Glucopon 600 CS UP	C ₁₂₋₁₄	1,4	Lauryl Glucoside
Glucopon 650 EC	C ₁₂₋₁₄	1,7	Coco Glucoside
Plantacare 818 UP	C ₈₋₁₆	1,4	Coco Glucoside
Plantacare 1200 UP	C ₁₂₋₁₆	1,4	Lauryl Glucoside
Plantacare 2000 UP	C ₈₋₁₆	keine Angabe	Decyl Glucoside
Agnique PG 8166	C ₈₋₁₆	1,6	keine Angabe
Agnique PG 264-G	C ₁₂₋₁₄	1,4 – 1,5	keine Angabe
Agnique PG 8105	C ₈₋₁₀	1,5	keine Angabe
Agnique PG 8107	C ₈₋₁₀	1,7- 1,75	keine Angabe
Agnique PG 266	C ₁₂₋₁₆	1,6	keine Angabe

**Tabelle 1.1: Zusammensetzung der technischen APG-Gemische (www.cognis.com)
INCI: International Nomenclature of Cosmetic Ingredients**

1.2.3 Eigenschaften und Einsatzbereiche der APGs

Der Konsum von Tensiden ist gigantisch: allein im Jahr 2005 wurden mehr als eine Million Tonnen Wasch- und Reinigungsmittel in Deutschland verbraucht. Durch die damit hervorgerufene Belastung des Abwassers ist die Abbaubarkeit eines Tensids ökologisch betrachtet besonders wichtig [24]. Tenside aus nachwachsenden Rohstoffen dienen als Nahrungsgrundlage für Bakterien und sind daher besser abbaubar als Tenside, die aus der Petrochemie gewonnen werden (Tabelle 1.2). Der Abbauweg der APGs besteht in der

Spaltung der glucosidischen Bindung, was zunächst zur Bildung von Glucose und einem Fettalkohol führt, die nachfolgend zu CO₂ und H₂O umgewandelt werden [25].

Tensid	Abbau in %
Seife ^{a)}	100
APG ^{a)}	100
FAS ^{a,b)}	» 99
SAS ^{b)}	» 92
LAS ^{b)}	» 65

a) auf Basis nachwachsender Rohstoffe

b) auf petrochemischer Basis

Tabelle 1.2: Abbaubarkeit von Tensiden [26, 27]

Die Synergismen der APGs mit den anionischen Tensiden ermöglichen die Reduzierung des Waschstoffgehaltes in Wasch- und Reinigungsformulierungen bei gleichbleibender Waschwirkung. In einer 1:1 Mischung mit anionischen Tensiden (z.B. FAS, SAS und LAS) wird eine Steigerung der Waschleistung bewirkt, die größer als die addierte Waschleistung der einzelnen Tenside ist (Synergieeffekt) [9].

Genau so positiv wirkt sich die Zugabe von APGs zu den Wasch-, Shampoo- und Duschgelrezepturen auf die Bildung und Stabilität des Schaums aus. Zudem verringert die Zugabe von APGs die auf anionischen Tensiden beruhenden Hautirritationen. APGs verstärken die antibakterielle Wirkung von z.B. Chlorhexydin in Oralhygieneformulierungen (dadurch kann dessen Anteil reduziert werden, was sich auch auf die Umwelt positiv auswirkt) [9].

Die wichtigsten Funktionen eines Tensids sind die Reduzierung der Oberflächenspannung (was meistens als Schaumbildung erkannt wird) und ab einer bestimmten Konzentration der Aufbau von intermolekularen Strukturen, den sogenannten Micellen, die für den Waschprozess selbst verantwortlich sind. Die kritische micellare Konzentration (CMC) ist von der Alkylkettenlänge und dem Polymerisationsgrad (dp) eines Tensids abhängig. Die gebräuchlichsten APGs haben in der Regel eine niedrigere CMC als anionische Tenside gleicher Kettenlänge (Tabelle 1.3). Im Vergleich zu Alkylsulfaten gleicher Kettenlängen weisen APGs eine stärkere Reduzierung der Oberflächenspannung an der Phasengrenze Wasser - Öl auf [28].

APG [®]	CMC [mmol/L]
Octylglucosid	25 - 30 [29]
α -Decylglucosid	0,35 [21]
β -Decylglucosid	2,2 [30]
α -Dodecylglucosid (60 °C)	0,072 [21]
β -Dodecylglucosid	0,19 [29]
Tetradecyl- α -glucosid	0,022 [21]
Tetradecyl- β -glucosid	0,015 [21]
n-Octylmaltosid	19,5 [31]
n-Decylmaltosid	1,8 [31]
n-Dodecyl- β -maltosid	1,8 [29]
n-Dodecyl- α -maltosid	0,156 [21]

Tabelle 1.3: Kritische micellare Konzentrationen von APGs

Einzigartig sind die Eigenschaften der APGs (Tabelle 1.4), durch die sich diese Substanzen in

Kettenlänge	Eigenschaften	Einsatzbereich
C ₈₋₁₀	gutes Reinigungsvermögen und gute Waschleistungen bei niedrigen Temperaturen; niedrige Toxizität; Stabilität im alkalischen Milieu; chemische Inertheit zu Kunststoffen	Haushaltsreiniger
C ₈₋₁₆	Stabilität in den Elektrolytlösungen; biologische Abbaubarkeit; gutes Emulgier- und Schaumvermögen	Formulierungen für die Landwirtschaft
	gutes Reinigungsvermögen; niedrige Toxizität	Oralhygienemittel
C ₁₂₋₁₄	Hautfreundlichkeit; niedrige Toxizität; gutes Emulgier- und Schaumvermögen, biologische Abbaubarkeit	Körperpflege- und Reinigungsmittel
	Substantivität zum Haar, Stabilität im alkalischen Milieu, gutes Emulgiervermögen, Mikroemulsionsbildung, Unterstützung der Wirkstoffeffizienz	Haarpflege-, Farb- und Dauerwellenmittel
	Wasserhärtestabilität, gutes Schaumvermögen und gute Waschleistungen bei niedrigen Temperaturen, Stabilität im alkalischen Milieu, enzymstabilisierende Wirkung, niedrige Toxizität	Waschmittel
	gutes Schaumvermögen, niedrige Toxizität, pflanzliche Herkunft, biologische Abbaubarkeit	Handgeschirrspülmittel
C ₁₆₋₁₈	gutes Emulgiervermögen, Mikroemulsionsbildung	Kosmetika

Tabelle 1.4: Eigenschaften und Einsatzbereiche der APGs

der letzten Zeit als umweltfreundliche, effektive und moderne Tenside etabliert haben. Ihre pflanzliche Herkunft und vollständige biologische Abbaubarkeit bieten ideale Marketingmöglichkeiten. Perfekte dermatologische Verträglichkeit und gute Schaumbildung nach subjektiven Beurteilungen der Verbraucher haben die Bade- und Waschformulierungen mit APGs sehr populär gemacht [9].

1.3 Stand der Tensidanalytik

Die umfassende Analyse eines tensidhaltigen kommerziellen Produktes ist ein mehrstufiger und zeitaufwendiger Prozess. Die wichtigsten Schritte in der Tensidanalytik sind die Anreicherung, die Isolierung von Tensidgemischen aus Vielkomponentensystemen, die Auftrennung der Gemische in ihre Komponenten und schließlich deren Identifizierung und quantitative Bestimmung. Etwas detaillierter ist das folgende, sich auf Waschmittel beziehende Schema (Abbildung 1.5):

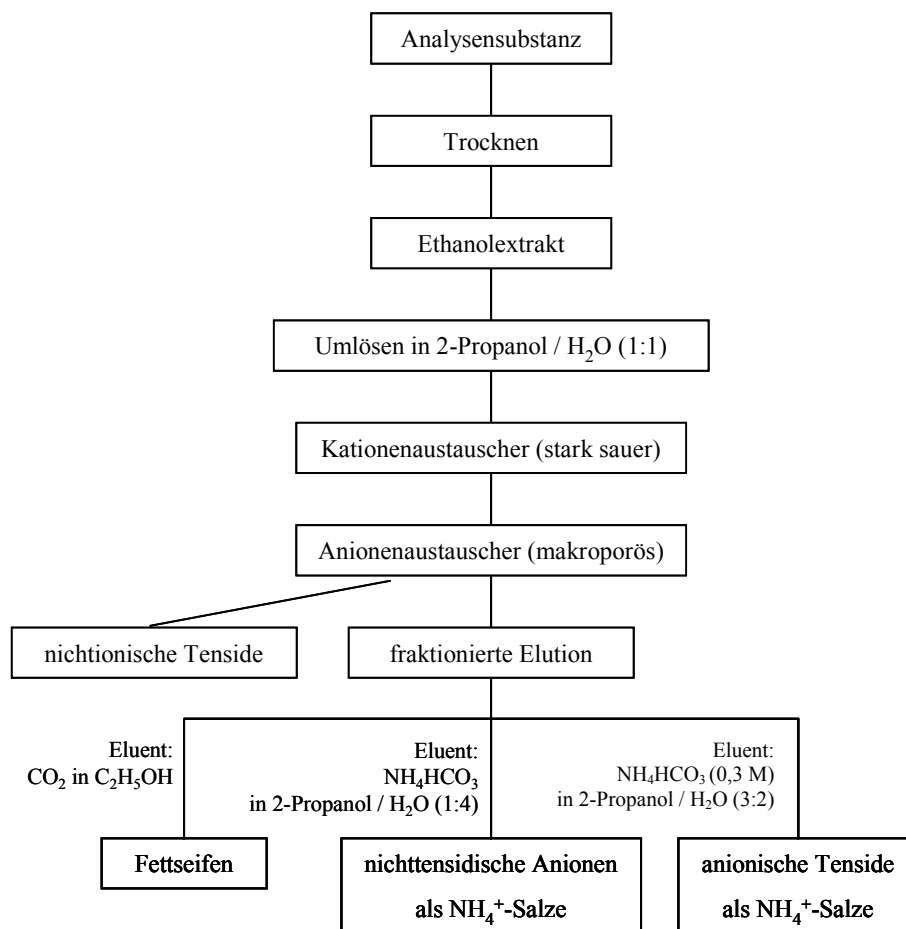


Abbildung 1.5: Schema zur Auftrennung von Komponenten einer Waschformulierung nach Hummel [32]

Dem oben gezeigten Schema entsprechend besteht die weitere Aufarbeitung einer tensidhaltigen Probe in nachfolgender Trennung und Detektion der Komponenten der erhaltenen Fraktionen. In der Regel kommen dafür als Trennmethode die DC, HPLC und GC zum Einsatz. Es wurden mehrere Kopplungstechniken für die Detektion verschiedener Tensidklassen nach deren entsprechender Trennung entwickelt: ionische Tenside lassen sich mit einem Leitfähigkeits-Detektor, Aromaten mit einem UV- oder LIF-Detektor und FAEO mit einem Brechungsindex-Detektor nachweisen.

Die komplette simultane Analyse eines Gemisches, in dem alle Tensidklassen vorhanden sind, ist schwer realisierbar. Zumeist werden daher nur ausgewählte Tensidklassen nebeneinander analysiert. Beschrieben wird z.B. eine HPLC-HPLC-Methode zur Analyse komplexer Tensidgemische (kationische, zwitterionische, anionische und nichtionische) [33]. Dabei ist ein hoher HPLC-seitiger Geräteaufbau (Fraktionierung der Analyten) und der gleichzeitige Einsatz mehrerer Detektoren erforderlich. Beschrieben wurde eine HPIC-Methode für die simultane Bestimmung einiger kationischer, anionischer (LAS) und nichtionischer (FAEO) Tenside [34]. Für die Detektion verschiedener Tensidklassen kamen auch hier mehrere Detektoren in Einsatz (ELSD, UV, MS). APGs werden wegen ihrer schlechten Detektierbarkeit und Koelution mit anderen nichtionischen Tensiden in diesen ausgearbeiteten Methoden nicht erwähnt.

In letzter Zeit wurden einige auf der CE basierende Methoden zur Trennung von einzelnen Tensidklassen und ausgewählten Tensidgemischen entwickelt. Zum Nachweis wurden dazu unterschiedliche Detektoren abhängig von der Tensidart angewandt (DAD-, UV-, LIF-, ELSD-, konduktometrischer oder potentiometrischer Detektor) [35-53]. Die Detektion von APGs wird dabei nicht diskutiert. Eine umfassende Analyse eines tensidhaltigen Produktes, in dem APGs vorhanden sind, fordert entweder Kopplung einer hocheffizienten Trennmethode mit einem universellen Detektor oder eine selektive Probenvorbereitung (z.B. Trennung der APGs von den FAEOs) und Einsatz mehrerer (manchmal hochspezifischer) Detektoren zum Nachweis einzelner Tensidklassen.

Das Interesse der Industrie an der Entwicklung unkomplizierter und schneller Methoden zur APG-Analyse im Rahmen einer Produkt- und Rohstoffkontrolle ist in den letzten Jahren gewachsen und wird mit der zunehmenden Produktion dieser Tenside begründet.

Publiziert wurde eine titrimetrische Methode nach Sulfatierung der APGs mit DMF-SO₃ [54, 55]. Die photometrische Bestimmung nach Hydrolyse und Umsetzung der freigesetzten Glucose mit 9,10-Dihydro-9-oxoanthracen (Anthron) ermöglicht die summarische Erfassung der APGs [56]. Bekannt ist auch eine auf enzymatischer Hydrolyse basierende Methode [25, 57], die aber für die Bestimmung der APGs in realen Proben wegen der hemmenden Wirkung anderer Probenkomponenten nicht geeignet ist. Gut entwickelt sind dagegen die Methoden zur Bestimmung von APGs im Rahmen der Produktkontrolle mittels IR- oder NIR-Spektroskopie in Kombination mit modernen chemometrischen Verfahren [58, 59].

Die industriell hergestellten APG-Formulierungen sind komplexe Gemische. Sehr lange wurde eine analytische Beschreibung als kaum realisierbar angesehen. Eine komplette Einzelkomponentenanalytik setzt eine vollständige Trennung der APGs nach ihren Alkylketten und Glucosilierungsgraden neben der Trennung aller Struktur- und Stereoisomeren (Pyranoside/Furanoside und α/β) voraus. Abhängig von ihren Alkylkettenlängen (C₈ - ₁₈) und Glucosilierungsgraden (1-12) weisen die APGs stark unterschiedliche Eigenschaften auf, was allerdings ihre Analyse enorm erschwert. Als Trennmethode kommen überwiegend die DC [9, 60-65], wobei das Hauptproblem die Visualisierung der APGs ist, die MEKC [66], die HPLC auf einer Umkehrphase (C_{8/18}) [9, 61, 63, 67] und die GC sowohl nach [68] als auch ohne Silylierung [63] zum Einsatz. Die Trenneffizienz der DC und der HPLC ist nicht ausreichend und ermöglicht zumeist nur die Bestimmung der Alkylkettenverteilung. Die gaschromatographischen Verfahren haben den Vorteil, dass Informationen über die Alkylketten- und Isomerenverteilung und die Polymerisierungsgrade der Analyten gewonnen werden können. Das Problem ist die niedrige Flüchtigkeit der APGs, was eine prächromatographische Derivatisierung der Probe notwendig macht. Hohe Polarität der Polyglucoside und damit verbundene starke Retardierung im chromatographischen System fordern den Einsatz von HT (Hochtemperatur)-GC-Säulen.

Aufgrund fehlender chromophorer und fluorophorer Gruppen in APG-Molekülen ist ihre direkte Detektion mit einem UV- oder LIF-Detektor ausgeschlossen. Als sehr spezifisch gilt ein amperometrischer Detektor (PAD-Modus) [61, 66]. In der Literatur werden auch die Bestimmungen mit ELSD [61, 69], RID [9, 63], FID [9, 70] und verschiedenen MS-Systemen (z.B. MALDI-(TOF)MS [68, 71, 72], EI-MS, SI-MS [73], TSP-MS [67], ESI-MS [74]) beschrieben.

2 THEORETISCHER TEIL: GRUNDLAGEN DER ANGEWANDTEN ANALYTIK

2.1 Trennmethoden

2.1.1 Kapillarelektrophorese

Die Tatsache, dass geladene Teilchen in Lösung durch Anlegen eines elektrischen Feldes nach ihrer Ladung und Größe getrennt werden können, ist seit dem 19. Jahrhundert bekannt und wurde zur Fraktionierung kolloidaler Gemische angewandt. Die theoretischen Grundlagen dieser Methode wurden 1897 von *Kohlrausch* in der Publikation „Ueber Concentrations-Verschiebungen im Innern von Lösungen und Lösungsgemischen“ erläutert. Die heutzutage existierenden Elektromigrationsmethoden unterscheiden sich in ihren Trennmechanismen und können in kapillarelektrochromatographische und kapillarelektrophoretische Methoden unterteilt werden. Tabelle 2.1 gibt einen Überblick über gängige Trennmethoden.

Elektromigrationsmethode	Trennmechanismus	Beispiele
Kapillarelektrophoretische Methoden	Trennung nach Ladung und Größe im elektrischen Feld	Kapillarelektrophorese (CE) Kapillargelelektrophorese (CGE) Kapillarisotachophorese (CITP)
Kapillarelektrochromatographische Methoden	Trennung durch chromatographische Prozesse mittels Antrieb eines elektrischen Feldes (elektroosmotischer Fluss)	Micellare elektrokinetische Chromatographie (MEKC) Kapillarelektrochromatographie (CEC) Affinitätskapillarelektrophorese (ACE)

Tabelle 2.1: Überblick der gängigen kapillarelektrophoretischen Methoden [75]

Die Vielseitigkeit der Elektromigrationsmethoden erlaubt die Lösung vieler Trennprobleme. Klassische kapillarelektrophoretische Methoden scheiden für die Analyse von APGs aufgrund ungenügender Acidität aus: unter typischer CE-Bedingung (pH ca. 2 - 10) liegen diese Analyten neutral vor. Die Micellare Elektrokinetische Chromatographie (MEKC) ist im Fall der APGs die Methode der Wahl.

Micellare elektrokinetische Chromatographie (MEKC)

Die MEKC ist eine kapillarelektrophoretische Methode für die Trennung von neutralen Analyten. Ihre Entwicklung begann 1984 mit den Pionierarbeiten von *Terabe* [76-78].

Die MEKC stellt eine Symbiose der Kapillarelektrophorese und der Verteilungschromatographie dar. Die Zugabe von Tensiden in Konzentrationen oberhalb der CMC zum Trennelektrolyt bewirkt die Ausbildung von Micellen. Ein Trennpuffer wird dabei als ein chromatographisches Zweiphasensystem betrachtet, in dem die Micellen eine pseudostationäre und die wässrige Puffermatrix die mobile Phase darstellen. Das Trennprinzip in der MEKC für ungeladene Analyten ist vergleichbar mit dem der Verteilungschromatographie. Die Trennung basiert auf der unterschiedlichen Verteilung der Analyten in der pseudostationären micellaren und der mobilen wässrigen Phase. Die beobachtete Mobilität der ungeladenen Analyten ist von den Verteilungskoeffizienten zwischen beiden Phasen abhängig.

Die Micellen haben im Inneren hydrophoben Charakter und sind im Falle anionischer und kationischer Tenside geladen, was neben der Wechselwirkung mit den ungeladenen Analyten eine elektrophoretische Mobilität dieser Agglomerate verursacht. Die Micellen geladener Tenside weisen entsprechend ihrer Ladungen eine elektrophoretische Mobilität auf: negativ geladene (z.B. SDS) zur Anode, positiv geladene (z.B. CTAB) zur Kathode. Aufgrund des zur Kathode gerichteten elektroosmotischen Flusses gelangen aber alle Micellen und somit auch die Analyten letztendlich zur Kathode.

Die Migrationsreihenfolge der Komponenten eines Gemisches wird, wenn die Komponenten keine eigene elektrophoretische Mobilität besitzen, durch die Verteilungskoeffizienten der Komponenten festgelegt. So erreichen die polarsten Analyten (die sich nur in der wässrigen Phase aufhalten) den Detektor zusammen mit dem EOF (t_{EOF}). Die hydrophobsten Analyten, die sich ausschließlich in den Micellen befinden, erreichen den Detektor mit der t_{MC} . Der Zeitraum $t_{MC} - t_{EOF}$ wird als „micellares Fenster“ bezeichnet. Durch die Größe des micellaren Fensters lässt sich das Trennvermögen eines MEKC - Systems einschätzen.

Bestimmung der chromatographischen Größen in der MEKC

Der entscheidende Unterschied zwischen Verteilungschromatographie und MEKC liegt darin, dass die micellare Phase nicht immobilisiert ist, sondern sich in eine von der Analysenbedingung abhängige Richtung bewegt.

Der Retentionsfaktor k' für einen Analyten ist definiert als Quotient aus Masse der Analyten in der stationären Phase durch die Masse in der mobilen Phase (für ein Segment der Trennstrecke) [79]

$$k' = \frac{t_r - t_{EOF}}{t_{EOF} (1 - t_r/t_{MC})}$$

t_r	- Migrationszeit des Analyten
t_{MC}	- Migrationszeit der Micellen
t_{EOF}	- Durchflusszeit

Die Differenz in den Verteilungskonstanten der Probenkomponenten charakterisiert die Selektivität eines MEKC-Systems und wird über den Selektivitätsfaktor α nach folgender Formel eingeschätzt [79]:

$$\alpha = k_1/k_2$$

Die hohe Trennleistung in der MEKC beruht auf der extrem hohen Trennstufenzahl (Zahl der theoretischen Böden). Für die Auflösung R_s zweier Analytzoneen gilt die Gleichung [79]:

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} * \frac{\alpha - 1}{\alpha} * \frac{k_2'}{1 + k_2'} * \frac{1 - \frac{t_0}{t_{MC}}}{1 + k_1' * \frac{t_0}{t_{MC}}}$$

MEKC - Apparatur und typische Analysenbedingungen

Der Aufbau einer MEKC-Apparatur ist mit dem für die CZE identisch.

Der elektrische Kontakt der Trennkapillare mit der Spannungsquelle wird durch Platzieren von zwei inerten Elektroden und beider Kapillarenden in den Elektrolytgefäßen erreicht.

Die Probeninjizierung wird hydrodynamisch (durch Anlegen von Druck oder Vakuum) oder elektrokinetisch (durch Anlegen einer Spannung) gewährleistet. Detektiert wird zumeist mit UV- und LIF-Detektoren.

Typische elektrophoretische Bedingungen sind in Tabelle 2.2 zusammengestellt:

Länge der Kapillare	60 - 60 cm
Innendurchmesser der Kapillare	50 - 75 μm
Volumen der Kapillare	0,4 - 6,6 μL
Probenvolumen	1 - 10 nL
Probenzonenlänge	0,4 - 0,6 cm
Angelegte Spannung	-30 - +30 kV
Stromstärke	- 200 - +200 μA
elektrische Feldstärke	100 - 500 V/cm
Wärmeentwicklung	0,1 - 10 W
pH-Wert des Elektrolyten	2 - 10
Micellenbildnerkonzentration SDS	oberhalb der CMC 10 – 100 mM

Tabelle 2.2: Typische elektrophoretische Bedingungen

2.1.2 Komprehensiv zweidimensionale Gaschromatographie (GCxGC)

Die Gaschromatographie ist die gebräuchlichste Analysenmethode zur Bestimmung komplexer Stoffgemische. Sie eignet sich für Substanzen, die sich im Temperaturbereich von 50 – 320 °C verdampfen lassen, ohne sich dabei undefiniert zu zersetzen.

Das Trennprinzip der Gaschromatographie basiert auf den unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten der Analyten zwischen der stationären und der mobilen Phase. In der Kapillargaschromatographie befindet sich die stationäre Phase (Polysiloxanschicht) an der Innenseite der Kapillare, als mobile Phase (Trägergas) dienen Helium, Stickstoff oder Wasserstoff.

Zur Analyse von nicht flüchtigen Stoffen werden prächromatographische Derivatisierungen durchgeführt. Als Derivatisierungsreagenzien werden z.B. Trimethylsulfoniumhydroxid oder

N,N-Dimethylformamid-Dimethylacetal (Methylierung), N,O-Bis(trimethylsilyl)-trifluoracetamid (Silylierung) oder fluorierte Säurenanhydride (Acylierung) eingesetzt.

Eine Weiterentwicklung der GC ist die zweidimensionale comprehensive Gaschromatographie (GCxGC) [80-88]. Das Prinzip besteht in der Verwendung zweier gekoppelter Kapillarsäulen und deren voneinander unabhängigen Trennmechanismen (Orthogonalität der Trennung).

Die erste Trennkapillare hat eine Länge von 15 - 30 m (ID 0,25 - 0,32 mm) und ist innen mit einer unpolaren stationären Phase (100 % Dimethylpolysiloxan oder 5 % Phenylpolysiloxan/95 % Dimethylpolysiloxan; Filmdicke 0,1 - 1 μm) beschichtet. Durch vorprogrammiertes kontinuierliches Erhöhen der Temperatur findet in dieser Säule die Trennung der Analyten nach ihren Dampfdrücken statt. Die zweite Kapillare ist viel kürzer (1 - 2 m, ID 0,1 mm; Filmdicke 0,1 μm) und stellt eine „Fast-GC“-Säule dar, in welcher die Trennung aufgrund ihrer geometrischen Parameter und geringer Phasendicke sehr schnell abläuft. Abhängig von der Stärke der Wechselwirkung (π - π , Wasserstoffbrückenbindung, sterische Effekte etc.) eines Analyten mit dem polaren Phasenmaterial (z.B. 35 - 50 % Phenylpolysiloxan/35 - 50 % Dimethylsiloxan, Polyethylenglykol oder Cyanopropyl-Phenyl-Dimethylpolysiloxan) findet in der zweiten Säule die Trennung nach den „Polaritäten“ statt [89]. Die Verweildauer der Analyten in der zweiten Trennkapillare beträgt 1 - 10 s, daher werden die Trennungen in dieser Säule als isotherm betrachtet. Um die Bedingung einer isothermen Trennung auf der zweiten Säule zu erfüllen, darf die maximale Heizrate bei GCxGC-Analysen lediglich 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ betragen. Alle anderen Säulenkombinationen (polar - unpolar; polar - polar) erfüllen nicht die Kriterien der Orthogonalität, da die aus der ersten Trennsäule erhaltenen Fraktionen in ihrer Polarität und Flüchtigkeit nicht homogen sind.

In der Nähe der Kopplungsstelle beider Säulen wird ein Modulator angebracht [90, 91], der folgende Funktionen hat:

- Fokussieren der Probenfraktionen aus der ersten Trennkapillare
- Remobilisierung der erhaltenen Fraktionen
- Separate Injektion der angesammelten Probefraktionen in die zweite Trennkapillare

Wenn die Trennung in der zweiten Säule schneller ist als die Dauer der Modulation, was durch die Phasendicke und Länge der zweiten Säule gesteuert wird, bleibt die aus der ersten Säule erhaltene Trennung „konserviert“.

Entwickelt wurden drei Arten von Modulatoren: Thermo-, Kryo- und Ventilmodulatoren [87, 89, 91-94]. Besonders verbreitet ist das von *Mariott* konstruierte „*longitudinally modulated cryogenic system*“ (LMCS). Das Hauptkonstruktionselement ist eine auf einem Schlitten befestigte Kühlfalle [92, 95]. Ein Kühlzyklus (4 s) beginnt auf einer vorgegebenen Position mit der Abkühlung einer Probenfraktion im Modulationssäulenabschnitt. Nach der Kühlung (durch Expansion von flüssigem CO₂) bewegt sich die Kühlfalle entlang der Kapillare Richtung Injektor, und der zuvor gekühlte Säulenabschnitt wird durch die umgebende Ofentemperatur wieder erhitzt (0,5 s) [95-97]. Somit wird die fokussierte Probenfraktion remobilisiert und auf die zweite Säule weitergeleitet. Nach der Remobilisierungsphase kehrt die Kühlfalle auf die ursprüngliche Position zurück und der nächste Zyklus beginnt.

Das in dieser Arbeit eingesetzte GCxGC-System verwendet einen *4-Jet*-Modulator [87, 89, 98]. Er besteht aus zwei Paaren von Düsen (je eine Heiz- und Kühldüse), die alternierend in Funktion treten, wodurch die aus der ersten Säule erhaltene Auftrennung beibehalten bleibt. Die Kühlung einer Probenfraktion findet in einer vorprogrammierten Sequenz mit gasförmigem N₂ (bei der Temperatur des flüssigen N₂), die Remobilisierung durch heiße Luft statt. Die Dauer der *Hot-* bzw. *Cold-Jet*-Einwirkung ist von der Natur der Probe abhängig: bei hochsiedenden Analyten sind längere, bei leichtsiedenden kürzere Erhitzungszeiten notwendig.

Die typische Peakbreite in der klassischen GC beträgt 20 s. Die Modulation führt zur Aufteilung jeder Probenzone der ersten Säule in mehrere Fraktionen (z.B. bei einer Modulationszeit von 4 s in mindestens fünf Fraktionen [99]). Die Fokussierung dieser Fraktionen im Modulator bewirkt eine Steigerung der Effizienz und der Empfindlichkeit. Allerdings ist zur Erfassung der erzeugten schmalen Signale (typische Peakbreite < 200 ms) der zweiten Säule ein schneller Detektor mit einem kleinen inneren Volumen und kurzer Ansprechzeit erforderlich, wie z.B. FID [93, 100, 101], μ ECD (Mikro-Elektroneneinfangdetektor) [102, 103] oder (TOF)MS [101, 104, 105].

2.2 Detektorsysteme

2.2.1 Pulsamperometrische Detektion (PAD)

Bei der elektrochemischen Detektion dient ein elektrischer Parameter, der über einen bestimmten Bereich der Analytkonzentration proportional ist, als analytisches Signal. In der klassischen Amperometrie wird bei konstantem Potential der durch die Phasengrenze (Elektrolytlösung / Elektrode) fließende Oxidations- bzw. Reduktionsstrom registriert, der durch die elektrochemische Umwandlung elektroaktiver Spezies an der Arbeitselektrode erzeugt wird. Die Selektivität der Methode wird durch die Auswahl der angelegten Spannung erreicht, die dem Potential des Diffusionsstroms des Analyten entspricht.

Die Elektrodenreaktion stellt eine elektrochemische Zweiphasenreaktion dar und findet in drei Schritten statt:

- Transport des Analyten aus der Lösung zur Elektrodenoberfläche (durch Konvektion, Diffusion oder Migration geladener Analyten im elektrischen Feld)
- Elektronentransfer zwischen Analyt und Elektrode an der Phasengrenze Lösung / Elektrode
- Abtransport der Reaktionsprodukte von der Elektrodenoberfläche

Die Geschwindigkeit der Elektrodenreaktion kann von jedem dieser Prozesse limitiert werden. Dabei kommt es zu Abweichungen von den Gleichgewichtsgalvanispannungen, was als Überspannung (Konzentrations-, Diffusions-, Aktivierungs- oder Durchtrittsüberspannung) bezeichnet wird.

Als Arbeitselektrode werden meistens Festkörperelektroden (Kohlenstoff, Silber, Platin usw.) und als Referenzelektrode Silber / Silberchlorid- oder Kalomelektroden eingesetzt.

Kohlenhydrate und andere aliphatische Verbindungen lassen sich mittels klassischer Amperometrie bei konstantem Potential an einer Edelmetallelektrode (Au, Pt) nicht bestimmen. Infolge der Adsorption von Reaktionsprodukten an der Elektrodenoberfläche kommt es praktisch sofort zur drastischen Verminderung der Elektrodenaktivität [106, 107]. Die Aktivierungs-Energie der Anodenoxidation aliphatischer Spezies ist sehr hoch und wird durch Delokalisierung der freien Elektronen der Reaktionsintermediate an den unbesetzten Elektronenorbitalen des Elektrodenmaterials herabgesetzt [107, 108]. Die Elektroden-

passivierung kann vermieden werden, indem an die Arbeitselektrode mit einer bestimmten, sich wiederholenden Frequenz unterschiedliche Potentiale angelegt werden. Ursprünglich wurde dieses als "gepulste amperometrische Detektion" (PAD, *pulsed amperometric detection*) bezeichnete Verfahren von *Hughes* et al. zur Detektion von Zuckern entwickelt [109-111].

Die für eine PAD - Bestimmung geeigneten Potentiale können einem Zyklovoltammogramm entnommen werden [106, 112]. Sie werden in Inkrementen von 1000 ms an die Arbeitselektrode gelegt.

Im Gegensatz zur klassischen Amperometrie wird der resultierende Strom nur in kurzen Zeitintervallen (beim Anlegen eines benötigten Detektionspotentials) gemessen. Dabei finden an der Elektrodenoberfläche folgende Prozesse statt:

- Oxidation des Analyten
- Adsorption der Reaktionsprodukte
- Oxidation des Elektrodenmaterials

Die dadurch kontaminierte Elektrodenoberfläche (Bildung einer Oxidationsschicht) behindert die Übertragung des Sauerstoffes vom Wasser zu Intermediaten, die aus den Analyten gebildet worden sind [108, 113, 114].

Im nächsten Schritt wird das angelegte Potential erhöht, um sowohl die vollständige Oxidation der Oberfläche der Edelmetallelektrode (bis zu den entsprechenden Oxiden) als auch eine oxidative Desorption der auf ihrer Oberfläche adsorbierten Reaktionsprodukte zu erreichen [108]. Es wurde empirisch festgestellt, dass dabei auch elektrochemisch passive organische Verbindungen anodische Signale zeigen können [115].

Im Anschluss daran erfolgt die Reaktivierung der Elektrodenoberfläche bei einem extrem niedrigen Potential, wobei alle gebildeten Oxide kathodisch gelöst und von der Elektrodenoberfläche entfernt werden. Abbildung 2.1 zeigt eine für die APG-Analyse typische PAD-Potentialwelle [66]. Ein derartiger Detektionsmechanismus wird an Goldelektroden unter stark alkalischen Bedingungen für Glucose, einfache Kohlenhydrate, Oligosaccharide, Polyalkohole und n-Alkanolamine [112, 116-120] vorgeschlagen.

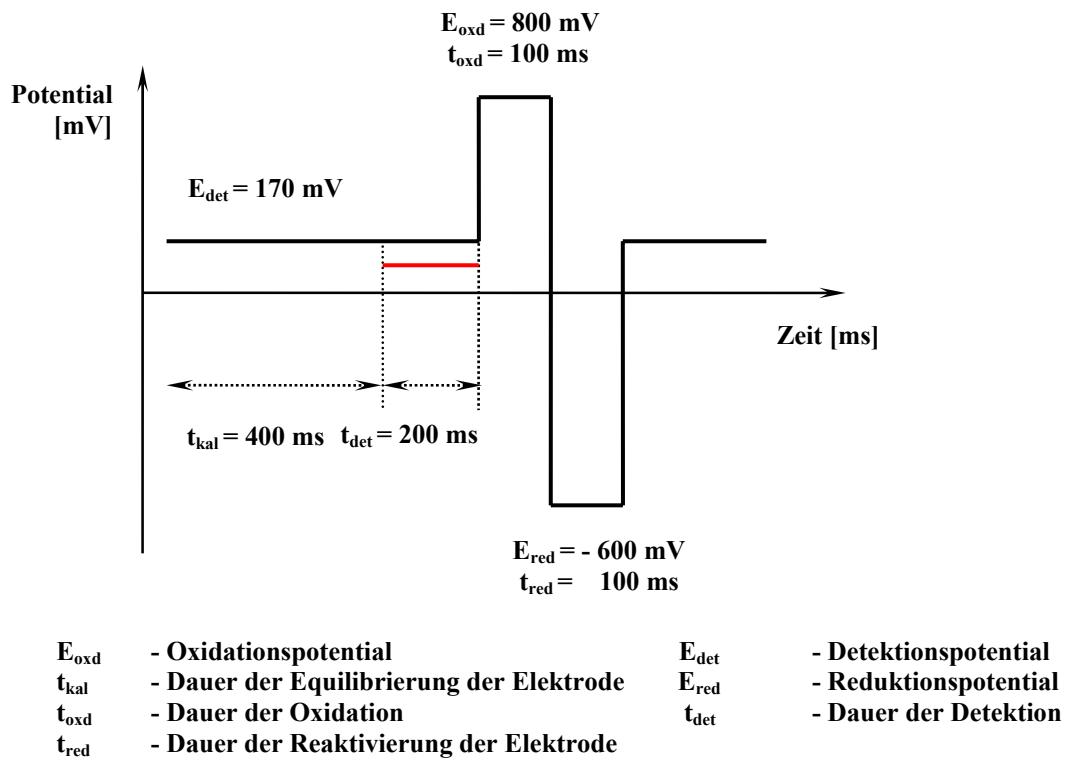


Abbildung 2.1: PAD-Potentialwelle für die APG-Analyse

2.2.1.1 Konfiguration der amperometrischen Messzelle und Anforderungen

Die Messzelle für amperometrische Untersuchungen stellt in der Regel ein Dreielektrodensystem dar. Diese Konstruktion ermöglicht die Kompensierung des Ohmschen Widerstandes der Elektrolytlösung. Durch den Einbau einer äußeren hochohmigen elektrischen Kette ist es möglich, das Potential der Referenzelektrode als Gleichgewichtspotential zu betrachten. Das Arbeitspotential wird an Arbeits- und Hilfelektrode gelegt. Die Hilfelektrode ist inert und hat normalerweise eine größere Oberfläche als die Arbeitselektrode. Sie ermöglicht den Stromfluss durch die Messzelle und dient der Verbesserung der Kontrolle des Arbeitselektrodenpotentials und der Vermeidung unerwünschter elektrokinetischer Prozesse. Das Potential der Hilfelektrode und der über sie fließende Strom werden nicht registriert. Das Potential der Arbeitselektrode wird gegen das der Referenzelektrode kontrolliert.

Bei der CE-EC-Kopplung werden zumeist Mikroarbeitselektroden eingesetzt, um unerwünschte Einflüsse (z.B. Peakverbreiterung) zu vermeiden. An den Mikroelektroden fließen aufgrund der kleinen Elektrodenoberflächen nur geringe Ströme im nA- und pA-

Bereich. Des weiteren lassen sich voltammetrische Untersuchungen an Mikroarbeits Elektroden mit hohen Potentialvorschubgeschwindigkeiten oder sehr kurzen Potentialpulsen durchführen [121]. An Mikroelektroden erhält man ein gesteigertes Detektionssignal aufgrund eines erhöhten Massetransportes zur Elektrodenoberfläche infolge sphärischer statt linearer Diffusion. Der geringe Stromfluss an Mikroelektroden und der damit verbundene geringe Spannungsabfall in der Messzelle ermöglichen den Einsatz hochohmiger Basiselektrolyten.

Die Position der Arbeitselektrode beeinflusst das Analysensignal bei allen Arten der elektrochemischen Detektion. Für die Positionierung von Mikroelektroden in der Kapillarelektrophorese sind folgende Möglichkeiten in der Literatur beschrieben:

- *on-column*-Anordnung: der Detektor „sitzt“ auf der Kapillare. Diese Konfiguration wird vor allem bei der optischen, seltener bei der elektrochemischen Detektion genutzt, da bei dieser Messmethode das elektrische Feld in der Kapillare in erheblichem Maße stört. Trotz dieser Schwierigkeiten ist es gelungen, verschiedene elektrochemische Bestimmungen mittels *microchip-CE-EC* durchzuführen: Bestimmung von Neurotransmittern durch eine geschickte Anordnung der Detektionselektroden im Trennkanal und geeignete Wahl des Detektionspotentials [122], amperometrische Detektion innerhalb des Trennkanals in durch die Verwendung eines elektrisch von der Hochspannung entkoppelten, batteriebetriebenen Potentiostaten [123].
- *off-column*-Anordnung: die Trennkapillare wird an eine kurze Detektionskapillare mit einem porösen Kopplungsstück (z.B. Glas, Graphit [124], Nafion[®]-Membran [125], Celluloseacetat [126] oder Palladium [127]) gebunden. Dadurch wird die Trennspannung über das Kopplungsstück abgebaut; durch den noch vorhandenen Fluss wird der Analyt über das Kopplungsstück hinaus zum Detektor transportiert. Das CE-typische flache Strömungsprofil in der Trennkapillare geht in der Detektionskapillare in ein laminares Strömungsprofil über. Die Arbeitselektrode wird in die Kapillare eingebracht. Aufgrund des recht komplizierten Aufbaus ist die *off-column*-Konfiguration für den Einsatz in der Routineanalytik wenig geeignet.

-
- *end-column*-Anordnung: die Mikroelektrode wird hierbei in geringem Abstand vom Kapillarausgang positioniert und ist somit vom elektrischen Feld der Hochspannung entkoppelt. Der Einsatz von Trennkapillaren mit geringen Durchmessern oder der Einbau einer Erdung in die Messzelle minimiert den Einfluss der Hochspannung noch weiter. Das Justieren des Abstandes zwischen der Arbeitselektrode und der Trennkapillare stellt ein Problem dar. In der Literatur werden verschiedene Alternativen beschrieben: Ankleben einer Arbeitselektrode quer über die Kapillaröffnung [128] oder Sputtern des Elektrodenmaterials direkt auf das Kapillarende [120]. *Jin* [129] und *Goto* [130] haben geeignete Konstruktionen der Messzellen dieser Art beschrieben, die ein unproblematisches und schnelles Positionieren von Kapillarausgang und Elektrode ermöglichen. Die *wall-jet*-Anordnung stellt die einfachste Detektorkonfiguration dar [131, 132]. Dabei steht die Kapillare senkrecht zur Elektrodenoberfläche und hat einen wesentlich kleineren Durchmesser als die Arbeitselektrode. Nach dem Austritt aus der Kapillare verteilt sich der Analyt radial über die Elektrodenoberfläche.

2.2.1.2 Arbeitselektroden

Die Auswahl eines bestimmten Elektrodenmaterials hängt von der Natur der zu untersuchenden Substanzen ab. Als Arbeitselektroden kommen verschiedene Materialien zum Einsatz, die ein großes Anwendungsgebiet abdecken (Tabelle 2.3) [133].

Im Allgemeinen ist die Wahl der geeigneten Arbeitselektrode für eine vorgegebene Applikation durch die folgenden Faktoren bestimmt [115]:

- *Einfluss des Lösungsmittels*

Die negative Potentialgrenze des Arbeitsbereiches einer Elektrode liegt bei dem Reduktionspotential des Lösungsmittels, die positive bei dessen Oxidationspotential oder bei dem Oxidationspotential des Elektrodenmaterials selbst. Die Potentialgrenzen sind maßgeblich vom pH-Wert der Lösung abhängig. Grundsätzlich können in alkalischer Lösung negativere und in saurerer Lösung positivere Potentiale angelegt werden.

➤ *Komplexbildung*

Die mögliche Komplexbildung zwischen dem Elektrodenmaterial (Ag, Au) und den in der Lösung vorliegenden Anionen führt zur Erniedrigung der positiven Potentialgrenze.

➤ *Kinetik der elektrochemischen Reaktion*

Die durch Überspannungen verursachten Abweichungen von Gleichgewichts- und Arbeitspotentialen führen zur Verzögerung der elektrochemischen Reaktion und zur Verschiebung des benötigten Arbeitspotentials. Bei den langsamen elektrochemischen Reaktionen ist eine Beschleunigung nur durch Erhöhung des Arbeitspotentials möglich. Übersteigt die Überspannung die für das entsprechende Elektrodenmaterial zulässige Potentialgrenze, muss ein anderes Elektrodenmaterial gewählt werden.

Arbeitselektrode	zu analysierende Substanzen
Kohlenstoffelektrode (unterschiedlich modifiziert)	Catecholamine [134-136], Aminosäuren [137, 138] Peptide [139], Thiole [140] Kohlenhydrate [141]
Goldelektrode	Catecholamine, Peptide, Thiole, Disulfide Aminosäuren [116, 142], Antibiotika [114] anorganische und organische Quecksilberverbindungen [143, 144], organische Schwefelverbindungen [117, 145, 146] Mono- und Oligosaccharide [116, 117, 147, 148]
Platinelektrode	Catecholamine, anorganische Ionen aliphatische Alkohole [107, 109, 112, 149], Neurotransmitter [131], Amine, Aminoglucoside [107], Peptide [150], organische Schwefelverbindungen [117] Kohlenhydrate [107, 110, 151]
Nickelelektrode	Aminosäuren, Peptide Monosaccharide [152], Kohlenhydrate [141, 152-154]
Kupferelektrode	Aminosäuren, Peptide, Catecholamine [155, 156], Thiole Kohlenhydrate [120, 141, 157-159]
Quecksilber-Gold Amalgamelektrode	Thiole [160]

Tabelle 2.3: Einsatzgebiete der üblichen Arbeitselektroden [161]

Beschrieben sind die Bestimmungen von Kohlenhydraten an Gold- und Platinelektroden im alkalischen Medium [108, 110]. Im Allgemeinen nimmt sowohl an Gold- als auch an Platinelektroden die Empfindlichkeit der PAD-Bestimmung dieser Verbindungen mit sinkendem pH-Wert ab. Dieses Phänomen lässt sich durch die Beteiligung des Wassers an der Oxidationsreaktion und das Entstehen von H^+ erklären. Für die Kohlenhydratanalyse haben sich besonders Goldelektroden wegen ihrer Sensitivität im alkalischen Milieu ($pH > 12$) und der eingeschränkten Reduktion des gelösten Sauerstoffs etabliert [108, 162-164]. Die Detektion von Kohlenhydraten an Platinelektroden ist durch das Überschneiden der Spannungsbereiche für die kathodische Reaktion des gelösten Sauerstoffes und die Glucoseoxidation, was zur Folge ein ungünstiges Signal-zu-Rausch-Verhältnis hat, erschwert. Eine mögliche Erhöhung des Detektionspotentials bewirkt allerdings eine massive Oxidation des Elektrodenmaterials, wodurch sich der Grundstrom in der Messzelle erhöht und damit die Basislinie angehoben wird [110, 113, 164].

Der Reaktionsmechanismus und der Ablauf der Glucoseoxidation an einer Goldelektrode ist untersucht worden (die Spaltung der C_1-C_2 - und der C_5-C_6 -Bindung und nachfolgende Bildung von Formiat und des entsprechenden Dicarbonsäureanions im Verhältnis 2:1) [108, 119, 161, 165]. Die APGs als Untersuchungsobjekte zeigen eine der Glucose ähnliche elektrochemische Aktivität. Der Oxidationsmechanismus dieser Substanzen ist noch nicht in der Literatur beschrieben worden.

2.2.2 Massenspektrometrie (MS)

Die Entwicklung der Massenspektrometrie als Detektionsmethode begann vor etwa 100 Jahren, als *Kaufmann* (1901) den Prototyp eines Massenspektrographen erfand. Am Anfang wurde die Massenspektrometrie hauptsächlich für die Bestimmung der Ionisationsenergien und genauer Massen von Isotopen eingesetzt. Seit den 1950er Jahren wurde die MS zur wichtigsten Untersuchungsmethode organischer Substanzen [166]. Durch ihre Empfindlichkeit (Nachweisgrenze bis 10^{-12} g - 10^{-14} g), Schnelligkeit, Zuverlässigkeit und durch zahlreiche Möglichkeiten bei der Identifizierung verschiedener Analyten hat sich die Massenspektrometrie etabliert.

Das Detektionsprinzip der MS besteht in der Erzeugung gasförmiger Probenionen in einer Ionenquelle, Beschleunigung und Bündelung der gebildeten Ionen zu einem Ionenstrahl und der anschließenden Trennung der entstandenen Ionen entsprechend ihrer Masse/Ladungsverhältnisse (m/z). Die Information über die Masse und Zusammensetzung der zu analysierenden Substanzen können den Massenspektren entnommen werden. Durch den Vergleich mit Bibliotheksspektren ist die eindeutige Zuordnung von Substanzen möglich.

Der Probeneinlass in das Massenspektrometer kann direkt, z.B. über die Verdampfung der Probe, selektiver Einlass über eine Membrane [167-169] oder andere Interface-Systeme (*Thermospray*, *Plasmaspray Interface*) [170] erfolgen.

Viele Kopplungstechniken mit gängigen Trennmethoden wie GC [171, 172], LC, SFC (*Supercritical Fluid Chromatography*) [173, 174] oder CE [175-178] wurden bis jetzt entwickelt.

Zahlreiche auf unterschiedlichen Prinzipien basierende Ionisationstechniken lassen sich heute an die Aufgabenstellung anpassen. Zu den gängigsten gehören die Elektronenstoßionisation (*EI*) und die Chemische Ionisation (*CI*).

Zur Trennung der entstandenen Ionen nach ihrem Masse/Ladungs-Verhältnis wurden mehrere Techniken entwickelt, die auf dem Einsatz eines Flugzeitanalysators (*TOF-MS*), eines Sektorfeldes (Sektorfeld-MS), eines Magnetfeldes in Kombination mit einer Ionenzyklotronresonanz (*Fourier Transform MS (FT-MS)*) [176, 179]) oder eines elektrischen Hochfrequenzfeldes (*Quadrupol-* und *Ion-Trap-MS*) basieren. Der Einsatz eines Analysators ist vom Ziel der Analyse, Natur der Probe und der eingesetzten Ionenquelle abhängig.

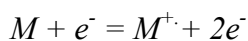
In der vorliegenden Arbeit wurde ein TOF-MS mit einer EI-Quelle verwendet, das nachfolgend näher beschrieben wird.

Massenspektrometrie nach Elektronenstoßionisation (EI-MS)

Die Elektronenstoßionisation ist die gebräuchlichste Ionisationstechnik in der GC-MS-Kopplung. Die Ionen werden in der Ionenquelle aus den gasförmigen Probenmolekülen mit einem Elektronenstrahl, der aus einer Glühkathode (Rhenium- oder Wolfram-Draht) emittiert

und in einem elektrischen Feld (12 - 70 V) beschleunigt wird, erzeugt. Durch die Wechselwirkung mit der Elektronenhülle des Probenmoleküls kommt es zur Entfernung eines Elektrons. So werden einfach positiv geladene Molekül- oder Fragmentionen gebildet. Der Energieüberschuss nach der Wechselwirkung mit den energiereichen Elektronen verbleibt im Molekülion und führt zu Bindungsbrüchen. Durch den hohen Fragmentierungsgrad wird die EI-Methode auch als „harte“ Ionisationstechnik bezeichnet.

Der Ionisationsprozess wird allgemein mit folgender Gleichung beschrieben:



Die Ausbeute der Ionisation ist gering und von der Natur des Stoffes abhängig.

Der totale Ionenstrom ist die Funktion der Energie der ionisierenden Elektronen. Zumeist erfolgt die Ionisierung bei 70 eV, da bei dieser Energie die Massenspektren intensiv und gut reproduzierbar sind.

Flugzeitanalysator (TOF)

Die Trennung der erzeugten Ionen in einem Flugzeitanalysator basiert auf einem einfachen Prinzip: die Geschwindigkeit eines beschleunigten Ions ist umgekehrt proportional zu der Quadratwurzel seiner Masse:

$$eU = mv^2/2 \quad \text{mit } U: \text{ Beschleunigungsspannung,}$$

e : Elementarladung,

v : Ionengeschwindigkeit und

m : Ionenmasse.

Die beschleunigten Ionen bewegen sich in einer feldfreien Driftröhre und erreichen den Detektor zu unterschiedlichen Zeiten in der Reihenfolge ihrer zunehmenden Massen. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Flugzeiten werden die erzeugten Ionen getrennt. Die Zeit, die ein Ion benötigt, um den Detektor zu erreichen, wird wie folgt berechnet:

$$t = d \sqrt{\frac{m}{2zU}} \quad \text{mit } z: \text{ Ionenladung und} \\ d: \text{ Länge des Flugrohres}$$

Ionen gleicher Masse besitzen aber noch vor der Beschleunigung leicht unterschiedliche kinetische Energien ($eV + \Delta U$). Die räumliche Verteilung dieser Ionen trägt ihrerseits zu der Energieinhomogenität bei. Diese Effekte haben eine Peakverbreiterung und Begrenzung der Auflösung (bis 1000) zur Folge. Durch den Einbau eines „Ionenspiegels“ (Reflektrons) in das Driftrohr können die Energieunterschiede vereinheitlicht werden. Der Ionenstrahl wird dabei auf ein Linsensystem geführt, das so konstruiert ist, dass die Ionen „gespiegelt“ werden, wodurch die Energiedifferenzen der Ionen gleicher Masse ausgeglichen werden. Die modernen TOF-Analysatoren besitzen eine Auflösung von bis zu 20000 [180] und werden vielfältig genutzt.

Typische Parameter eines TOF-Analysators sind:

- Länge der Beschleunigungsstrecke 0,5 cm
- Länge der Driftstrecke 0,5 – 3 m
- Beschleunigungsspannung 1 – 30 kV
- Ionenflugzeiten 5 - 100 μs

In der Regel werden die TOF-Analysatoren mit einem Elektronenvervielfacher gekoppelt.

Charakteristisch für ein TOF-MS ist eine hohe Aufnahmezeit (bis 500 Spektren/sec), ein praktisch unbegrenzter Massenbereich und die Möglichkeit der Kopplung mit gepulsten (z.B. LI) oder kontinuierlichen Ionenquellen (z.B. CI).

3 AUFGABENSTELLUNG UND ZIELSETZUNG

Die Untersuchung von tensidhaltigen Produkten ist ein mehrstufiger und zeitaufwendiger Prozess, der die Isolierung und Anreicherung von Tensidgemischen, die Auftrennung in ihre Komponenten und schließlich deren Identifizierung und Quantifizierung umfasst. Daher sind Methoden von Interesse, die vor allem in Bezug auf die Probenvorbereitung eine Vereinfachung darstellen.

Zur Produktanalyse der Alkylpolyglucoside (APGs) wurden von Nguyen (Dissertation BUW, 2004) mit der Einführung der MEKC-PAD Grundlagen erarbeitet, die eine teilweise Trennung und selektive Detektion ohne aufwendige Vorbereitung der Proben ermöglichen. Die nicht zufriedenstellende Stabilität des Detektorsignals soll durch Konstruktion einer neuen, robusten amperometrischen Messzelle verbessert werden. Durch Verwendung unterschiedlicher Elektrolyte bei der MEKC-Trennung und PAD-Detektion soll ferner versucht werden, die Trennleistung und die Empfindlichkeit des Analysensystems zu erhöhen.

In Zusammenarbeit mit Taheri konnte gezeigt werden, dass Tenside nach Silylierung bzw. Hydrolyse und Silylierung mittels GCxGC-(TOF)MS mit hoher Effizienz bestimmt werden können. Diese entwickelten Methoden sollen auf die Untersuchung von APGs in kommerziellen Gemischen übertragen und optimiert werden, um so eine vollständige Information über die Zusammensetzung (Unterscheidung der Homologen, Anomeren sowie Pyranoside und Furanoside) zu erhalten.

4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

4.1 MEKC-PAD

4.1.1 Elektrochemische Zelle

Im Hinblick auf die Reproduzierbarkeit der Messungen und der unproblematischen Handhabung wurde als Konfigurationsprinzip beim Bau der Messzelle eine 3-Elektroden-„wall-jet“-Anordnung gewählt.

Um die am Ende der CE-Kapillare vorhandene Spannung abzubauen, wurde ein in unmittelbarer Nähe befindlicher Platindraht mit einem Durchmesser von 0,5 mm (Goodfellow, Huntington, UK) geerdet.

Die als Arbeitselektrode ausgewählte Goldelektrode weist folgende Eigenschaften auf:

- hohe Empfindlichkeit für die Bestimmung von Glucose unter den ausgewählten Analysenbedingungen (pH 13) [162]
- das schnelle Erreichen des Gleichgewichtspotentials [161]
- eingeschränkte kathodische Reduktion des gelösten Sauerstoffes [162]

Der Durchmesser einer Arbeitselektrode beeinflusst ihre Equilibrierungszeit und den Grundstrom in der Messzelle. Die Elektroden mit einem Durchmesser im Millimeter-Bereich zeigen im Gegensatz zu den mit den Mikroelektroden (Durchmesser im Mikrometer-Bereich) längere Equilibrierungszeiten und liefern einen höheren Grundstrom [121]. Zudem kommt es zur Peakverbreiterung, was bei den kleineren Arbeitselektroden (Mikrometer-Bereich) nicht beobachtet wird. In der Arbeit von *Nguyen* [66] wurde der Einfluss des Verhältnisses vom Durchmesser der Trennkapillare und der Arbeitselektrode untersucht. Ausgehend von den gewonnenen Erkenntnissen wurden in dieser Arbeit für die Herstellung der Arbeitselektroden Golddrähte mit einem Durchmesser von 300 μm (sechsmal so groß wie der Innendurchmesser der verwendeten Trennkapillaren) eingesetzt [181].

Die Arbeitselektroden wurden in Kooperation mit der Abteilung „Elektroanalytik und Sensorik“ der Ruhr-Universität Bochum gefertigt [181].

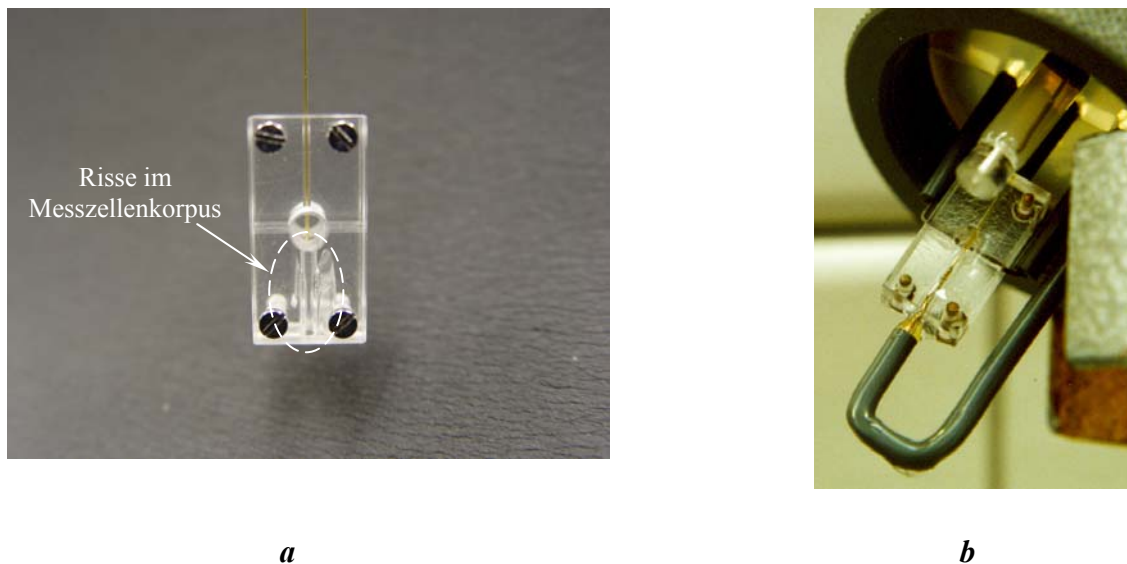
Als Referenzelektrode wurde eine Silber-Silberchlorid-Elektrode (Bioanalytical Systems, Inc., Warwickshire, UK) verwendet, deren Potential bei + 0,196 V (25 °C; gegen Standardwasserstoffelektrode) liegt. Die richtige Positionierung der Referenzelektrode ist bei den amperometrischen Bestimmungen sehr wichtig, weil der Spannungsabfall (aufgrund des Ohmschen Widerstandes) zwischen der Referenz- und der Arbeitselektrode von der Elektronik nicht kompensiert werden kann. Demzufolge muss die Referenzelektrode so nah wie möglich zur Arbeitselektrode plaziert werden.

Als Hilfselektrode wurde ein Platindraht mit einem Durchmesser von 0,5 mm (Goodfellow, Huntington, UK) verwendet.

4.1.2 Neukonstruktion der Messzelle

Die zu Beginn der vorliegenden Arbeit eingesetzte Messzelle ist eine Konstruktion von *Nguyen* (Abbildung 4.1). Das Aufbauprinzip dieses Prototyps sieht vor, dass alle Bestandteile der Zelle (Arbeitselektrode, Hilfselektrode, Erdung und Kapillare) mit zwei Polycarbonatplatten fixiert werden [66, 161]. Im täglichen Einsatz dieser Messzelle traten dabei im Wesentlichen folgende Nachteile auf:

- schlechte Reproduzierbarkeit der Ergebnisse durch erschwerte, ungenaue Positionierung der Zellenbestandteile
- fehlende Justierung des Systems im Puffer-Gefäß (Verschlechterung der Basislinie)
- Aufquellen des Zellenkörpers durch Absorption von Wasser (Rissbildung innerhalb der Polycarbonatplatten, Zerschneiden der Arbeitselektrode)
- hohe Sensibilität gegenüber äußeren Faktoren (Vibration des Gerätes oder Labor-tisches, Luftbewegung)
- nicht ausreichendes Diffusionsvolumen im Puffergefäß
- geringe Beständigkeit des zur Fixierung/Abdichtung der Arbeitselektrode verwendeten Klebers (Verminderung der Adhäsion des Klebers mit dem Glaskörper der Elektrode)



*Abbildung 4.1: Die ursprüngliche Messzelle
(a: Rissbildung im Messzellenkorpus; b: Messzelle komplett)*

Zur Behebung dieser Probleme wurde eine neue Messzelle konstruiert. Dabei wurde beachtet:

- chemische und physikalische Stabilität des Materials der Meßzelle
- Fixierung der Messzelle im Outlet-Gefäß
- ausreichende Diffusion im Outlet-Gefäß
- robuste Konstruktion der Meßzelle
- Möglichkeit des separaten Justierens und Auswechselns aller Elektroden und der Kapillare
- Optimierung des Elektrodenhalters (Resistenz des Klebers gegen eingesetzten Elektrolyten; exkorporale, elastische Führung des Kupferdrahtes der Elektrode)

Die neue Messzelle wurde in der Werkstatt der Bergischen Universität Wuppertal gefertigt. Das Outlet-Gefäß besteht aus Polyvinylchlorid (PVC) und hat ein Volumen von ca. 150 ml, was eine gute Diffusion der Lösung ermöglicht. Das Puffer-Gefäß hat im Inneren ein besonderes Profil (zwei Schienen und eine Abstufung), wodurch eine konstante Position des Halters gesichert ist. Äußere Einflüsse auf die Messzelle z.B. durch Vibration werden praktisch vollständig eliminiert (Abbildung 4.2).

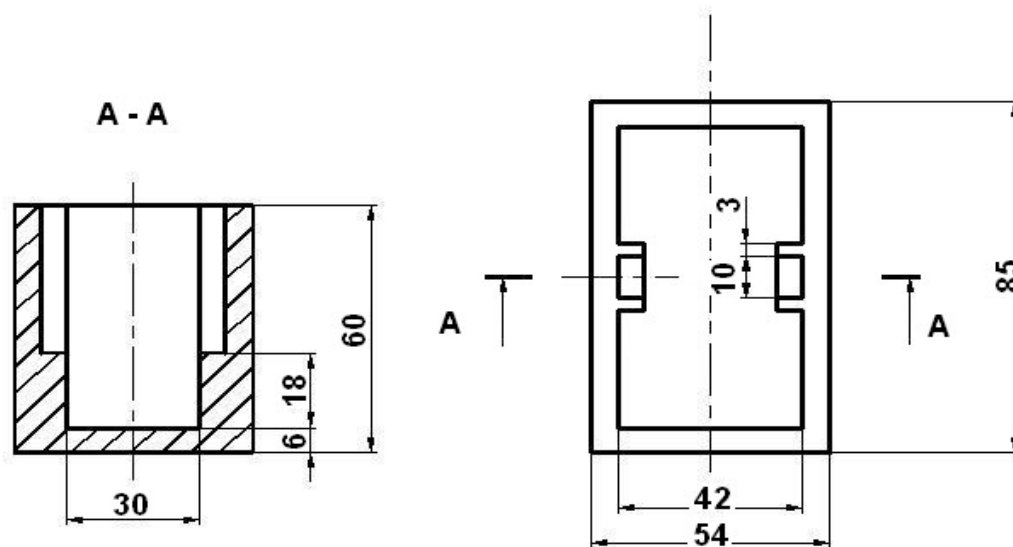


Abbildung 4.2: Zeichnung des Outlet-Gefäßes

Der Messzellenkorpus (Halter) ist aus Polytetrafluorethylen (PTFE) gefertigt (Abbildung 4.3). PTFE hat eine hervorragende chemische Stabilität und ist folglich den eingesetzten Reagenzien gegenüber inert. Das größere Messzellensfenster innerhalb des Halters trägt erheblich zur besseren Diffusion bei.

Das präzise Positionieren der Hilfselektrode und der Erdung wird durch Fixieren mit einer Quetschdichtung erreicht. Das vereinfacht auch die Bedienung der Messzelle, weil die Elektroden separat gewechselt werden können. Auf die Güte der Trennung wirkt sich dies auch positiv aus, denn die Position der Elektroden ändert sich während der Analyse nicht, wodurch eine ruhige Basislinie erhalten bleibt.

In unmittelbarer Nähe der für die elektrochemische Reaktion benötigten Elektroden und Kapillare, die für die konstanten elektrochemischen Bedingungen sorgen, befindet sich die Referenzelektrode. Bei deren Wechsel bleiben die Positionen aller anderen Bestandteile unverändert. Das Positionieren der CE-Kapillare wird auch mit einer Quetschdichtung erreicht.

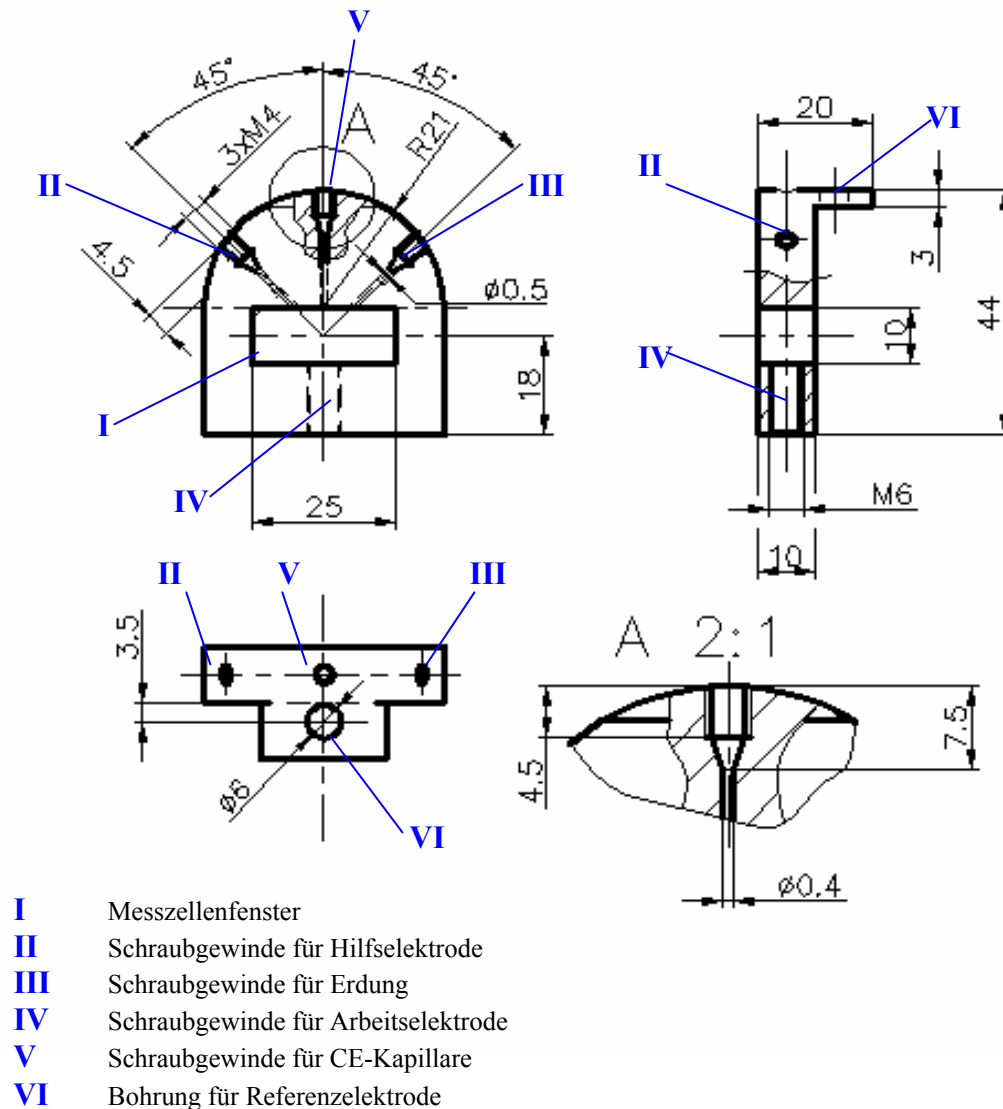


Abbildung 4.3: Zeichnung des Messzellenkorpus (Halters)

Zur exakten Positionierung der Arbeitselektrode wurde eine besondere Hülse mit einem Außengewinde entwickelt. Der Glaskörper der Arbeitselektrode wird mit Klebstoff in dieser Hülse befestigt. Das Justieren des Abstandes zwischen Arbeitselektrode und der Kapillare wird durch Einschrauben dieser Hülse in den Halter gewährleistet. Mit einer Kontermutter wird diese Position fixiert. Die Verbindung mit dem Detektor wird durch einen Kupferdraht erreicht, der sich in einem elastischen Tygon®-Schlauch befindet. So wird die Position der Arbeitselektrode durch Bewegen des Schlauches nicht beeinflusst (Abbildung 4.4).

Da die konventionell erhältlichen Klebstoffe nicht die benötigte Resistenz gegenüber Einflüssen der verwendeten Elektrolyten aufweisen, wurde der Glaskörper der Arbeitselektrode in der Hülse mit Aquariumsilikon befestigt.

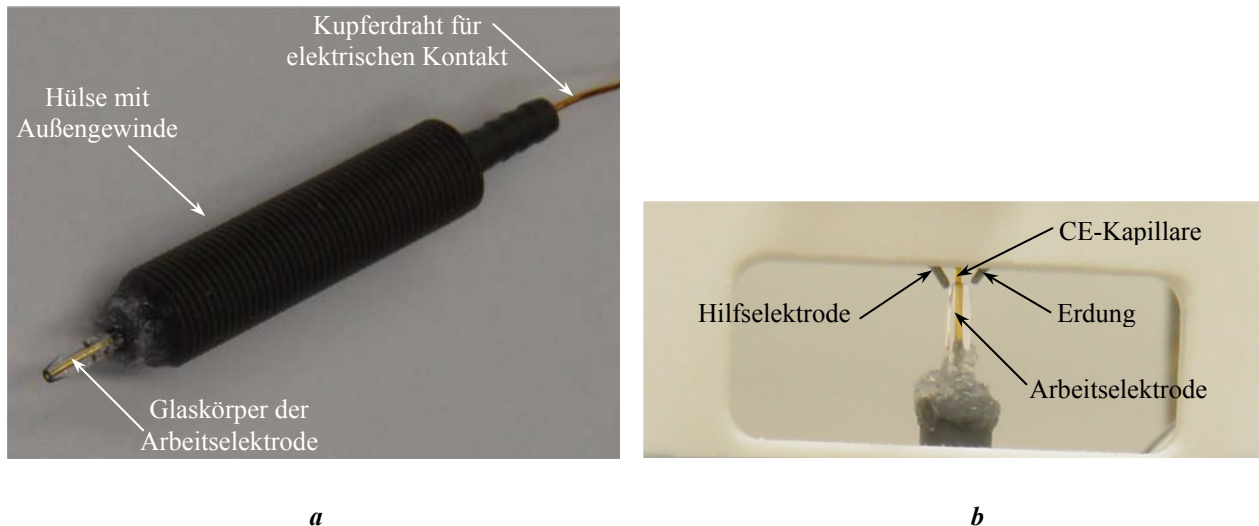


Abbildung 4.4: a: Arbeitselektrode in der Hülse; b: Messzellenfenster

Alle in der vorliegenden Arbeit dargestellten MEKC-PAD-Untersuchungen wurden mittels oben beschriebener Messzelle durchgeführt. Die zusammengebaute Messzelle wird in Abbildung 4.5 gezeigt.

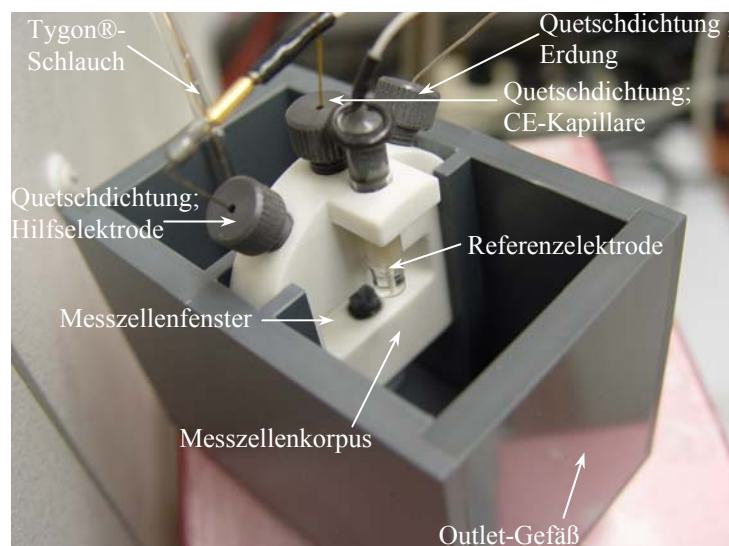


Abbildung 4.5: Bild der neuen Messzelle (zur besseren Übersicht ohne Elektrolytlösung aufgenommen)

4.1.3 Detektionsbedingungen

Zur pulsamperometrischen Detektion der APGs wurde die in Tabelle 4.1 aufgeführte potentiometrische Methode gewählt. Basis dieser verwendeten Methode bildeten die von der Firma BAS (Bioanalytical Systems, Inc., Warwickshire, UK) entwickelte Methode zur Detektion von Kohlenhydraten mit LC-PAD und die Arbeit von *Nguyen* [66] auf dem Gebiet APG-Analytik mittels CE-PAD.

Detektions-schritt	Potential [mV]	Zeit [ms]	Funktion
1	+ 170	400	Equilibrierung
2	+ 170	200	Messung
3	+ 800	200	oxidative Reinigung
4	- 600	200	reduktive Reaktivierung

Tabelle 4.1: Angewandte PAD - Bedingungen

4.1.4 Entwicklung einer MEKC-PAD-Methode für APGs

4.1.4.1 Post-column Elektrolyt-Modifizierung

Die elektrochemische Aktivität von APGs ist auf das Vorhandensein der Glucoseneinheiten in ihren molekularen Strukturen zurückzuführen. Voraussetzung für diese Aktivität ist die Deprotonierung der primären OH-Gruppen am Zuckerring [106, 112, 117, 119, 148]. Da die Wasserstoffatome in diesen Gruppen nur eine sehr schwache Acidität aufweisen (die pK_a -Werte der Alkylpolyglucoside liegen im Bereich 12-13), ist die Einstellung eines entsprechenden pH-Wertes im Puffer notwendig. Die bisher bekannte MEKC-PAD-Methode für APGs [66] basierte auf dem klassischen Prinzip der Verwendung eines Elektrolyten, der sowohl als Trennelektrolyt als auch als Elektrolyt im Outlet-Gefäß der elektrochemischen Messzelle wirksam ist. Daher wurden die Trennbedingungen an die für eine elektrochemische Detektion notwendigen Voraussetzungen (pH = 13, 0,1 M Natronlauge als Basiselektrolyt) angepasst. Dieses Elektrolytsystem zeigte sich schwer modifizierbar und für die elektrophoretische Trennung ungünstig: unter anderem ergaben sich keine stabilen Ströme in den Trennkapillaren und nur eine kurze Lebensdauer der Kapillaren.

Diese Probleme lassen sich durch Einsatz zweier unterschiedlicher Elektrolyten (zum einen Trennelektrolyt für das CE-System, zum anderen Elektrolyt im Outlet-Gefäß der elektrochemischen Messzelle) umgehen. Die Hypothese war, dass die Trennung von neutralen APGs mittels MEKC erfolgt und die für die elektrochemische Detektion benötigte Deprotonierung direkt im Outlet-Gefäß stattfinden kann.

Diese Annahme wurde in der Praxis geprüft. Getestet wurde die Kombination des klassischen Dinatriumhydrogenphosphat-Puffers (10 mM; pH ca. 9,5) als Trennelektrolyt mit Natronlauge (0,1 M; pH 13) als Detektionselektrolyt. Die Vorversuche zeigten:

- keine negative Auswirkung auf den Grundstrom bzw. auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis in der Messzelle
- der eingestellte pH war für die Deprotonierung aller APGs unabhängig von ihren Alkylkettenlängen ausreichend: alle APGs wurden in Form eines Signals angezeigt
- die Deprotonierung aller APGs war unabhängig von ihren Alkylkettenlängen reproduzierbar und kinetisch nicht erschwert
- eine weitere Erhöhung des pH-Wertes (bis pH = 14) ergab eine bedeutende Verschlechterung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses und wurde deswegen nicht weiter untersucht

Nach der erfolgreichen *post-column*-Elektrolytmodifizierung wurden alle weiteren Experimente mit Natronlauge als Detektionselektrolyt durchgeführt. Die Zusammensetzung des Trennelektrolyten wurde weiter optimiert.

4.1.4.2 Optimierung des Trennelektrolyten

Auswahl des Basiselektrolyten und des geladenen Micellenbildners

Bei den in dieser Arbeit verwendeten CE-Bedingungen (unmodifizierte Quarzkapillare, pH = 9,5, Injektion an der Anodenseite) wird ein kathodisch gerichteter EOF induziert. Aufgrund der fehlenden Ladung der APGs (pH < 13 in der Trennkapillare) ist für deren Trennung mittels MEKC ein geladener Micellenbildner notwendig. Die Auswahl dieses

Micellenbildners ist durch die Art der Detektion definiert und begrenzt. Daher eignen sich nur Substanzen, die bei der PAD-Detektion elektrochemisch inert sind. Bei Verwendung anionischer Tenside als Micellenbildner tragen die entstehenden Micellen negative Ladungen und besitzen somit eine anodisch gerichtete elektrophoretische Mobilität. Dadurch ist die Verteilung der Analyten zwischen der pseudostationären und der mobilen Phase und die Trennung aufgrund der unterschiedlichen Verteilungsgleichgewichte gewährleistet (siehe Kap. 2.1.1). Die Konzentration und die Zusammensetzung des Basiselektrolyten ist auch von großer Bedeutung. Sie beeinflusst unter anderem den Strom in der Kapillare, die Peakform, den erzeugten EOF und die Micellenbildung. In Tabelle 4.2 sind alle getesteten Trennsysteme dargestellt.

Basiselektrolyt	getesteter Micellenbildner
Borsäure (100 mM; pH 7,5)	Na-Dodecylbenzolsulfonat (5 – 20 mM)
Na ₂ HPO ₄ (5 – 20 mM; pH 8 – 10,5)	Na-Dodecylbenzolsulfonat (5 – 20 mM)
Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 8 – 10,5)	Na-Cholat (20 mM)
Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 2,5 – 9)	Dehyton K (Cocamidopropylbetain) (5 %)
Na ₂ HPO ₄ (5 – 20 mM; pH 8 – 10,5)	SDS (2 – 15 mM)

Tabelle 4.2: Screening verschiedener MEKC-Trennsysteme für die APG-PAD-Detektion

Die durchgeführten Versuche zeigten:

- beim Einsatz von Na-Dodecylbenzolsulfonat (Abbildungen 4.6) und Cocamidopropylbetain („Dehyton K“) wurden bei allen getesteten Basiselektrolyten keine Signale von APGs beobachtet
- Na-Cholat als Micellenbildner war für die direkte amperometrische Detektion von APGs nicht geeignet. Neben erheblich höherem Grundstrom in der Messzelle wurden negative Peaks registriert (Abbildung 4.7). Dieses Phänomen lässt sich entweder durch die Oxidation der sekundären Hydroxylgruppen oder durch die Absorptions - Desorptionsprozesse an der Elektrode erklären [115]
- nur unter Verwendung von SDS als Micellenbildner wurden Signale von APGs beobachtet

- eine Konzentration von 10 mM für Na_2HPO_4 erwies sich als optimale Konzentration. Dabei ergaben sich ideale Stromverhältnisse sowohl in der Kapillare als auch in der Messzelle und ein genügender EOF. Dieser Basiselektrolyt wurde daher für alle weiteren Untersuchungen eingesetzt

Das Screening des SDS-Konzentrationsbereiches von 2 bis 15 mM zeigte bei zunehmendem SDS-Gehalt im Trennelektrolyten eine kontinuierliche Verschlechterung des Grundstroms in der Messzelle, was zu einem ungünstigen Signal-zu-Rausch-Verhältnis führte. Das für die Trennung von APGs benötigte SDS scheint ab einer bestimmten Konzentration als „Elektrodingift“ zu wirken. Bei einer SDS-Konzentration von 12 mM im Trennpuffer wurde sowohl ein akzeptables Signal-zu-Rausch-Verhältnis als auch eine noch zufriedenstellende Trennleistung erreicht.

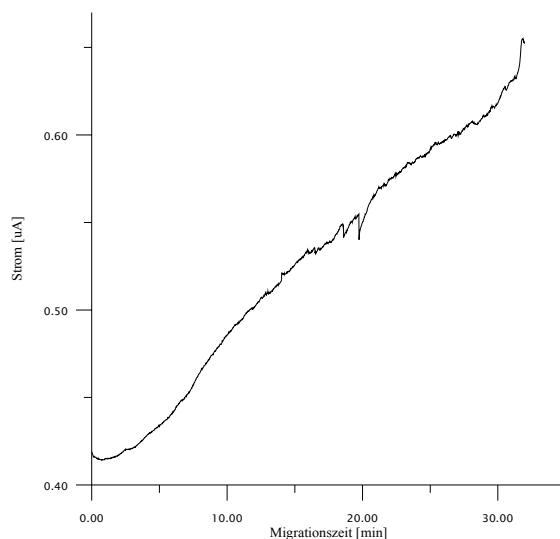


Abbildung 4.6: MEKC von $\alpha, \beta \text{C}_{10}$
Trennelektrolyt: Na-Dodecylbenzolsulfonat (20 mM)
in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,3)

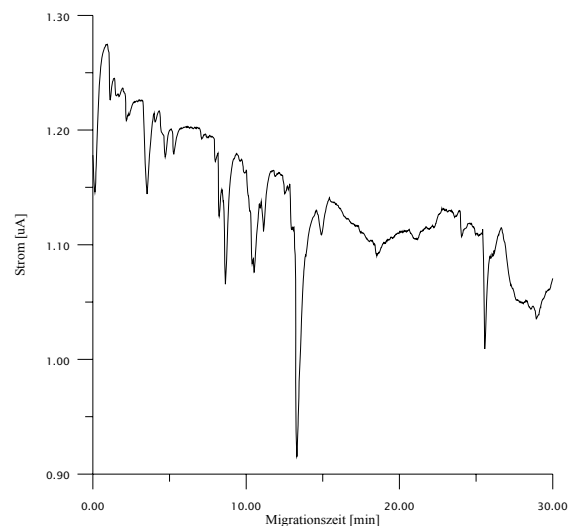


Abbildung 4.7: MEKC von $\alpha, \beta \text{C}_{10}$
Trennelektrolyt: Na-Cholat (20 mM)
in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,3)

Unter Verwendung dieses Elektrolyten konnten nur Signale von kurzkettigen APGs ($\alpha\beta\text{C}_8$) sicher identifiziert werden. Bei der Analyse ergaben sich zudem lange Migrationszeiten, eine sehr unruhige Basislinie und in Abhängigkeit von der wachsenden APG-Alkylkettenlänge eine kontinuierlich abnehmende Signalintensität. Offensichtlich ist die eigene elektrophoretische Mobilität der SDS-Micelle sehr groß, was eine kleine effektive Mobilität verursacht und sich durch lange Migrationszeiten äußert. Es liegt die Vermutung nahe, dass die APGs ab C_{10} aufgrund ihrer schwachen Wechselwirkung mit den SDS-Micellen nicht

vollständig gelöst werden können (Abbildung 4.8). Die sich daraus ergebende geringe Signalintensität führt, unterstützt durch eine sich massiv verschlechternde Basislinie, zu einer erschweren bzw. undurchführbaren Detektion dieser Analyten.

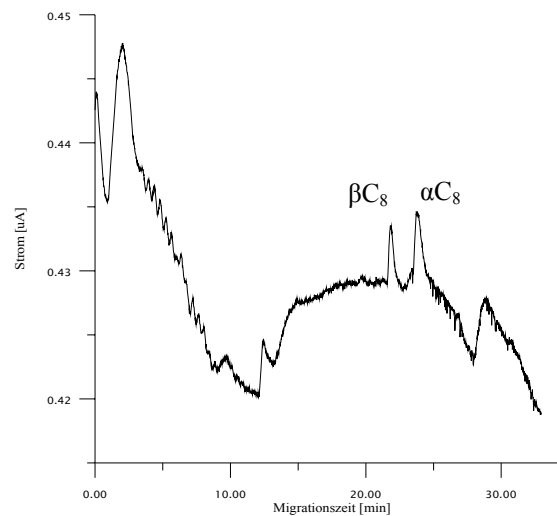


Abbildung 4.8: MEKC von APG[®]-220
Trennelektrolyt: SDS (12 mM) in Na₂HPO₄ (10 mM, pH 10,3)

Zugabe eines zweiten Micellenbildners

Es bestand die Annahme, dass die bereits erwähnten negativen Einflüsse beim Einsatz von SDS als primären Micellenbildner wie z.B. niedrige Signalintensität langkettiger APGs, konzentrationsabhängige Instabilität des Grundstromes in der Messzelle und Vergiftung der Arbeitselektrode durch Zugabe eines nichtionischen Tensids zum Trennpuffer minimiert werden können.

Als Micellenbildner kamen unter gegebener Detektionsbedingung nur elektrochemisch inerte Substanzen in Frage. Diesen Voraussetzungen entsprechen Fettalkoholethoxylate und Polyethylenglycolester, die aufgrund ihrer geringen Aciditäten protoniert vorliegen und deswegen keine elektrochemische Aktivität aufweisen. Kommerziell erhältlich sind zahlreiche Homologe, die nach Länge der Alkylkette und Ethoxylierungsgrad definiert sind. Im Sinne der MEKC unterscheiden sie sich in Polarität und Lipophilie ihrer Moleküle. Als Abschätzung der Lipophilie eines Tensids gilt der so genannte HLB (Hydrophilie-Lipophilie-Balance)-Wert. Für die Substanzen, deren hydrophiler Anteil lediglich aus Oxyethylen-gruppen besteht (z.B. Polyethylenglycolester, Fettalkohol-Ethylenoxid-Kondensationsprodukte), wird der HLB-Wert nach folgender Formel berechnet [182]:

$$HLB = E/5 \quad E - \text{Ethylenoxidgehalt [Gew.\%]}$$

Tabelle 4.3 gibt einen Überblick über die Zusammensetzung und die zugehörigen HLB-Werte getesteter Micellenbildner.

Tenside mit niedrigen HLB-Werten (< 10) sind im Allgemeinen gute Wasser-in-Öl Emulgatoren, während die mehr wasserfreundlichen Substanzen mit höheren HLB-Werten als Öl-in-Wasser Emulgatoren wirken. Laut *Schrader* liegt die beste Netz Wirkung im Bereich von HLB 7 – 9, die beste solubilisierende Wirkung bei HLB von 15 – 18 und die beste Waschwirkung bei HLB von 13 – 15 [183]. Diese Kenntnisse sind sehr wichtig für das Verständnis der in den untersuchten Trennsystemen ablaufenden Prozesse.

Handelsname des Tensids	Zusammensetzung	Abkürzung der Zusammensetzung *	HLB-Wert
Brij 72	POE 2-stearylether	C ₁₈ E ₂	4.9 ¹⁾
Brij 30	POE 4-laurylether	C ₁₂ E ₄	9.7 ¹⁾
Myrj 45	POE 8-stearat	C ₁₈ E ₈	11.1 ¹⁾
Dehydol LS 6	POE 6-Fettalkohol 12-14	C ₁₂₋₁₄ E ₆	11.8 ³⁾
Brij 97	POE 10-oleylether	C ₁₈₋₁ E ₁₀	12.4 ¹⁾
Brij 56	POE 10-cetylether	C ₁₆ E ₁₀	12.9 ¹⁾
Dehydol LS 10	POE 10-Fettalkohol 12-14	C ₁₂₋₁₄ E ₁₀	14.1 ³⁾
Brij 78	POE 20-stearylether	C ₁₈ E ₂₀	15.3 ¹⁾
Brij 98, 99	Glycol-monooctadecylether	C ₁₈₋₁ E ₂₀	15.3 ¹⁾
keine Angabe	POE 25-propylenglycol-stearat	C ₁₈ E ₂₅	15.3 ²⁾
Brij 58	POE 20-cetylether	C ₁₆ E ₂₀	15.7 ¹⁾
Dehydol LS 16	POE 16-Fettalkohol 12-14	C ₁₂₋₁₄ E ₁₆	15.8 ³⁾
Brij 35	POE 23-laurylether	C ₁₂ E ₂₃	16.9 ¹⁾
Myrj 52	POE 40-stearat	C ₁₈ E ₄₀	16.9 ¹⁾
Dehydol LS 30	POE 30-Fettalkohol 12-14	C ₁₂₋₁₄ E ₃₀	17.5 ³⁾
Talgalkohol EO 40	POE 40-Fettalkohol 12-14	C ₁₂₋₁₄ E ₄₀	18.1 ³⁾
Dehydol LS 50	POE 50-Fettalkohol 12-14	C ₁₂₋₁₄ E ₅₀	18.5 ³⁾
Myrj 59	POE 100-stearat	C ₁₈ E ₁₀₀	18.8 ¹⁾

* C_x-Alkylkettenlänge; E_y - Ethoxylierungsgrad

1) [183]

2) berechnet nach Formel $HLB = (E + C)/5$ [182]

3) berechnet nach Formel $HLB = E/5$ [182]

Tabelle 4.3: Überblick über die getesteten Micellenbildner

Dem Basiselektrolyten *SDS* (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH ca. 9,5) wurden alle in Tabelle 4.3 aufgelisteten Tenside mit einer Konzentration von 3000 mg/L zugegeben. Bei der Untersuchung der APG-Proben (Standards und einige technische Produkte) mit den modifizierten Trennelektrolyten wurden folgende Effekte beobachtet:

- Zugabe eines nichtionischen Tensids führt zur Verbesserung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses in der Messzelle
- die Unterschiede in der chemischen Natur der getesteten Micellenbildner (Fettalkoholethoxylat, Polyethylenglycolester) zeigen weder bei kurz-kettigen APGs (bis $(\alpha\beta)\text{C}_{10}$) noch bei den co-migrierenden langkettigen APGs (ab $(\alpha\beta)\text{C}_{12}$) eine Verbesserung der Trennleistung
- die Trennung von kurz-kettigen APGs ($(\alpha\beta)\text{C}_8$) ist bei Verwendung aller getesteten Systeme vollständig (Abbildungen 4.9, 4.10)
- die Intensität und die Form der Signale der langkettigen APGs stehen in Zusammenhang mit dem eingesetzten Micellenbildner (Abbildungen 4.10, 4.11, 4.12)

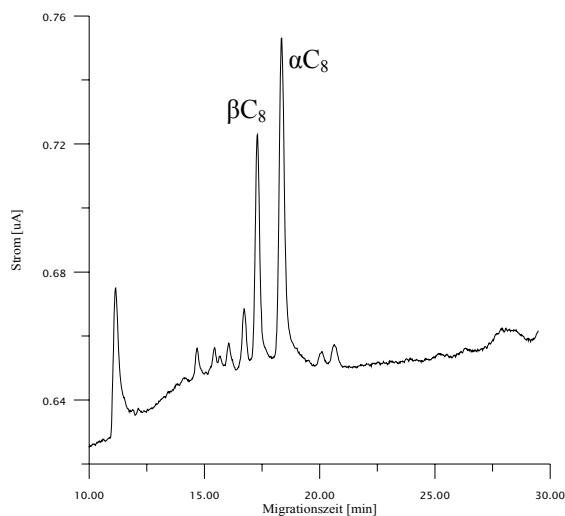


Abbildung 4.9: MEKC von APG[®]-220
Trennelektrolyt: Dehydrol LS 10 (3000 mg/L);
SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,2)

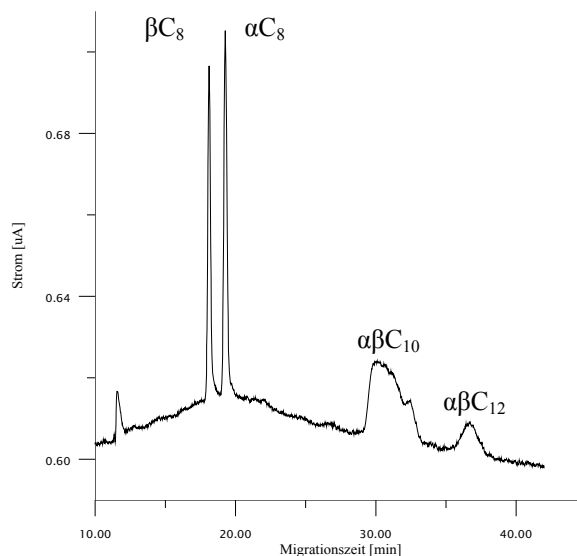


Abbildung 4.10: MEKC von $\alpha\beta\text{C}_8$ $\alpha\beta\text{C}_{10}$ βC_{12}
Trennelektrolyt: Dehydrol LS 10 (3000 mg/L);
SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,2)

Das Verhalten einzelner APGs in den untersuchten Trennsystemen ist unterschiedlich und durch deren Eigenschaften, wie z.B. Löslichkeit und Lipophilie, bedingt. Für die Trennung und nachfolgende Detektion kurz-kettiger APGs sind *SDS*-Micellen ausreichend, die Zugabe eines nichtionischen Tensids ist nicht erforderlich. Die langkettigen APGs dagegen zeigen

kaum Wechselwirkungen mit den SDS-Micellen, was sich z.B. in deren geringer Löslichkeit in einem SDS-Elektrolyten und folglich fehlenden Detektorsignalen zeigt. Für die langkettigen APGs übernimmt das nichtionische Tensid offenbar die Rolle eines Lösungsvermittlers, der diese in die micellare Phase überführt und dadurch detektierbar macht (Abbildung 7.1, Anhang). Damit lässt sich eine wichtige Aussage treffen: die Wechselwirkungen langkettiger APGs mit Micellen, die aus nichtionischen Tensiden gebildet werden (Nio-Micellen) sind stark bevorzugt.

Die Zugabe eines nichtionischen Micellenbildners verändert die Lipophilie und Viskosität des Trennelektrolyten und führt zu einem veränderten micellaren System. In einem Elektrolyten, der SDS und nichtionische Tenside (z.B. Dehydol) enthält, sind oberhalb der CMC drei Micellentypen zu erwarten: individuelle Micellen und Mischmicellen beider Tenside. Da die langkettigen APGs sehr starke Wechselwirkungen mit den Nio-Micellen eingehen, würde ihre Existenz durch Migrationszeiten im Bereich des EOF zu erkennen sein. Die deutlich schwächeren Wechselwirkungen mit den reinen SDS-Micellen führten dagegen zu erheblich längeren Migrationszeiten. Die tatsächlich beobachteten Migrationszeiten, die zwischen diesen beiden Extremen liegen, sprechen für die Existenz von Mischmicellen, wobei nicht ausgeschlossen werden kann, dass sich die langkettigen APGs zwischen den individuellen Micellen verteilen und das Gleichgewicht in Richtung Nio-Micelle verschoben ist. Micellenbildungsprozesse in Zweikomponenten-Tensidgemischen (SDS mit einem nichtionischen Tensid) sind literaturbekannt und zeigen, dass es in solchen Systemen zur Bildung von Mischmicellen kommt [184-189].

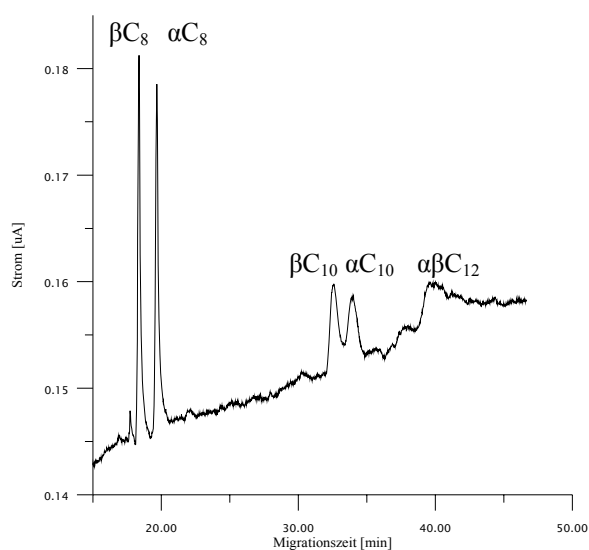


Abbildung 4.11: MEKC von $\alpha\beta C_8$ $\alpha\beta C_{10}$ βC_{12}
Trennelektrolyt: Myrj 59 (3000 mg/L); SDS (12 mM)
in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,2)

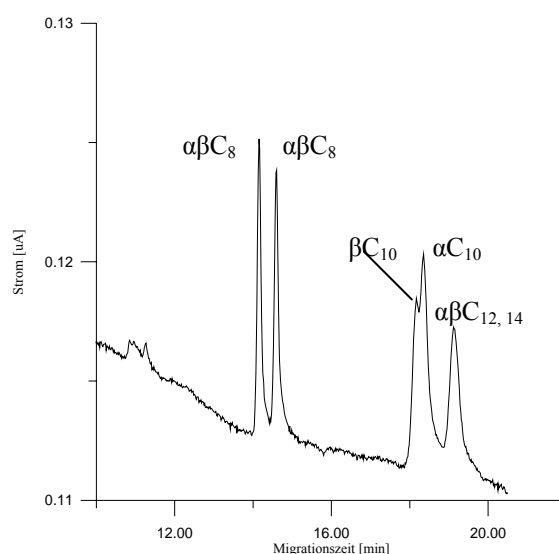


Abbildung 4.12: MEKC von $\alpha\beta C_8$ $\alpha\beta C_{10}$ βC_{12} $\alpha\beta C_{14}$
Trennelektrolyt: Dehydol LS 50 (3000 mg/L);
SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,2)

Ihre Zusammensetzung und Aufbau ist allerdings von vielen Parametern (z.B. Konzentration, Natur des Basiselektrolyten und einzelner Micellenbildner) abhängig.

Abbildung 4.13 zeigt die Abhängigkeit der Migrationszeiten langkettiger APGs (Co-Migration) von den HLB-Werten und Molgewichten getesteter Micellenbildner.

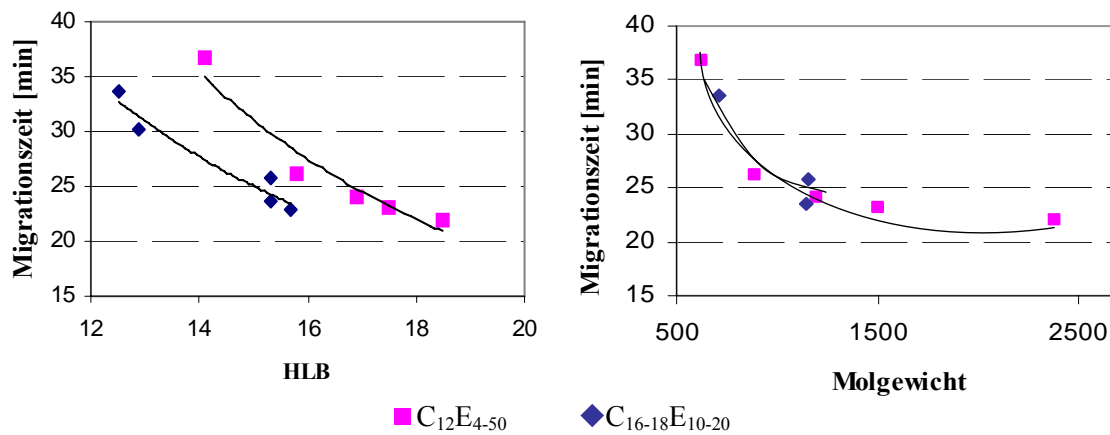


Abbildung 4.13: Abhängigkeit der Migrationszeiten der C_{12-18} -APGs (Co-Migration) von den HLB-Werten und Molgewichten getesteter Micellenbildner

Es gibt einen klaren Zusammenhang zwischen dem HLB-Wert des Micellenbildners und der Migrationszeit langkettiger APGs: die Migrationszeit nimmt bei steigendem HLB-Wert ab. Dabei lassen sich zwei differenzierte Reihen (blaue und rote Vierecke, Abbildung 4.13 links) erkennen. Die erste Reihe (rote Vierecke) wird von Micellenbildnern gleicher Kettenlänge (C_{12}) und wachsenden Ethoxylierungsgraden (E_{4-50}) gebildet. Danach nimmt die Migrationszeit mit zunehmendem Ethoxylierungsgrad ab. In der zweiten Reihe sind die Micellenbildner mit längeren Alkylketten (C_{16-18}) zusammengefaßt. Der HLB-Wert sagt etwas über die CMC und Löslichkeit eines Tensids aus und definiert letztendlich die Lipophilie der Tensidlösung. Die Tenside mit niedrigen HLB-Werten sind schwer löslich. In Anwesenheit von leicht löslichem SDS wird ihre Löslichkeit als Folge des Einbaus ihrer Moleküle in die SDS-Micellen erhöht. In diesem Zusammenhang ist zu vermuten, dass es sich bei solchen Gemischen fast ausschließlich um mischmicellare Systeme handelt. Lipophile Analyten halten sich deswegen verstärkt in den Mischmicellen auf. Mit zunehmendem Ethoxylierungsgrad bzw. Mollgewicht des nichtionischen Micellenbildners verringert sich die effektive Ladung der Mischmicelle, was sich durch kürzere Migrationszeiten erkennen lässt (Abbildung 4.13, rechts und rote Vierecke, links).

Tenside mit hohen HLB-Werten sind auch ohne SDS leicht löslich, was für die Existenz individueller Nio-Micellen spricht. Bei Gemischen aus SDS und solchen Tensiden handelt es sich vermutlich um multimicellare Systeme (Nio- und Mischmicellen). Ausgehend von den bisherigen Beobachtungen (erhöhte Löslichkeit der langkettigen APGs in Nio-Tensid-reichen Puffern) kann davon ausgegangen werden, dass das Verteilungsgleichgewicht dieser Analyten in Richtung Nio-Micelle verschoben ist, was sich durch die kürzeren Migrationszeiten erkennen lässt (rote Vierecke, Abbildung 4.13 links).

Die Migrationsreihenfolge der APGs entspricht unter den angewandten Bedingungen ihrer Löslichkeit (βC_8 , αC_8 , βC_{10} , αC_{10} , $(\alpha\beta)C_{12}$). Da sich die besser löslichen APGs sowohl in der mobilen als auch in der micellaren Phase aufhalten, erreichen sie den Detektor schneller. Lipophilere APGs (längere Alkylkette und α -APGs), deren Moleküle nicht so stark polarisiert sind oder deren Eindringen in die Micelle sterisch weniger gestört ist, halten sich länger in den Micellen auf und erreichen dementsprechend den Detektor nach längeren Migrationszeiten.

Die kurzkettigen APGs gehen bei allen getesteten Trennsystemen klar differenzierte Wechselwirkungen mit den Micellen ein, was für eine vollständige Trennung und simultane Detektion der NebenkompONENTEN (z.B. Furanoside) ausreichend ist. Die höchste Trennleistung wurde mit dem Trennelektrolyten *Dehydol LS 10 (3000 mg/L); SDS 12 mM in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9,5)* erzielt (Abbildung 4.9). Im Hinblick auf die Signalintensitäten aller APGs ist das System mit *Dehydol LS 50* (Abbildung 4.12) gut optimiert.

Einfluss des pH auf die Trennleistung

Durch die Änderung des pH-Wertes im Basiselektrolyten lassen sich die Trennleistungen vieler CE-Systeme steuern. Meistens bewegen sich die verwendeten pH-Werte im Bereich von 8 bis 11, was die Erzeugung eines ausreichenden EOF ermöglicht. Die Verwendung eines höheren pH ist aufgrund der Erhöhung von Joulescher Wärme in der Kapillare nicht erwünscht. Im Rahmen dieser Optimierung wurde der pH des Trennelektrolyten *Dehydol LS 50 (2500 mg/L); SDS 12 mM in Na₂HPO₄ (10 mM)* im Bereich von 8 bis 11 variiert.

Da im untersuchten pH-Bereich weder die Proben- noch die Pufferkomponenten ihren Protonierungs- bzw. Dissoziationsgrad ändern, sollte die Trennleistung weitgehend pH-unabhängig sein. Die durchgeführten Experimente haben diese Überlegung bestätigt (Abbildung 4.14). Dabei wiesen die im Bereich pH 9,4 bis 11,2 aufgenommenen Elektropherogramme ein besseres Signal-zu-Rausch-Verhältnis auf, was vermutlich auf die geringere Differenz der pH-Werte von Trenn- und Detektionselektrolyten zurückzuführen ist. Daher wurden alle weiteren Messungen bei pH 9,2 bis 9,5 durchgeführt.

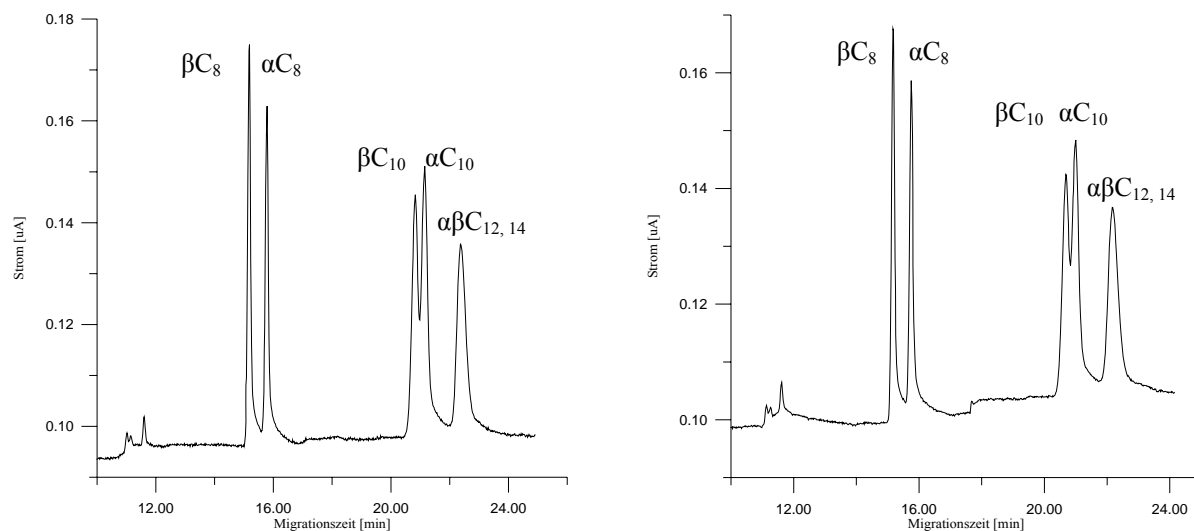


Abbildung 4.14: MEKC von $\alpha\beta\text{C}_8$, $\alpha\beta\text{C}_{10}$, $\alpha\beta\text{C}_{12}$, $\alpha\beta\text{C}_{14}$
 Trennelektrolyt: Dehydol LS 50 (2500 mg/L); SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM)
 links: pH 9,3; rechts: pH 11,2

Einfluss der Micellenbildnerkonzentrationen

Die Optimierung der Konzentration an nichtionischem Micellenbildner wurde mit dem Basis-elektrolyten SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,5) durchgeführt, dem Dehydol LS 50 in Konzentrationen von 2000 - 5000 mg/L zugegeben wurde (Abbildungen 4.15; 7.2, Anhang).

Die Zunahme der Konzentration an nichtionischem Micellenbildner hat folgende Wirkung:

- Steigerung der Signalintensitäten mittel- und langkettiger APGs (Optimum liegt bei 4000 - 4500 mg/L)
- Verschlechterung der Homologen- und Anomerentrennung (Optimum liegt bei 2000 - 2500 mg/L)
- Verkürzung der Migrationszeiten

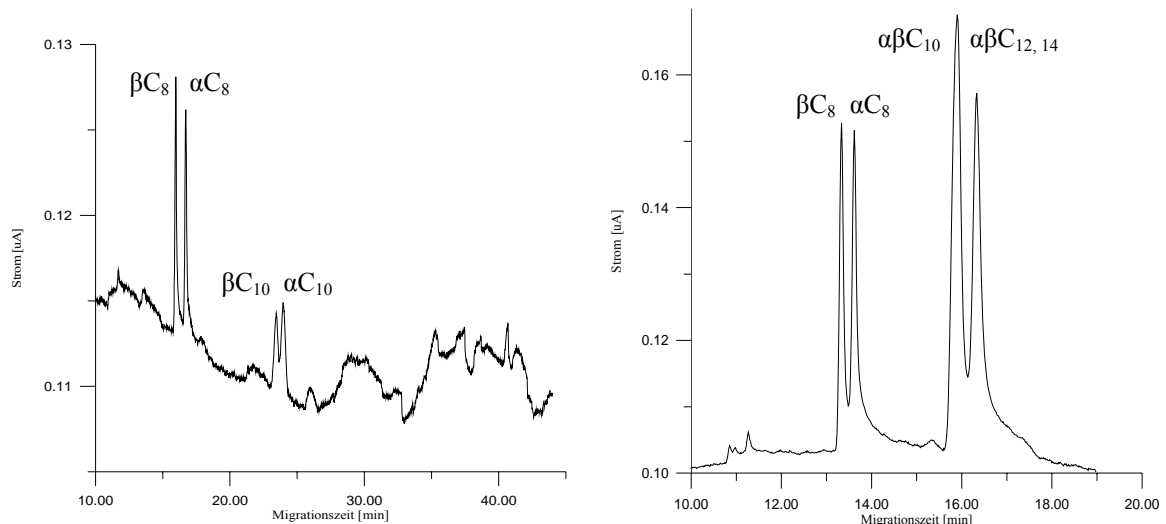


Abbildung 4.15: MEKC von $\alpha\beta C_8$ $\alpha\beta C_{10}$ βC_{12} $\alpha\beta C_{14}$
 Trennelektrolyt: SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM; pH 9,35)
 links: Dehydol LS 50 (2000 mg/L); rechts: Dehydol LS 50 (4500 mg/L)

Diese Effekte sind einerseits mit der Löslichkeitssteigerung der APGs im Elektrolyten verbunden, was durch die Erhöhung der Lipophilie der Micellen eine Änderung des Verteilungsgleichgewichtes der APGs zur Folge hat. Andererseits kann sich bei steigender Konzentration des nichtionischen Micellenbildners auch die Struktur und die Zusammensetzung der Mischmicelle ändern: sie weist eine kleinere effektive Ladung und deswegen eine geringere elektrophoretische Mobilität auf. Von großer Bedeutung ist auch die dynamische Belegung der Kapillarwand, was sich in der kontinuierlichen Verlängerung der Retentionszeiten mit zunehmender Anzahl der Analysen widerspiegelt. Durch regelmäßige Konditionierung der Kapillare wird dieser Effekt minimiert.

Die Steigerung der SDS-Konzentration im Trennelektrolyten führt dagegen:

- zur Verbesserung der Anomeren- und Homologentrennung
- zur Erhöhung des Rauschens im Detektor
- zu Signalintensitätsverlusten bei langkettigen APGs
- zur Verlängerung der Migrationszeiten

Der Einfluss der SDS-Konzentration auf die Trennung wurde mit dem Elektrolyten *Dehydol LS 50* (4500 mg/L) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,4) untersucht, dem SDS in Konzentrationen von 5 bis 30 mM zugegeben wurde (Abbildungen 4.16 und 7.3 im Anhang).

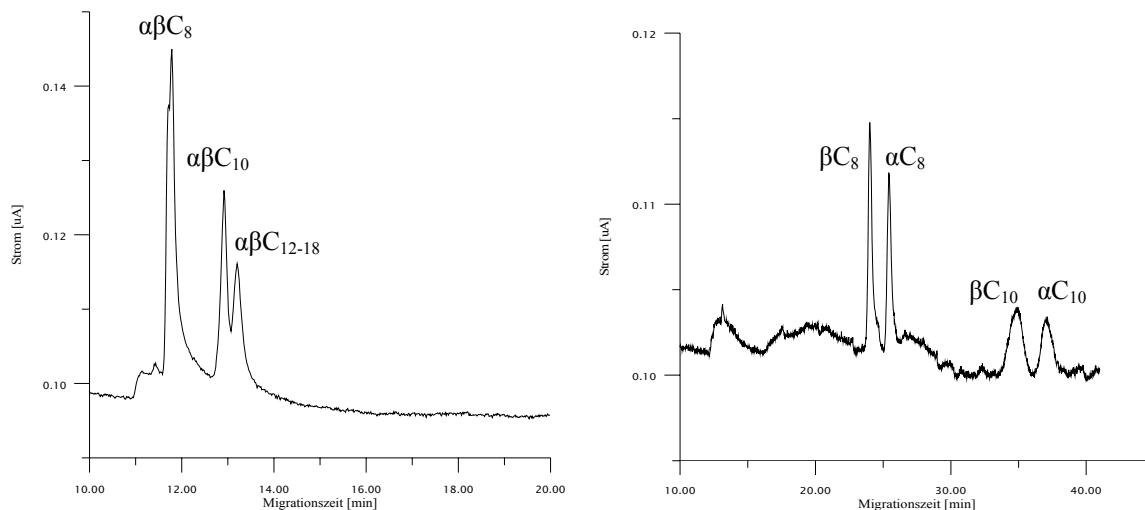


Abbildung 4.16: MEKC von $\alpha\beta C_8$ $\alpha\beta C_{10}$ βC_{12} $\alpha\beta C_{14}$ $\alpha\beta C_{16}$ $\alpha\beta C_{18}$
 Trennelektrolyt: Dehydol LS 50 (4500 mg/L); in Na_2HPO_4 (10 mM; pH 9,35)
 links: 5 mM SDS; rechts: 30 mM SDS

Mit zunehmendem SDS-Gehalt im Trennelektrolyten steigt die effektive Ladung der Mischmicellen, was zu einem breiteren micellaren Fenster führt. Dabei wird sogar eine Anomerentrennung der Analyten (α - und βC_{10}) erreicht. Eine mit zunehmender APG-Alkylkettenlänge einhergehende starke Abnahme der Signalintensitäten macht diesen positiven Effekt zunichte und erschwert die Quantifizierung der mittelkettigen APGs. Langkettige APGs werden bei Verwendung SDS-reicher Trennelektrolyte wegen der drastischen Signalintensitätsabnahme, die zusätzlich mit einem ungünstigen Signal-zu-Rausch-Verhältnis in der Messzelle begleitet ist, nicht detektiert (siehe oben). Die Einstellung der Konzentration auf 12 mM SDS hat sich als optimal erwiesen.

Zugabe eines organischen Modifiers

Durch die bisherigen Modifizierungen des Elektrolyten wurde die Selektivität des Trennsystems nicht entscheidend verbessert. Aufgrund der starken Wechselwirkungen langkettiger APGs ($C > 12$) mit den Micellen hielten sich diese ausschließlich in der micellaren Phase auf und wurden in Form eines Signals am Ende des micellaren Fensters angezeigt.

Die Zugabe eines organischen Lösungsmittels (Modifiers) zum Trennelektrolyten erhöht zusätzlich die Lipophilie der mobilen Phase, wodurch sich die Verteilungsgleichgewichte der Analyten neu einstellen und die Selektivität des Trennsystems geändert werden kann [79, 188].

Bei der Auswahl eines organischen Modifiers wurde beachtet:

- die Löslichkeit im Wasser
- die physikalischen Eigenschaften (Dielektrizitätskonstante, Dipolmoment und Flüchtigkeit)
- die elektrochemische Reaktion (Oxidationspotential für APGs)
- die elektrochemische Aktivität bei gegebenen Detektionsbedingungen (Vorhandensein von Hydroxyl- und/oder Aldehydgruppen)

Weitere Optimierungen wurden mit dem Elektrolyten *Dehydrol 50* (2500 mg/L), *SDS* (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM; pH 9,4) durchgeführt, dem

- 5 % (v/v) DMSO (Dimethylsulfoxid)
- 5 - 10 % (v/v) THF (Tetrahydrofuran)
- 5 % (v/v) DMF (Dimethylformamid)
- 5 - 15 % (v/v) Aceton
- 5 - 15 % (v/v) ACN (Acetonitril)
- 5 - 15 % (v/v) Dioxan

zugegeben wurden.

Es wurde festgestellt, dass nicht alle getesteten organischen Modifier für diese Anwendung geeignet sind. So wurden keine akzeptablen Elektropherogramme unter Verwendung von DMSO, THF und DMF erhalten. Fehlende Detektion der APGs, hohes Rauschen, Steigerung des Grundstromes und „Geisterpeaks“ sind typische Phänomene, die dabei beobachtet wurden. Aceton, das sich als „detektorneutrale“ Substanz erwies, zeigte gar keine Wirkung auf die Trennung, während die Zugabe von Dioxan und ACN eine Selektivitätsänderung verursachte (Abbildungen 4.17 und 7.4 im Anhang).

Die Erhöhung des ACN- bzw. Dioxan-Gehaltes im Trennelektrolyten führte:

- zur Homologentrennung (bis C₁₄)
- zur kontinuierlichen Verminderung der Signalintensitäten langkettiger APGs
- zu einem ungünstigen Signal-zu-Rausch-Verhältnis

Die Erhöhung des Dioxan-Gehaltes auf 10 % (v/v) führte auch zu einer deutlichen Selektivitätssteigerung bei (αβ)C₁₀. Als optimal erwiesen sich die Gehalte von 15 % (v/v) Dioxan und 10 % (v/v) ACN. Bei einer weiteren Erhöhung des Dioxan bzw. ACN-Gehaltes ergaben sich ungünstige Signal-zu-Rausch-Verhältnisse mit einer drastischen Abnahme der Signalintensität bei langkettigen APGs.

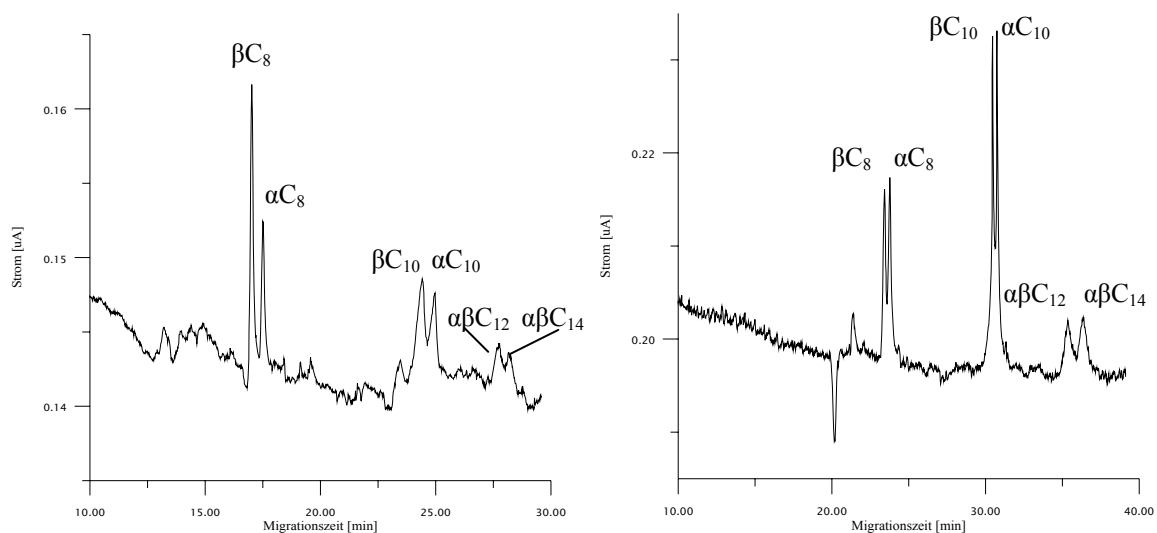


Abbildung 4.17: MEKC von αβC₈, αβC₁₀, βC₁₂, αβC₁₄
 Trennelektrolyt: Dehydol LS 50 (2500 mg/L); 12 mM SDS in Na₂HPO₄ (10 mM, pH 9,35)
 links: mit 10 % (v/v) ACN; rechts: mit 15 % (v/v) Dioxan

Auf der Basis eines Dioxan-haltigen (15 %, v/v) Trennelektrolyten wurden Trennsysteme mit unterschiedlicher Zusammensetzung vorbereitet und getestet (Abbildungen 7.6 - 7.7, Anhang). Dabei wurde die Konzentration eines Micellenbildners variiert, während die des anderen dem Optimum aus früheren Experimenten entsprach (Tabelle 4.4). Die Reduzierung der Dehydol-Konzentration führte zur Vergrößerung des micellaren Fensters mit geringfügiger Verbesserung der Trennleistung und gleichzeitiger Zunahme des Detektorrauschens. Die Reduzierung der SDS-Konzentration dagegen verkleinerte das micellare Fenster bei fast gleich bleibender Trennleistung und verringerte das Detektorrauschen (Abbildungen 4.18 – 4.19).

Parameter System	SDS [mM]	Dioxan [% v/v]	Dehydol LS 50 [mg/L]
1	12	15	2000 - 5000
2	5 - 20	15	4500

Tabelle 4.4: Untersuchung des Einflusses der Gehalte von SDS und Dehydol auf die Trennung

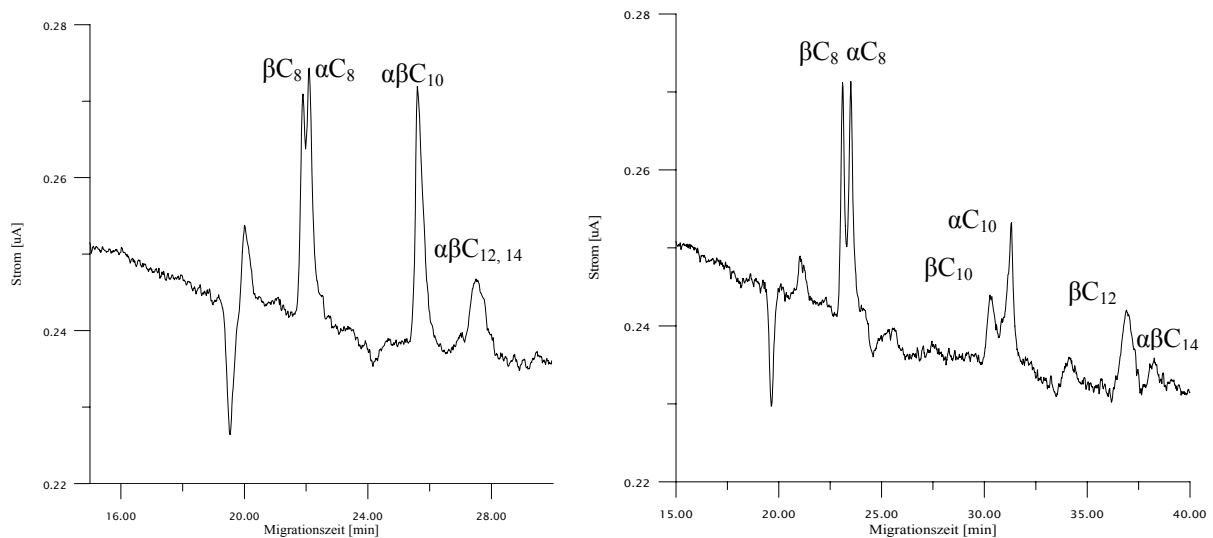


Abbildung 4.18: MEKC von $\alpha\beta C_8$ $\alpha\beta C_{10}$ βC_{12} $\alpha\beta C_{14}$
 Trennelektrolyt: SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,35); 15 % (v/v) Dioxan
 links: mit Dehydol LS 50 (5000 mg/L); rechts: mit Dehydol LS 50 (2000 mg/L)

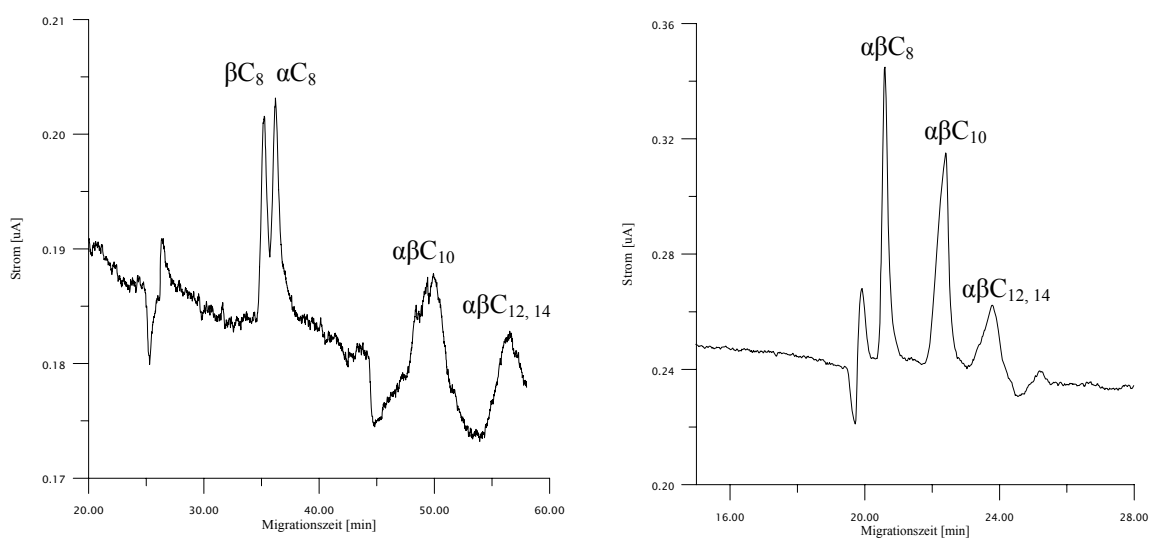


Abbildung 4.19: MEKC von $\alpha\beta C_8$ $\alpha\beta C_{10}$ βC_{12} $\alpha\beta C_{14}$
 Trennelektrolyt: Dehydol LS 50 (4500 mg/L); in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,35); 15 % (v/v) Dioxan
 links: mit 12 mM SDS; rechts: mit 5 mM SDS

Die Auftrennung der langkettigen APGs mit diesen Trennsystemen hätte sich möglicherweise durch weitere Erhöhung des Gehaltes von organischem Modifier verbessern lassen. Allerdings würde diese Trennleistungssteigerung durch gegenläufige Wirkungen beider für die Trennung entscheidenden Faktoren (hohe Gehalte von SDS und organischem Modifier im Elektrolyten) aufgehoben (Tabelle 4.5). Eine weitere Möglichkeit, die gewünschte Trennleistung zu erzielen, ist die Änderung der Natur der micellaren Phase (Einsatz eines anderen geladenen Micellenbildners).

Wirkung geladener Micellenbildner

Die bisher durchgeführten Optimierungsschritte, die Änderungen der Lipophilie/Hydrophilie-Balance des Trennelektrolyten zur Folge haben, waren für eine erfolgreiche Trennung der APGs nicht ausreichend. Von entscheidender Bedeutung sind gegenläufige Wirkungen der die Trennleistung bestimmenden Faktoren: die Konzentrationen beider Micellenbildner und die negative Wirkung auf die Signalintensität durch Synergie-Effekte in einem mit SDS/organischem Modifier angereicherten Elektrolyten. Alle die Trennleistung bestimmenden Parameter und ihre Einflüsse auf die Trennung sind in Tabelle 4.5 zusammengefasst.

Um die Selektivität des Trennsystems zu ändern und alle oben genannten negativen Faktoren möglichst stark zu minimieren, wurden weitere geladene Micellenbildner eingesetzt. Im Hinblick auf die verwendete Detektionsmethode beschränkte sich deren Auswahl auf die dem SDS chemisch und strukturell ähnlichen Tenside: Alkylsulfate und Alkylsulfonate mit unterschiedlicher Kettenlänge. In Tabelle 4.6 sind alle getesteten Substanzen aufgelistet.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurden die Trennsysteme sowohl mit kurz- als auch mit langkettigen Alkylsulfonaten getestet (Tabelle 4.6). Allerdings war die Zusammensetzung der Trennelektrolyten unterschiedlich: bei kurzkettigen Alkylsulfonaten wurde eine Zusammensetzung analog dem ursprünglichen SDS-haltigen elektrolyten gewählt, während bei langkettigen Alkylsulfonaten eine andere Elektrolytzusammensetzung entwickelt und dabei folgende wichtige Punkte beachtet werden mussten:

- die Tenside mit längeren Alkylketten weisen eine niedrigere CMC auf [29]
- ein 70 %-iger ACN - Anteil im Trennpuffer Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,4) ohne SDS stört die Detektion nicht (Abbildung 7.5, Anhang)

Parameter	Wirkung bei dessen Erhöhung
pH-Wert	keine
Konzentration des nichtionischen Micellenbildners	Steigerung der Signalintensität langkettiger APGs
	Verschlechterung der Homologentrennung
	Verschlechterung der Anomerentrennung
Konzentration des geladenen Micellenbildners	Verbesserung der Homologentrennung
	Verbesserung der Anomerentrennung
	Abnahme der Signalintensitäten langkettiger APGs
Länge der Alkylkette des geladenen Micellenbildners	Verschlechterung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses
	Verbesserung der Homologentrennung
Gehalt von organischem Modifier	Verbesserung der Homologentrennung
	Verschlechterung der Anomerentrennung
	Verschlechterung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses
	Abnahme der Signalintensitäten langkettiger APGs

Tabelle 4.5: Der Einfluss von Elektrolyt-Parametern auf Trennleistung und Detektion

Eine niedrige CMC ermöglicht den Einsatz der micellaren Trennsysteme schon bei viel kleineren Tensid-Konzentrationen, was vermutlich eine ausreichende Trennleistung liefern und die Verwendung eines ACN-reichen Puffers ermöglichen würde, ohne einen stark ausgeprägten negativen Effekt bei amperometrischer Detektion zu zeigen.

Die geringe Löslichkeit dieser Substanzen, die von der Länge ihrer Alkylketten abhängig ist, stellte ein Problem dar, das dadurch gelöst wurde, dass andere löslichkeitserhöhende Komponenten wie ACN und nichtionische Micellenbildner in den notwendigen Konzentrationen dem Elektrolyten zugegeben wurden. Als Basiselektrolyt wurde *Brij 58* (5000 mg/L) in Na_2HPO_4 (10 mM; pH 9,5) ausgewählt, da die langkettigen APGs aufgrund ihrer hohen Affinität zu den Nio-Micellen in ausreichender Menge gelöst werden und intensive Signale ergeben. Durch die günstigen elektrophoretischen Eigenschaften des Elektrolyten werden symmetrische Signale erhalten.

Das Screening aller untersuchten Trennsysteme zeigte einen direkten Zusammenhang zwischen der Alkylkettenlänge des zugesetzten Micellenbildners und der erhaltenen

getestete Micellenbildner	eingesetzte Elektrolytmatrix
Na-1-Octansulfonat Monohydrat (10 – 20 mM)	Dehydol LS 50 (2500 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 9,5)
Na-1-Decansulfonat (10 – 20 mM)	Dehydol LS 50 (2500 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 9,5)
Na-1-Dodecansulfonat (10 – 20 mM)	Dehydol LS 50 (2500 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 9,5)
Na-Octylsulfat (10 – 20 mM)	Dehydol LS 50 (2500 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 9,5)
Na-Ethylhexylsulfonat (10 – 20 mM)	Dehydol LS 50 (2500 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 9,5)
Na-Decylsulfat (10 – 20 mM)	Dehydol LS 50 (2500 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 9,5)
Sulfopon 12-18 G (Na-C ₁₂₋₁₈ -Fettalkoholsulfat) (10 – 20 mM)	Brij 58 (5000 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 9,5); ACN (5 – 30 %)
Texapon N 70 (Na-Laurylmyristylethersulfat) (10 – 20 mM)	Brij 58 (5000 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 9,5); ACN (5 – 30 %)
Na-1-Tetradecansulfonat (2 – 5 mM)	Brij 58 (5000 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 9,5); ACN (5 – 30 %)
Na-1-Hexadecansulfonat (2 – 3 mM)	Brij 58 (5000 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM; pH 9,5); ACN (5 – 30 %)

Tabelle 4.6: Screening verschiedener Alkylsulfonate und Alkylsulfate

Trennleistung. Mit abnehmender Alkylkettenlänge des Micellenbildners verengt sich das micellare Fenster, wodurch die Analyten nicht genug Zeit zur Wechselwirkung haben. Möglicherweise liegen die beiden Micellenbildner überwiegend in Form individueller Micellen vor, was das Verteilungsgleichgewicht der APGs auf die Seite der Nio-Micellen verschiebt und als Folge davon eine Verkürzung der Migrationszeiten bewirkt (Abbildung 4.20). Dafür spricht auch die Tatsache, dass die Signalintensitäten langkettiger APGs ihrer Konzentration entsprechend groß sind, was auf bevorzugten Wechselwirkungen mit Nio-Micellen beruht und eine vollständige Überführung in die Lösung ermöglicht.

Der Einsatz langkettiger geladener Micellenbildner zeigte:

- keine negative Auswirkung auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis
- gleiche Trennleistungen beim Einsatz aller getesteter Micellenbildner unabhängig von ihren chemischen Strukturen (Abbildung 7.9, Anhang)

- Homologentrennung $(\alpha\beta)C_8 - (\alpha\beta)C_{10} - (\alpha\beta)C_{12} - (\alpha\beta)C_{(14-18)}$
- keine Anomerentrennung
- hohe Intensität (entsprechend ihrer Konzentration) aller APG-Signale
- Verlust an Signalintensität für langkettige APGs bei mehr als 25 % ACN im Trennelektrolyten

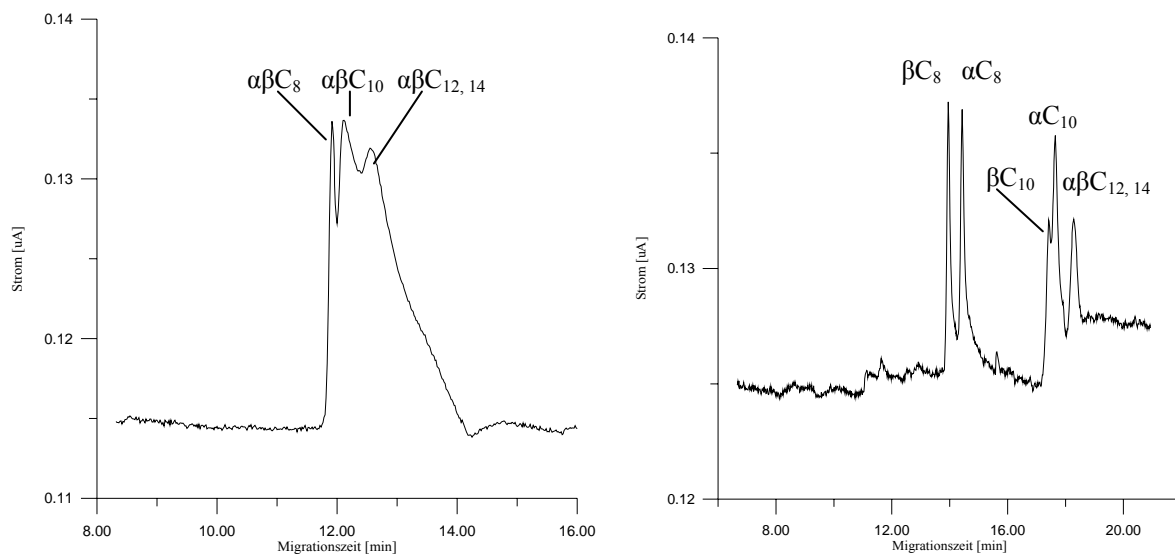


Abbildung 4.20: MEKC von $\alpha\beta C_8$ $\alpha\beta C_{10}$ βC_{12} $\alpha\beta C_{14}$
 Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50 (2500 mg/L) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,35)
 links: mit Na-octylsulfonat (12 mM); rechts: mit Na-dodecylsulfonat (12 mM)

Unter Verwendung von Na-Tetradecylsulfonat (NaTDS) sind die mit der mangelnden Löslichkeit von langkettigen Micellenbildnern verbundenen Probleme am wenigsten aufgetreten. Dagegen konnten die Elektrolyten mit Na-Hexadecylsulfonat nur unter Erwärmung und Beschallung vorbereitet werden und wiesen trotzdem keine gute Stabilität auf. Als geladener Micellbildner wurde daraufhin Natriumtetradecylsulfonat ausgewählt. Nach einer Optimierung der Zusammensetzung des NaTDS-haltigen Trennelektrolyten konnten für die optimalen Trennleistungen folgende Parameter festgehalten werden: $c_{NaTDS} = 3$ mM und 25 % (v/v) ACN (Abbildungen 4.21 und 7.10 - 7.12 im Anhang).

Durch eine wesentliche Erhöhung der Lipophilie der mobilen Phase und eine zusätzliche Änderung der Micelleneigenschaften wurde eine Verbesserung der Trennleistung erreicht. Die im Trennsystem existierende Hydrophilie/Lipophilie-Balance ermöglicht eine bessere Differenzierung der Wechselwirkungen der Analyten unterschiedlicher Kettenlängen mit den Micellen (Trennung $(\alpha\beta)C_{12} - (\alpha\beta)C_{(14-18)}$), obwohl diese Trennung in einem kleineren

Zeitfenster stattfindet. Die Verweildauer weniger löslicher α -Anomeren in der mobilen Phase nimmt infolge einer erhöhten Lipophilie dieser Phase zu. Deswegen werden die auf den verschiedenen Löslichkeiten der Anomeren basierenden Unterschiede in der Verteilung zwischen beiden Phasen ausgeglichen (fehlende Anomerentrennung).

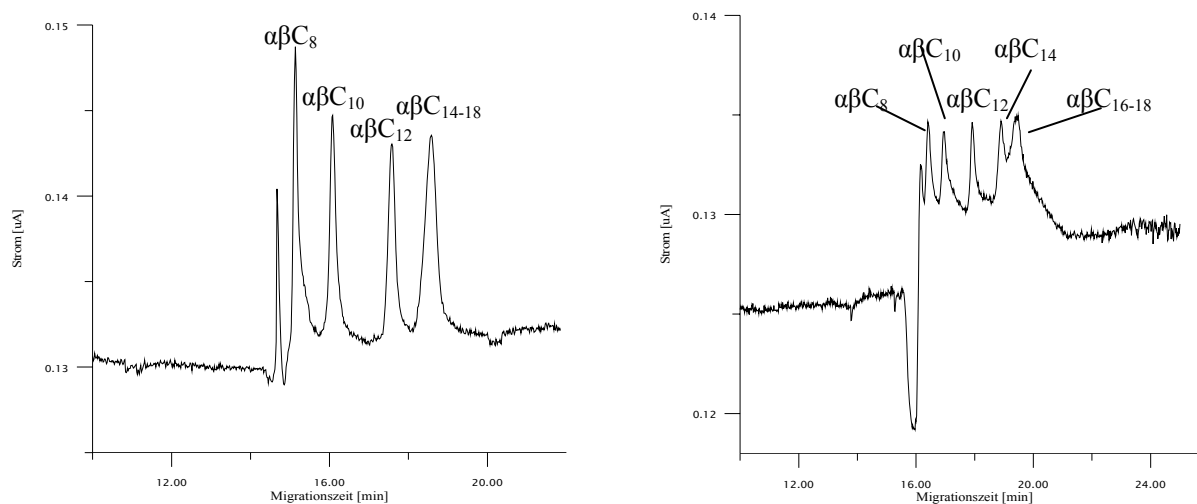


Abbildung 4.21: MEKC von $\alpha\beta C_8$ $\alpha\beta C_{10}$ $\alpha\beta C_{12}$ $\alpha\beta C_{14}$ $\alpha\beta C_{16}$ $\alpha\beta C_{18}$
 Trennelektrolyt: NaTDS (3 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,4);
 links: mit 25 % (v/v) ACN; rechts: mit 30 % (v/v) ACN

Die erhaltenen Trennleistungen können einige Probleme bei der Analyse von kommerziell erhältlichen Produkten bereiten. Die störende, unter gegebener Bedingung elektrochemisch aktive Probenmatrix, kann in Form einiger Signale unmittelbar nach dem EOF angezeigt werden. In kritischen Fällen kann es zur Überlagerung des Matrix-Signals mit dem $(\alpha\beta)C_8$ -Signal kommen, denn diese beiden Signale sind zu einem zeitlich kaum different, zum anderen ist das Matrix-Signal wesentlich intensiver. Dieses Problem lässt sich nur durch eine zeitaufwendige Probenvorbereitung (SPE-Reinigung der Probe) umgehen.

Mit Hilfe einer umfassenden Untersuchung verschiedener die Trennung beeinflussenden Faktoren und Einsatz einer *post-column*-Elektrolytmodifizierung wurden Fortschritte in der Entwicklung einer MEKC-PAD-Methode für Bestimmung von APGs gemacht. Das von *Nguyen* entwickelte Trennsystem [66] ermöglichte nur die Trennung und Detektion von kurzkettigen APGs, wobei die langkettigen eine Co-Migration zeigten und bei der Detektion diskriminiert wurden. Im Gegensatz zu der bisher bekannten Methode weisen die neu

entwickelten Trennsysteme

- *Dehydol LS 50 (2500 mg/L); SDS 12 mM in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9,5)*
- *Na-Tetradecylsulfonat (3 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9,5); ACN (25 %, v/v)*

eine bessere Trennleistung, höhere Empfindlichkeit und Selektivität auf und wurden zur Analyse technischer und kommerzieller Produkte eingesetzt.

Eine weitere Optimierung der Trennbedingungen für die APG-Analyse mittels PAD stößt aufgrund der existierenden gegenläufigen Effekte an ihre Grenzen.

4.1.4.3 Analyse von technischen APG-Produkten

Die von der Firma Cognis zur Verfügung gestellten technischen APG-Produkte wurden unter Verwendung beider optimierten Trennsysteme analysiert (Tabelle 4.7; Abbildung 7.13, Anhang).

Produkt	das zur Analyse eingesetzte Trennsystem
APG [®] -220	Dehydol LS 50 (2500 mg/L); SDS (12 mM) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM, pH 9,5)
	NaTDS (3 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM, pH 9,5)
7484-150	Dehydol LS 50 (2500 mg/L); SDS (12 mM) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM, pH 9,5)
APG [®] -600	NaTDS (3 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM, pH 9,5)
APG [®] -1200	NaTDS (3 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na ₂ HPO ₄ (10 mM, pH 9,5)

Tabelle 4.7: Einsatz optimierter Trennsysteme zur Analyse technischer Produkte

In Abbildung 4.22 sind die unter Verwendung von *NaTDS (3 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na₂HPO₄ (10 mM, pH 9,5); ACN (25 %, v/v)* als Trennelektrolyten aufgenommenen Elektropherogramme von zwei technischen Produkten (APG[®]-220 und APG[®]-600) dargestellt. Die Ergebnisse der qualitativen Auswertung (Ermittlung der APG-Alkyl-

kettenverteilung in den Proben) mittels Aufstockung einzelner Probenkomponenten wurden durch die Herstellerangaben (Tabelle 1.1) bestätigt.

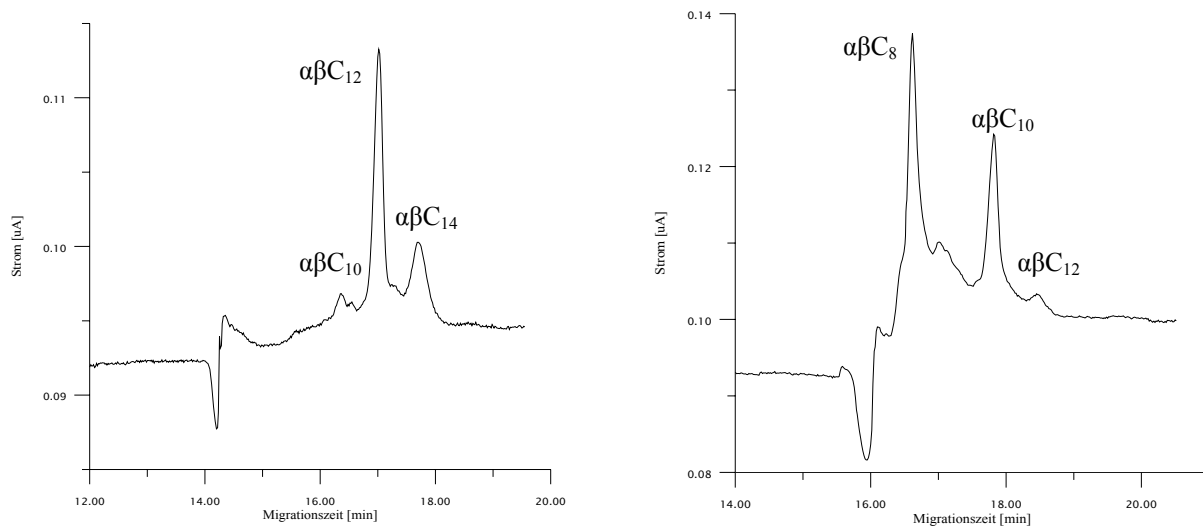


Abbildung 4.22: Analyse technischer Produkte: APG[®]-600 (links); APG[®]-220 (rechts)
Trennelektrolyt: NaTDS (3 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na₂HPO₄ 10 mM pH 9,4; ACN 25 % (v/v)

Technische Produkte, die neben den langkettigen auch kurzkettinge APGs enthalten, wurden zusätzlich mit dem Trennsystem *Dehydol LS 50* (2500 mg/L); *SDS* (12 mM) in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9,5) analysiert. In Abbildung 4.23 sind die Elektropherogramme der technischen Produkte APG[®]-220 und 7484-150 dargestellt. Die qualitative Auswertung erfolgte durch Aufstocken der Proben und wurde durch die Angaben des Herstellers bestätigt. Das APG-Muster jedes technischen Gemisches ist, bedingt durch den Herstellungsprozess, spezifisch.

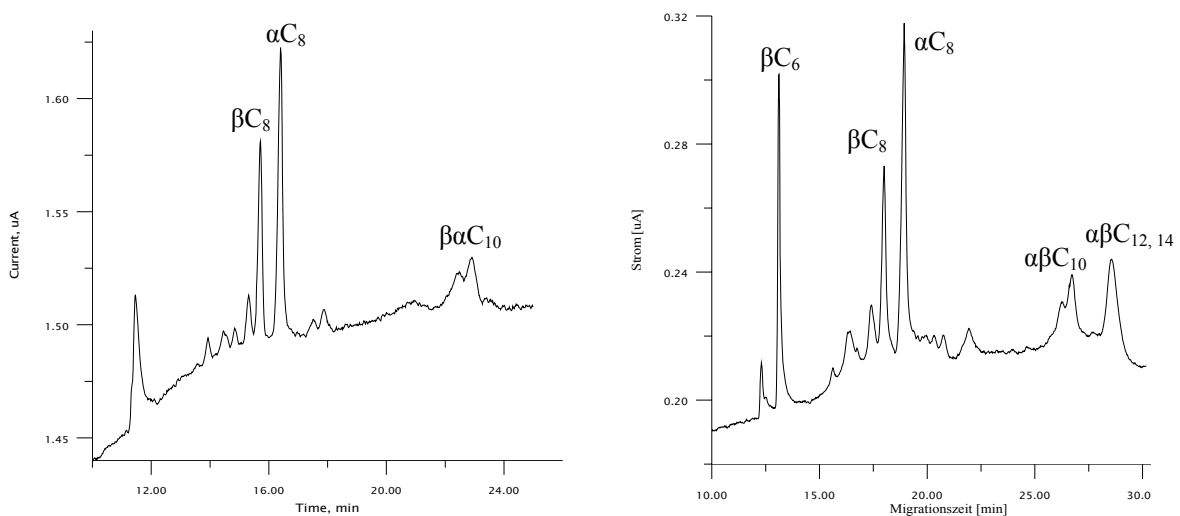


Abbildung 4.23: Analyse technischer Produkte: APG[®]-220 (links); 7484-150 (rechts)
Trennelektrolyt: *Dehydol LS 50* (2500 mg/L); *SDS* (12 mM) in Na₂HPO₄ (10 mM, pH 9,4)

Die mit diesem Elektrolyten erzielte Trennleistung ermöglichte eine saubere Trennung aller APGs im Migrationszeitenbereich von 12 bis 20 min und die Detektion vorhandener Nebenkomponten (anderer Struktur- und Stereoisomeren gleicher Kettenlänge). Dieser Bereich kann als der aus der IR-Spektroskopie bekannte *Fingerprint*-Bereich angesehen werden. Mit diesen produktcharakteristischen „Muster-Elektropherogrammen“, z.B. für APG[®]-220, können die APGs in kommerziell erhältlichen und technischen Produkten zweifelsfrei zugeordnet werden (Fremd- oder Eigenproduktion Firma Cognis).

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurde eine Quantifizierung der APGs in einigen technischen Produkten durchgeführt.

4.1.4.4 Quantifizierung von APGs in technischen Produkten

Die Bestimmung des Linearitätsbereiches einzelner APGs wurde mit beiden optimierten Trennsystemen (*Dehydol LS 50* (2500 mg/L); *SDS 12 mM in Na₂HPO₄* (10 mM; pH 9,5) und *NaTDS* (3 mM), *Brij 58* (5000 mg/L) in *Na₂HPO₄* (10 mM; pH 9,5); *ACN* (25 %, v/v)) durchgeführt.

Verwendung des Trennsystems: NaTDS (3 mM), Brij 58 (5000 mg/L) in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9,5); ACN (25 %, v/v)

Die Kalibriergeraden einzelner APGs wurden in einem Konzentrationsbereich von 0,25 bis 5 mM erstellt. Um die Unterschiede der registrierten Peakflächen der langsam und schnell migrierenden Analyten auszugleichen, wurde eine Zeitnormierung durchgeführt. Die Verwendung eines internen Standards war aufgrund der Überlagerung seines Signals mit dem von ($\alpha\beta$)C8 nicht möglich. Daher wurden keine anderen Normierungen gemacht. Im untersuchten Konzentrationsbereich besteht eine lineare Abhängigkeit der Peakflächen von den Konzentrationen für alle APGs (Abbildung 4.24). Die Korrelationskoeffizienten der ermittelten Kalibriergeraden liegen im Bereich von 0,9827 (für ($\alpha\beta$)C₁₄) bis 0,9969 (für β C₈). Aufgrund der bestehenden Trennleistung (Co-Migration der α - und β -Anomeren) lässt sich nur die Summe der Anomeren der APG-Homologe bestimmen. Die ermittelten Responsefaktoren der APGs mit gleicher Alkylkettenlänge sind sehr ähnlich, insofern kann für die Quantifizierung ein mittlerer Responsefaktor zu Grunde gelegt werden, der als Näherung

bei der Analyse von Gemischen mit einem unbekanntem Verhältnis von α - und β -Anomeren eingesetzt werden kann.

Das Fehlen eines internen Standards erschwerte die Quantifizierung der APGs in technischen Produkten. Es wurde festgestellt, dass eine sichere quantitative Analyse der APGs nur unter Verwendung derselben Arbeitselektrode sowohl für die Kalibrierung als auch für die Proben möglich war. Kann dies nicht gewährleistet werden, ist eine neue Kalibrierung notwendig. Im Laufe der Zeit traten kontinuierliche Empfindlichkeitsverluste der Arbeitselektrode auf, die in ihrer zunehmenden Verschmutzung begründet sind. Wegen dieser Unsicherheit wurde auf eine routinemäßige Quantifizierung der Probenkomponenten in technischen Produkten verzichtet.

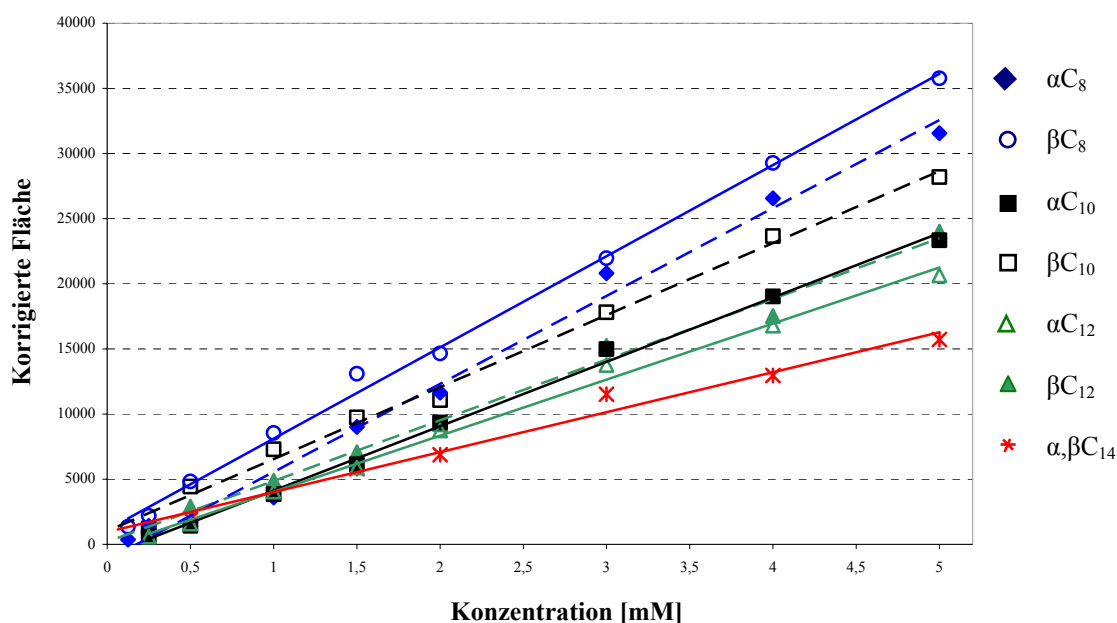


Abbildung 4.24: Kalibrierung der APGs (C_8 bis C_{14})

Trennelektrolyt: NaTDS (3 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na_2HPO_4 (10 mM; pH 9,5); ACN 25 % (v/v)

Verwendung des Trennsystems: Dehydol LS 50 (2500 mg/L); SDS 12 mM in Na_2HPO_4 (10 mM; pH 9,5)

Die Verwendung eines internen Standards bringt den Vorteil, dass Empfindlichkeitsverluste, Injektionsschwankungen und negative Effekte beim Wechsel der Arbeitselektrode ausgeglichen bzw. vermieden werden können. Als interner Standard zur Bestimmung von APGs in technischen Produkten wurde β -D-hexylmonoglycopyranosid (βC_6) eingesetzt, das in technischen APG-Formulierungen nicht vorkommt. βC_6 weist kaum Wechselwirkungen

mit den vorhandenen Micellen auf und wird in Form eines Signals unmittelbar nach dem EOF angezeigt. Die Kalibriergeraden einzelner APGs wurden in einem Konzentrationsbereich von 0,25 bis 5 mM erstellt. Die lineare Abhängigkeit im untersuchten Konzentrationsbereich wurde für alle APGs festgestellt (Abbildungen 4.25 und 4.26). Die Korrelationskoeffizienten lagen im Bereich von 0,9812 (für αC_{12}) bis 0,9948 (für αC_8). Bei der Auswertung der Messergebnisse wurden die entsprechenden Normierungen durchgeführt.

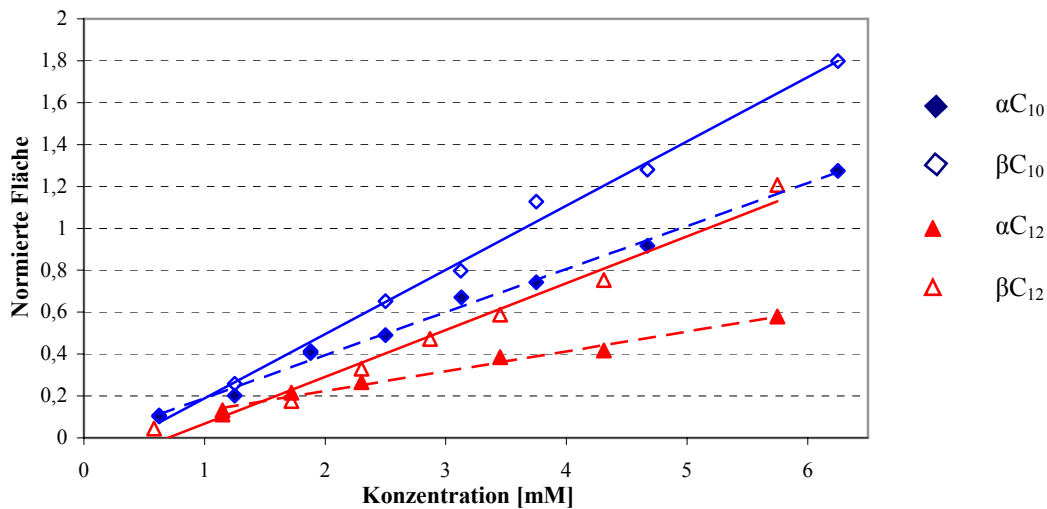


Abbildung 4.25: Kalibrierung von αC_{10} , βC_{10} , αC_{12} und βC_{12} bei Verwendung des internen Standards βC_6
Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50 (2500 mg/L); SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,5)

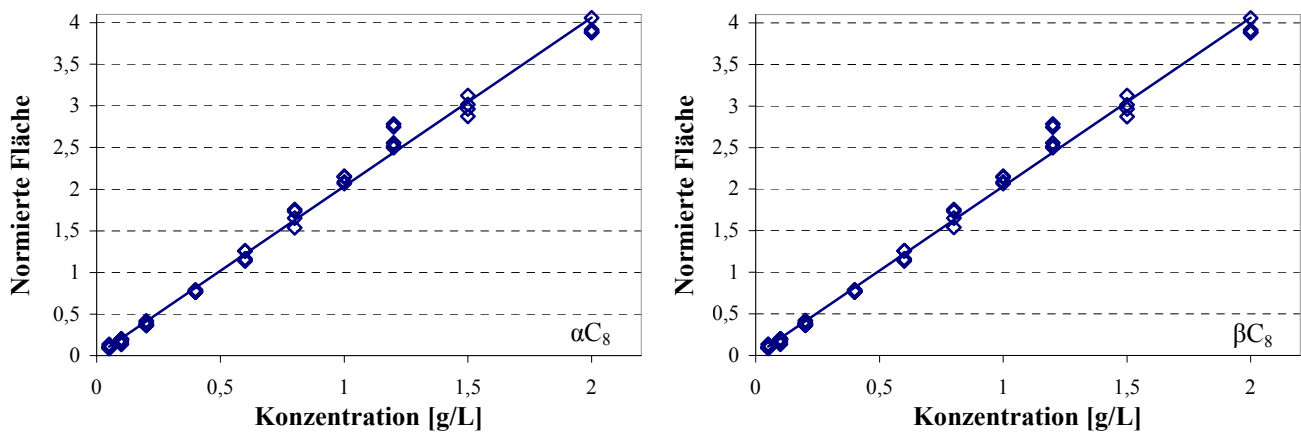


Abbildung 4.26: Kalibriergeraden von αC_8 und βC_8 bei Verwendung des internen Standards βC_6
Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50 (2500 mg/L); SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,5)

Bestimmung von α C₈- und β C₈-Gehalt in technischen Produkten APG[®]-220 und 7484-150

Das Trennsystem *Dehydol LS 50* (2500 mg/L); *SDS* (12 mM) in *Na₂HPO₄* (10 mM; pH 9,5) wurde zur quantitativen Bestimmung von α - und β C₈ in den technischen Produkten APG[®]-220 und 7484-150 eingesetzt. Aufgrund der bestehenden Trennleistung (Co-Migration der Mono-APGs und Maltoside gleicher Kettenlänge ab C = 10) (Abbildung 7.14, Anhang) wurde eine Quantifizierung dieser Probenkomponenten nicht durchgeführt. Die Gehalte von α - und β C₈ wurden sowohl anhand deren Kalibriergeraden als auch mittels Standardadditionsverfahren bestimmt.

Durch Einsetzen von entsprechend normierten Flächen der zu bestimmenden Probenkomponenten in die Kalibrierfunktionen und unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors *F* lassen sich ihre Gehalte (*G*) in g pro 100 g Probe berechnen nach:

$$G \text{ [g/100g]} = \frac{C \text{ [g/l]} \times 100}{E \text{ [g/L]}} ,$$

wobei die Berechnung der Probenkonzentration (*E*) und der Analytenkonzentration (*C*) erfolgt nach:

$$E \text{ [g/L]} = \frac{E \text{ [g]} \times 1000 \text{ [mL]}}{V \text{ [mL]}} \qquad C \text{ [g/L]} = \frac{y - a}{b} \times F.$$

Mittels Standardadditionsverfahren (Abbildungen 7.15, Anhang) wurden die Gehalte von α - und β C₈ (*G*) in der Probe durch die Extrapolierung der Kalibriergeraden bei *y* = 0 wie folgt berechnet:

$$G \text{ [g/100g]} = \frac{C \text{ [g/L]} \times 100}{E \text{ [g/L]}} ,$$

wobei die Probenkonzentration in g pro Liter Probelösung nach folgender Formel berechnet wurde:

$$E \text{ [g/L]} = \frac{E \text{ [g]} \times 1000 \text{ [mL]}}{V \text{ [mL]}}$$

Die Ergebnisse der Quantifizierung mittels Standardadditionsverfahren waren nahezu deckungsgleich mit denen der Kalibrierfunktionen (Tabelle 4.8) und bestätigen zudem die Angaben der Herstellerinformation (Cognis): der Summengehalt von Monoglucoopyranosiden C₈ in APG[®]-220 beträgt 23,26 % (bestimmt mittels HPLC-RID).

Im Rahmen dieser Quantifizierung wurden auch die Nachweis-, Erfassung- und Bestimmungsgrenze sowie die Verfahrensstandardabweichung und die kritischen Werte für αC_8 und βC_8 nach DIN 32645 (Mai 1994) berechnet

berechnete Werte	αC_8	βC_8
% in APG [®] -220 *	16,18 ± 0,31 (n = 9; t = 99 %)	8,22 ± 0,26 (n = 9; t = 99 %)
% in APG [®] -220 **	16,20 ± 0,16 (n = 9; t = 99 %)	9,17 ± 0,34 (n = 9; t = 99 %)
% im Produkt 7484-150	2,50 ± 0,84 (n = 9; t = 99 %)	1,20 ± 0,16 (n = 9; t = 99 %)
Nachweisgrenze ***	0,0702 [g/L] (0,24 mM)	0,0752 [g/L] (0,26 mM)
Erfassungsgrenze	0,48 mM	0,52 mM
Bestimmungsgrenze	0,70 mM	0,75 mM
kritischer Wert	0,0851	0,1594
Verfahrensstandard- abweichung	0,0454	0,0491

* Gehalt berechnet durch die Kalibriergeraden

** Gehalt berechnet durch Standardadditionsverfahren

*** Die Berechnungen der Nachweis-, Erfassung- und Bestimmungsgrenze wurden nach DIN 32645 (Mai 1994) durchgeführt

Tabelle 4.8: Gehalte, Nachweis-, Erfassung- und Bestimmungsgrenze, kritische Werte und Verfahrensstandardabweichung der Bestimmung von α - und βC_8 in technischen Produkten

4.1.4.5 Analyse von kommerziellen Produkten

Verschiedene Körperpflegemittel, Shampoos und Haushaltsreiniger wurden auf den Gehalt eventuell vorhandener APGs mittels MEKC-PAD mit dem Trennsystem *Dehydol LS 50* (2500 mg/L); SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,5) untersucht (Abbildung 7.16, Anhang).

Die Probenvorbereitung bestand nur in der Einwaage und dem Auflösen der Probe im Trennelektrolyten. Demzufolge wäre eine Störung durch die vorhandene Probenmatrix zu erwarten. Trotz der komplexen Zusammensetzung der kommerziellen Produkte (die Inhaltsstoffe einer zu untersuchenden Probe sind in Tabelle 7.4, Anhang dargestellt) konnten die Proben problemlos analysiert werden. Die angewandten Detektionsbedingungen schlossen die Erfassung anderer potentiell elektrochemisch aktiver Tenside (z.B. FAEO, FAS) aus. Viele andere nieder-molekulare Probenkomponenten (wie z.B. Benzylalkohol, Honig oder

Glycerin) sind unter den Detektionsbedingungen elektrochemisch aktiv und werden ebenso angezeigt. Da sie keine Wechselwirkung mit den Micellen haben, erscheinen ihre Signale am Anfang des micellaren Fensters (Abbildung 4.27). Die Quantifizierung von APGs in kommerziellen Produkten war aus diesem Grund nicht möglich: die elektrochemisch aktive Probenmatrix überlagert in der Regel den Peak des internen Standards (βC_6). Die Probenaufarbeitung mittels SPE nach *Billian* [190] (Adsorption an einem RP-18-Material und nachfolgende Extraktion der APGs mit Methanol) eliminiert die elektrochemisch aktiven Matrixkomponenten nicht. Das breite Spektrum der in den Handelsprodukten eingesetzten Stoffe fordert eine individuelle Probenvorbereitung für praktisch jedes Produkt und ist sehr zeitaufwendig. Die Verwendung anderer interner Standards (z.B. C_{10-14} - Maltoside) scheidet aus, da es zu einer Co-Migration mit gleichen bereits in der zu analysierenden Probe befindlichen Komponenten kommt.

Der Vergleich mit den aufgenommenen Elektropherogrammen der technischen Gemische ermöglichte gesicherte Aussagen über die Herkunft der APGs in den analysierten Handelsprodukten. Abbildung 4.28 zeigt die übereinander gelegten Elektropherogramme eines technischen Produktes der Firma Cognis (APG[®]-220) und eines Duschbades. Es lässt sich erkennen, dass die APGs beider Proben bis zur Kettenlänge C_{10} weitgehend identisch sind. Im Duschgel sind zusätzlich langkettige APGs enthalten.

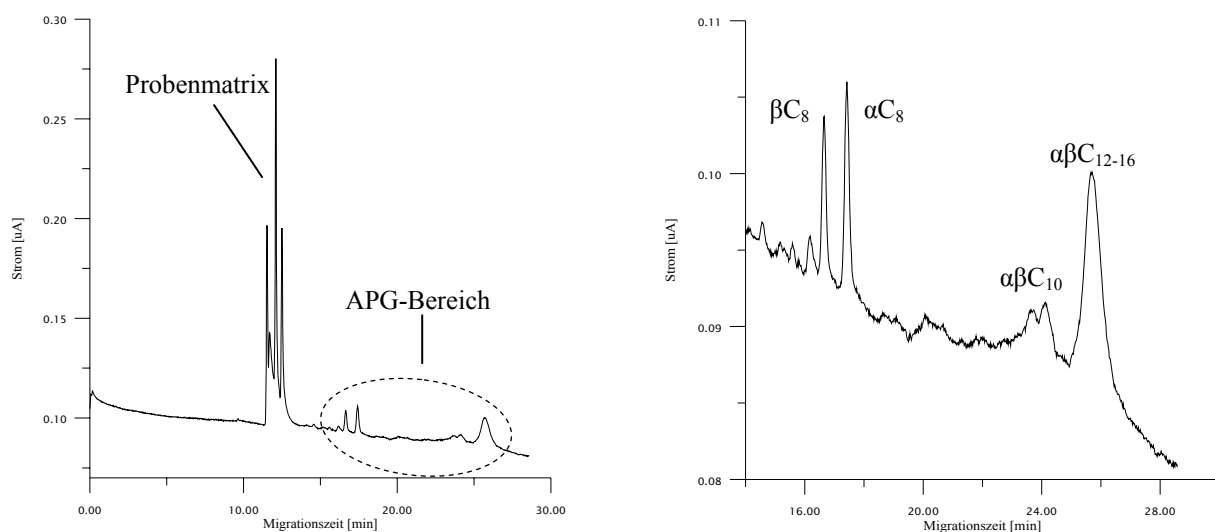


Abbildung 4.27: MEKC von Duschgel „Fruchtdusche Melone“ (Mann&Schröder GmbH)
links: das gesamte Elektropherogramm; rechts: APG-Bereich vergrößert
 Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50 (2500 mg/L); SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,4)

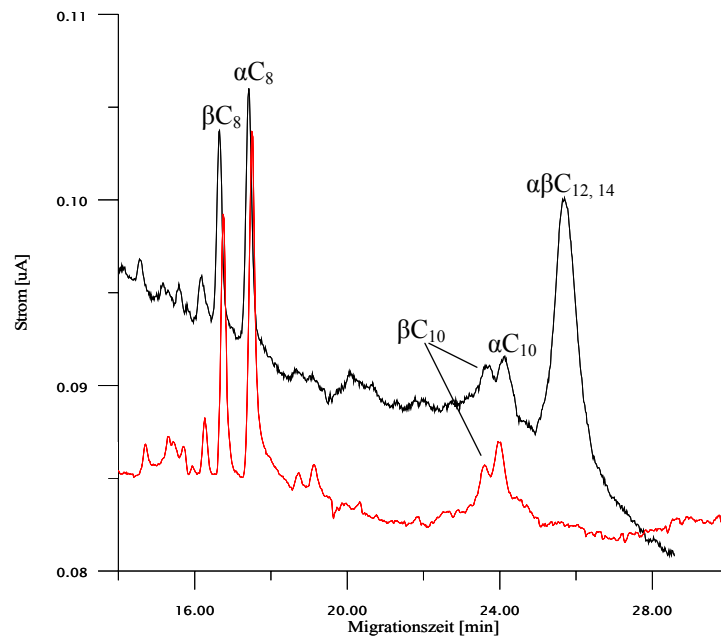


Abbildung 4.28: Vergleich zweier Elektropherogramme:
schwarz: Duschgel „Fruchtdusche Melone“ (Mann&Schröder GmbH); rot: APG[®]-220
Trennelektrolyt: Dehydol LS 50 (2500 mg/L); SDS (12 mM) in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9,5)

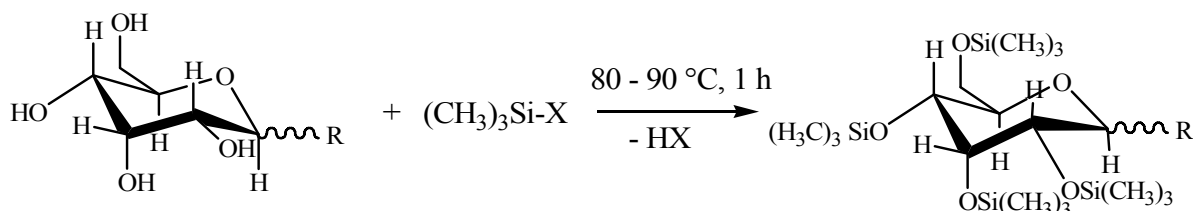
4.2 GCxGC-(TOF)MS-Analyse von APG-Gemischen

Aufgrund der hohen Lipophilie der langkettigen APGs und ihrer großen Affinität zu den Micellen wurde nur eine eingeschränkte Trennung mittels MEKC erreicht, die keine vollständige Information über die Zusammensetzung und Gehalte aller APGs liefern kann. Die klassische Gaschromatographie wurde zur Analyse von APGs bereits erfolgreich eingesetzt und ermöglicht die Detektion aller Mono- und einiger Poly-APGs mit niedrigen Glucosilierungsgraden. Allerdings setzt der Einsatz dieser Methode einige Trenn- und Reinigungsschritte voraus, um die mögliche Koelution der APGs mit anderen GC-gängigen Komponenten der Realproben zu vermeiden [68, 190]. Die zweidimensionale comprehensive Gaschromatographie, die zwei unterschiedliche Trennmechanismen koppelt und eine entsprechend größere Peakkapazität besitzt, stellt eine Alternative zur Trennung und zum Nachweis der Komponenten komplexer Proben ohne zeitaufwendige Probenvorbereitung dar.

4.2.1 Grundlagen

Meistens werden GC-Untersuchungen von APGs nach deren Überführung in eine flüchtige Form mittels Derivatisierung durchgeführt. In der Literatur sind mehrere Silylierungsmethoden zur Erzeugung von flüchtigen thermostabilen Derivaten von Zuckern [191] und APGs (Umsetzung mit Trisil Z [63], BSTFA/MSTFA [68, 190]) beschrieben. Diese Erkenntnisse dienen als Basis für die ersten in der vorliegenden Arbeit gemachten GCxGC-Untersuchungen. Bei der weiteren Beschreibung der GCxGC-(TOF)MS-Analysen von APG-Gemischen handelt es sich ausschließlich um deren TMS-Derivate.

Allgemein läuft die Silylierung von APGs nach folgendem Schema ab:



Die Vorversuche wurden mittels GCxGC-FID durchgeführt. Als Standards dienten käufliche Mono-APGs ($\alpha,\beta\text{-C}_{8, 10, 12}$), $\beta\text{-C}_{10, 12, 14, 16}$ -Maltoside (als Diglucoside) und fraktionierte APG-Gemische ($\alpha,\beta\text{-C}_{14, 16, 18}$) aus einem Herstellungsprozess der Firma Cognis. Diese wurden mit

BSTFA/MSTFA nach der Methode von *Billian* [190] umgesetzt und gaschromatographisch untersucht. Die Analysen erfolgten mit nachstehenden Parametern:

1. Säule	Factor four Varian (VF-5 ms); 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m
2. Säule	BPX-50 (SGE); 1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m
Injektor	Split/Splitless (1:10), 320 °C;
Injektionsvolumen	Autosampler 1 μ L
Detektor	FID, 320 °C
Trägergas	He, 48 psi, konstanter Druck
Make-up Gas	N ₂ , 30 mL/min
Brenngas	synthetische Luft, 400 mL/min; H ₂ 40 mL/min
Temperaturprogramm	70 °C (1 min), 40 °C/min bis 150 °C (0 min), 5 °C/min bis 320 °C (10 min)
Modulatorfrequenz	4 s

Unter diesen Bedingungen wurde eine vollständige Trennung aller Standards erreicht. Es ergab sich folgende Elutionsreihenfolge:

- nicht umgesetzte Zucker (Monosaccharide)
- Mono-Furanoside vor Mono-Pyranosiden gleicher Alkylkettenlänge (Elution mit wachsender Alkylkette)
- Diglucoside (Elution mit wachsender Alkylkette).

Zur Beantwortung der Frage, ob unter den angewandten GCxGC-Analysenbedingungen die gewünschte Trenneffizienz bei der Untersuchung eines kommerziellen Produktes erzielt wird, wurden einige Reinigungs- und Körperpflegemittel analysiert. Obwohl alle tensidhaltigen Komponenten dieser Produkte komplexe Gemische darstellen, was sich an der Vielzahl der registrierten Signale erkennen ließ, wurde eine vollständige Trennung und Identifizierung der APGs neben anderen Probenkomponenten erreicht. Die Zuordnung aller mit dem eingesetzten GCxGC-FID-System erhaltenen Signale setzt allerdings Kenntnisse der Retentionszeiten aller Probenkomponenten in beiden Trennsäulen voraus. Dazu wurden die Chromatogramme der verfügbaren silylierten APG-Standards herangezogen. In Abbildung 4.29 ist das Chromatogramm einer definierten APG-Standardmischung (rot) über das eines Duschgels (blau) gelegt. Neben den Signalen der bekannten tensidischen Probenkomponenten wurden mehrere Signale

reduziert (von 1,4 mL/min bei einer Starttemperatur von 70 °C auf 0,5 mL/min bei einer Endtemperatur von 320 °C). Dieses Phänomen trägt zur „Verzögerung“ der Analyse bei hohen Temperaturen und zur Peakverbreiterung der spät eluierenden Analyten bei. Die Signale dieser Analyten werden von massivem Säulenbluten begleitet und sind deswegen schwer identifizierbar und quantifizierbar. Die zweite Säule in der GCxGC ist eine *fast-GC*-Säule: in der Regel ist sie kurz (1 m), hat einen ID von 0,1 mm und ist mit einem dünnen Film einer polaren Phase beschichtet (0,1 µm). Der Einsatz einer unpolaren Säule oder einer Säule mit einem größeren Innendurchmesser (> 0,1 mm) würde die oben genannten negativen Effekte eliminieren. Mit einer unpolaren Säule wäre aber die Bedingung der Orthogonalität nicht erfüllt. Ein größerer Innendurchmesser der zweiten Säule hätte einen nicht akzeptablen Verlust an Effizienz zur Folge. Neben der starken Retardierung polarer Analyten auf einer polaren Phase in der zweiten Dimension ist die Reduzierung des Trägergasflusses am Ende der Analyse als ein möglicher Grund der fehlenden Detektion von polaren schwerflüchtigen Analyten zu sehen. Dieses Phänomen wurde auch bei der Analyse von Maltosiden beobachtet: die langkettigen Maltoside ($C \geq 14$) wurden bei konstantem Druck nicht detektiert. Aus diesem Grund wurde eine Änderung des Trägergasmodus durchgeführt. Bei konstantem Fluss (1,4 mL/min) steigt der Druck mit zunehmender Temperatur (von 32 psi bei einer Starttemperatur von 70 °C auf 60 psi bei einer Endtemperatur von 320 °C), die Analyten werden nicht „verzögert“ und die oben genannten Effekte (fehlende Detektion und Peakverbreiterung hochsiedender Probenkomponenten) werden nicht beobachtet bzw. stark reduziert. In Tabelle 4.9 sind die optimierten Analysenbedingungen für die GCxGC-(TOF)MS dargestellt. Unter Verwendung dieses Analysenprogramms wurden alle zugesetzten Maltoside (bis C_{16}) detektiert (Abbildung 4.30).

Die Identifizierung aller APGs in den GCxGC-MS-Chromatogrammen bereitete keine Schwierigkeiten und erfolgte anhand der Retentionszeiten in beiden Trennsäulen (Vergleich mit den Retentionszeiten der internen Standards) und der erhaltenen Massenspektren. Tabelle 4.10 gibt einen Überblick über typische Fragmente von APG-TMS-Derivaten. Die Massenspektren von APGs sind in kommerziell erhältlichen Bibliotheken (NIST) nicht vorhanden. Daher dienten selbst aufgenommene Massenspektren aller APG-Standards als Basis für die Erstellung einer eigenen Bibliothek und wurden als Referenzspektren verwendet.

GC-Bedingungen	
1. Säule	FactorFour VF-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) (Varian, Darmstadt)
2. Säule	BPX50 (1 m x 0,1 mm x 0,1 µm) (SGE)
Injektor	Split 1:100
Injektionsvolumen	1 µL
1. Ofen (Temperaturprogramm)	70 °C (1 min halten) 40 °C/min auf 150 °C (0 min halten) 5 °C/min auf 320 °C (10 min halten)
2. Ofen (Temperaturprogramm)	90 °C (1 min halten) 40 °C/min auf 170 °C (0 min halten) 5 °C/min auf 330 °C (12 min halten)
Injektortemperatur	320 °C
Trägergasfluss	konstanter Fluss (1,4 mL/min)
Modulationsprogramm	3 s Modulationszeit; 0,9 s Hotjets, 0,6 s Coldjets
Trägergas	Helium 5
MS-Bedingungen	
Transferlinientemperatur	300 °C
Ionenquellentemperatur	200 °C
Detektorspannung	1600 V
Filament Bias Voltage	- 70 eV
Aufnahmerate	200 Spektren/s
Solvent Delay	300 s

Tabelle 4.9: Optimierte Analysenbedingungen für die GCxGC-(TOF)MS

Fragment	m/z	Interpretation
$\text{Si}^+(\text{CH}_3)_3$	73	TMS-Derivate
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OC}^+\text{HOSi}(\text{CH}_3)_3$	147	TMS-Derivate von Kohlenhydraten
$(\text{CH}_3)_3\text{SiO}-\text{HC}^+-\text{C}^+\text{HOSi}(\text{CH}_3)_3$	204	Basispeak der Pyranoside
$(\text{CH}_3)_3\text{SiOCH}=\text{CHC}^+\text{HOSi}(\text{CH}_3)_3$	217	Basispeak der Furanoside
$\text{ROC}^+\text{HOSi}(\text{CH}_3)_3$	231, 259, 287, ...	$\text{R} = \text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n$ ($n = 8, 10, 12, \dots$)
$\text{M}-[\text{RO}^-]-[(\text{CH}_3)_3\text{SiOH}]$	361	Furanoside, Pyranoside
$\text{M}-[\text{CH}_3^-]-[(\text{CH}_3)_3\text{SiOH}]$	475, 503, 531, ...	[M-105] - Alkylrest

Tabelle 4.10: Überblick über typische Fragmente von APG-TMS-Derivaten [68]

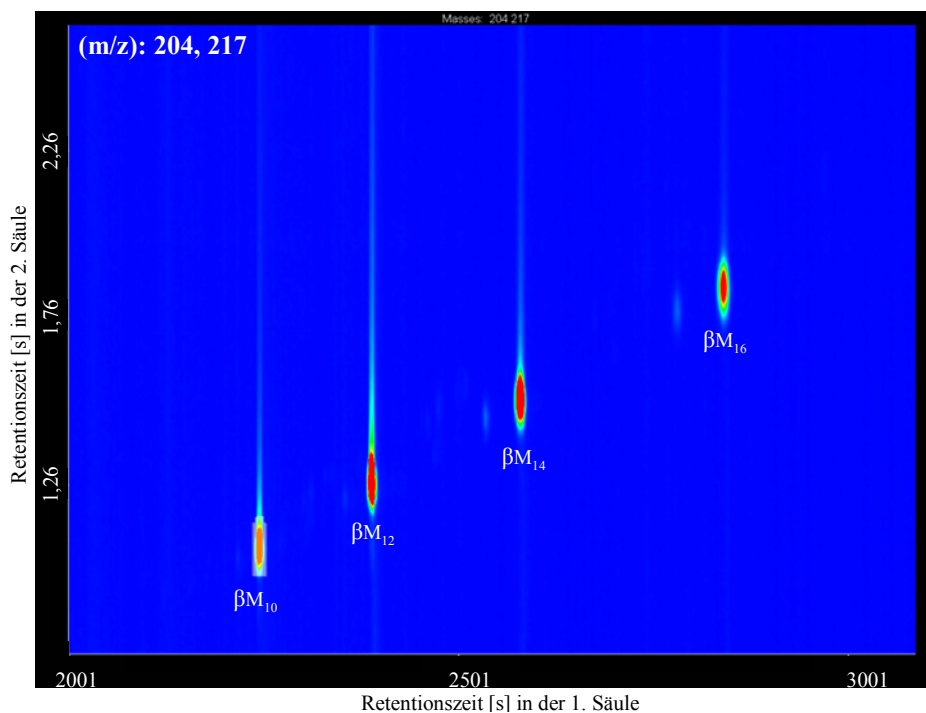


Abbildung 4.30: β -Maltoside C_{10-16} nach Silylierung mit TMSI (85 °C, 1 h)

4.2.3 Untersuchung von technischen Gemischen

Herstellungsbedingt finden sich in technischen Produkten neben Mono-APGs auch APGs mit höheren Glucosilierungsgraden (bis 12) [9]. Die klassische GC der Alkylpolyglucoside (ab Glucosilierungsgrad 3) nach Silylierung ist nicht möglich, da diese neben hohen Siedetemperaturen (ab 320 °C) hohe Polaritäten aufweisen und demzufolge im GC-System stark retardiert und oft nicht detektiert werden [60, 68, 190]. Die Erfassung solcher hochpolymerisierten APGs gelingt nur mit der Hochtemperatur (HT)-GC (Arbeitsbereich bis 400 °C) [70] oder anderen Analysetechniken (z.B. MALDI-TOF [72]). Die für die GCxGC notwendige Säulenkonstellation (Verwendung einer polaren Säule) schließt den Einsatz von HT-Säulen aus. Ein weiteres Problem bei der Analyse von Polyglucosiden ist eine nicht ausreichende Trennleistung der klassischen GC-Methoden, die keine saubere Trennung aller Homologen und Isomeren liefern. Zusätzlich sind die eingesetzten Detektoren oft nicht empfindlich genug, um alle Nebenprodukte der Derivatisierung zu erfassen, oder nicht in der Lage, alle erhaltene Signale zu identifizieren. Zumeist beschränkten sich die bisher publizierten GC-MS-Untersuchungen auf Mono-APGs [60, 190], Polyglucoside wurden nicht untersucht und ihre Silylierungsprodukte nicht definiert.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden einige technische Produkte mit verschiedenen C-Schnitten und Polymerisationsgraden (APG[®]-220, APG[®]-600 und 7484-150 der Firma Cognis) silyliert und mit der GCxGC-(TOF)MS analysiert.

APG[®]-600 enthält als Hauptprodukte die Mono-APGs C₁₂ und C₁₄ und hat einen Polymerisationsgrad von 1,7. Demzufolge sind im Chromatogramm auch die Signale von Diglucosiden mit den Alkylketten C₁₂ und C₁₄ zu erwarten. Nach Silylierung wurde die Probe unter Verwendung beider Trägergasmodi analysiert (Abbildung 4.31). Wie erwartet, waren bei temperaturprogrammierter Arbeitsweise und konstantem Fluss (Abbildung 4.31, unten) die Retentionszeiten etwas kleiner als bei konstantem Druck (Abbildung 4.31, oben). Bei konstantem Fluss wurden zudem die Signale der Diglucoside sowohl mit der Alkylkette C₁₂ als auch mit C₁₄ detektiert. Aufgrund fehlender Vergleichssubstanzen beschränkte sich die Zuordnung in Gruppen gleicher Alkylkettenlänge. Dagegen ließen sich die Mono-APGs vollständig trennen und zuordnen. Neben den Homologen konnten Anomere (α , β) sowie Pyranoside und Furanoside (F) voneinander getrennt werden. Die relativ große Anzahl von Signalen im Bereich der Diglucoside deutet auf eine nicht quantitativ verlaufende Silylierung hin. Ebenso wäre denkbar, dass jedes Signal eine tatsächlich vorhandene Substanz anzeigt. Da eine gründliche Untersuchung der TMS-Derivate von Polyglucosiden bisher noch nicht publiziert wurde, war die genaue Untersuchung der Silylierungsreaktion von Diglucosiden notwendig.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurden verschiedene Silylierungsreagenzien zur Erzeugung der APG-TMS-Derivate eingesetzt und die erhaltenen Reaktionsprodukte untersucht. Die angewandten Reaktionsbedingungen sind in Tabelle 6.1 (Experimenteller Teil) aufgelistet. Getestet wurden folgende Silylierungsgemische:

- BSTFA in Pyridin
- BSTFA/MSTFA mit und ohne Pyridin
- TMSI/MSTFA in Pyridin
- TMSI in Pyridin

Bei der Umsetzung von Mono- und Di-APGs mit verschiedenen Silylierungsreagenzien stellte es sich heraus, dass abhängig vom eingesetzten Silylierungsreagenz unterschiedliche Reaktionsprodukte gebildet werden.

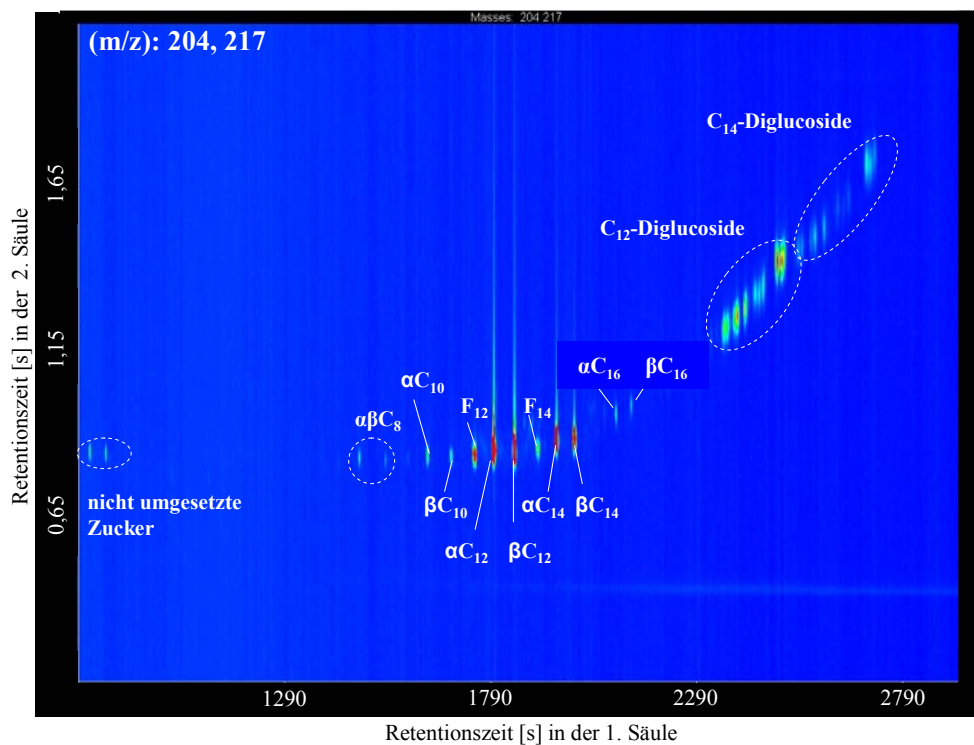
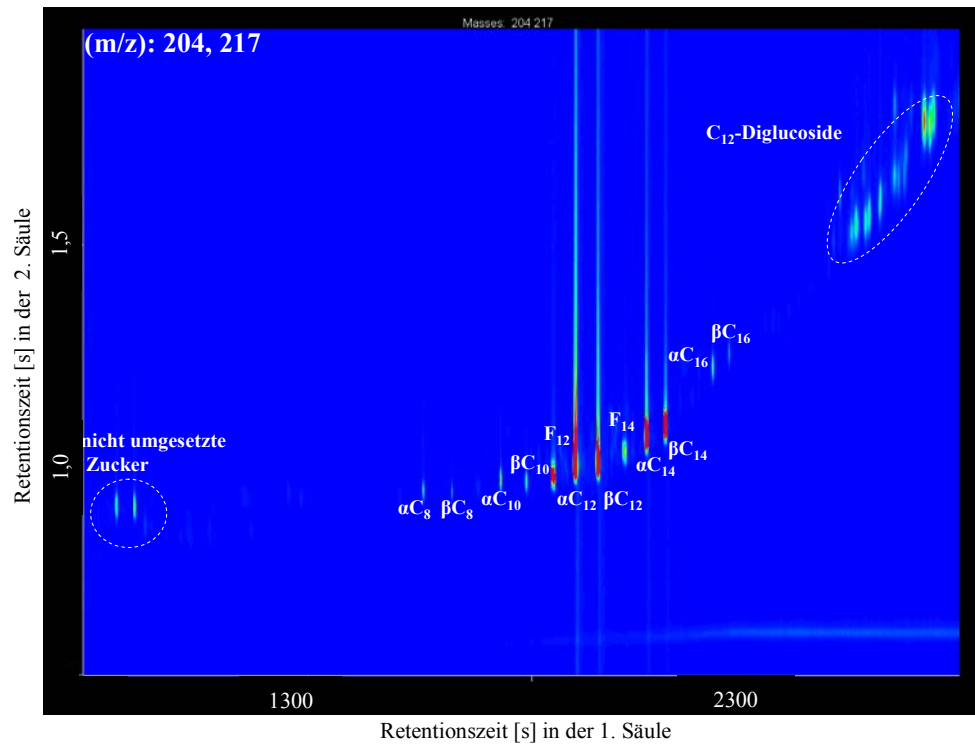


Abbildung 4.31: APG[®]-600

oben: nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA (90 °C, 1 h), GCxGC bei konstantem Druck
 unten: nach Silylierung mit TMSI (85 °C, 1 h), GCxGC bei konstantem Fluss

Bei der Umsetzung mit BSTFA und BSTFA/MSTFA (5:1 v/v) lieferte, unabhängig von der Silylierungsdauer (30 min bis 1 h), der Temperatur (80 bis 95 °C) und dem Konzentrationsverhältnis zwischen Maltosid und Silylierungsmittel (Methoden siehe Tabelle 6.1, Experimenteller Teil), jedes Mono-APG ein Signal (Abbildung 4.32), während jedes Maltosid in Form zweier Signale mit gleich großen Peakflächen (Δt ca. 1 min) angezeigt wurde (Abbildung 4.33). Das erste Signal stammt offenbar von einem durchsilylierten Maltosid, das zweite Signal ist wahrscheinlich das Ergebnis einer unvollständigen Silylierung. Es liegt die

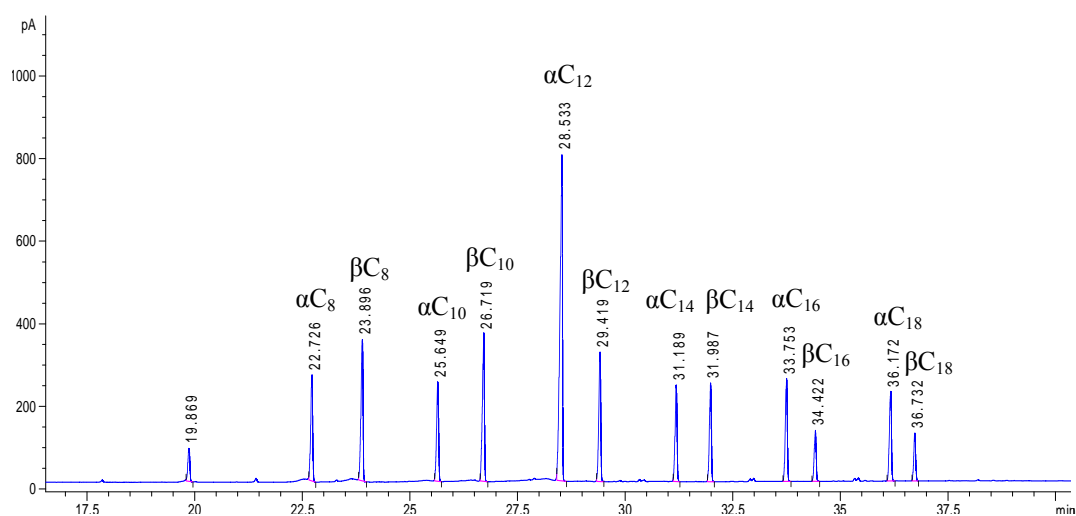


Abbildung 4.32: Gaschromatogramm von Mono-APGs nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA (85 °C, 1 h)

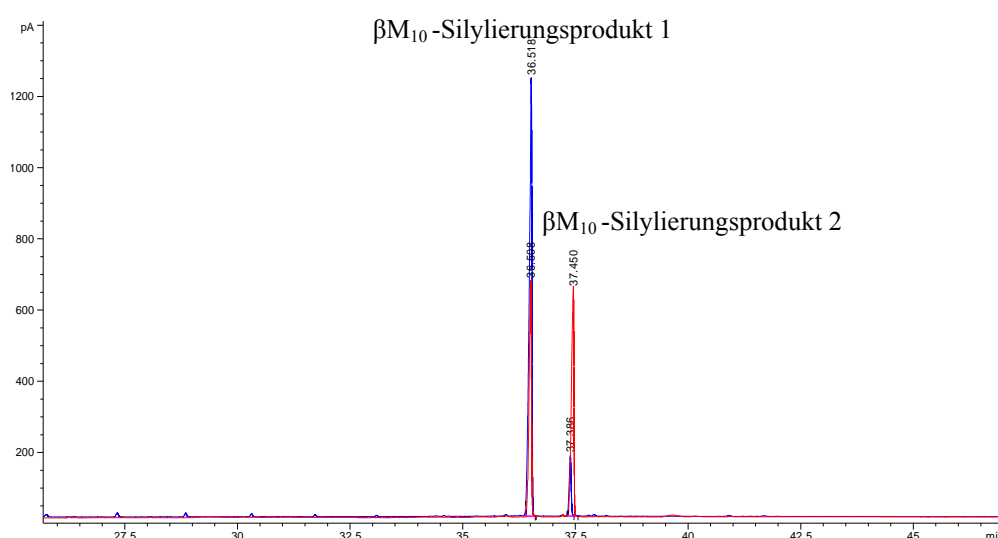


Abbildung 4.33: Gaschromatogramm von βM_{10} nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA (85 °C, 1 h)
rot: gemessen direkt nach der Silylierung, blau: gemessen fünf Tage nach der Umsetzung

Vermutung nahe, dass dabei entweder nur die OH-Gruppen des äußeren Glucoseringes oder die sterisch günstigen Positionen an beiden Ringen derivatisiert wurden.

Der zeitliche Verlauf der Silylierung der Diglucoside deutet darauf hin, dass die Umsetzung mit BSTFA/MSTFA kinetisch verzögert ist und deswegen nicht quantitativ abläuft. Eine Messung der Maltosid-TMS-Derivate fünf Tage nach der Umsetzung zeigte, dass das erste Signal (Silylierungsprodukt 1) größer, während das andere (Silylierungsprodukt 2) in Relation dazu kleiner wurde (Abbildung 4.33).

Die Umsetzung von APGs mit BSTFA/MSTFA mit und ohne Pyridin lieferte die gleichen Reaktionsprodukte. Das Pyridin hat dabei eine katalytische Wirkung, was sich in der Steigerung der Signalintensitäten widerspiegelt (Abbildung 7.17, Anhang).

Die Silylierung mit TMSI/MSTFA in Pyridin ergab jeweils zwei Signale unterschiedlicher Intensität von allen Mono-APGs, während alle Maltoside als einzelne saubere Peaks angezeigt wurden (Abbildungen 4.34 und 4.35). Offenbar werden die Maltoside dabei durchsilyliert.

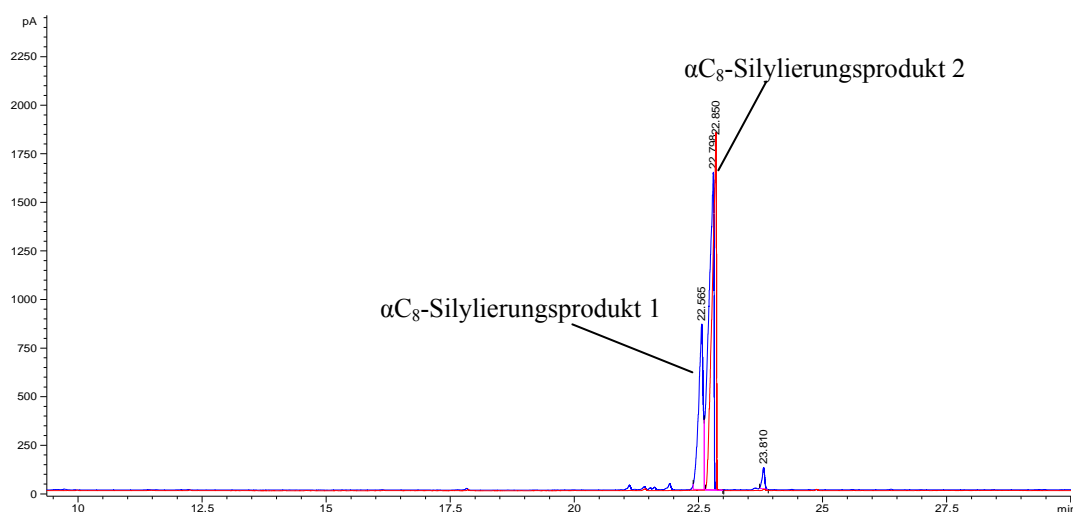


Abbildung 4.34: Gaschromatogramm von α C₈
rot: nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA, blau: nach Silylierung mit TMSI/MSTFA in Pyridin

TMSI gilt als das stärkste bekannte Hydroxyl-Silylierungsmittel und eignet sich daher besonders für die Umsetzung von Kohlenhydraten. Vermutlich aktiviert MSTFA die Reaktion von einem Mono-APG und TMSI, was zum Entstehen mehrerer Signale führt. Mit TMSI in

Pyridin (3:7 v/v) als Silylierungsmittel wurde je ein Signal sowohl von den Mono-APGs als auch von den Diglucosiden erhalten (Abbildung 4.36). Daher ist TMSI das ideale Silylierungsreagenz zur Erzeugung von APG-TMS-Derivaten, da eine gleichmäßige, vollständige Umsetzung erfolgt und eine eindeutige Identifizierung aller APG-Signale ermöglicht wird.



Abbildung 4.35: Gaschromatogramm von βM_{10}
blau: nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA, rot: nach Silylierung mit TMSI/MSTFA in Pyridin

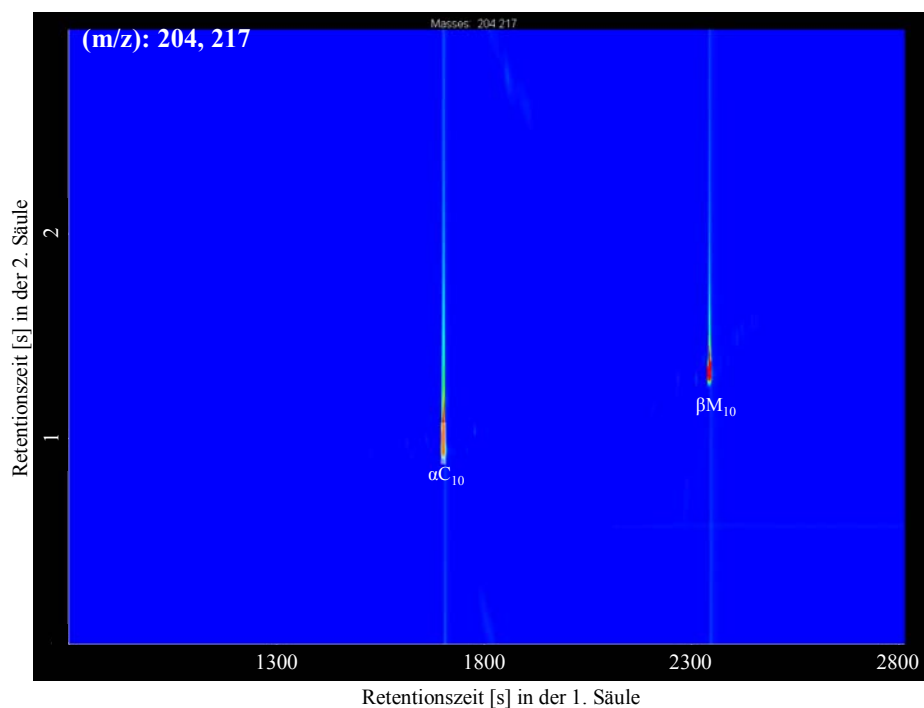


Abbildung 4.36: GCxGC von αC_{10} und βM_{10}
nach Silylierung mit TMSI in Pyridin (3:7 v/v, 85 °C, 1 h)

Bei der Umsetzung der technischen Produkte mit TMSI werden mittels GC im Bereich der Diglucoside mehrere Signale registriert (Abbildungen 4.31 sowie 7.18 und 7.19, Anhang). Ausgehend von der Tatsache, dass die Reaktion von einem Maltosid und TMSI jeweils nur ein Produkt liefert und die Menge an Silylierungsreagenz in der Reaktionsmischung für eine vollständige Umsetzung ausreichend war, lässt sich vermuten, dass diese Signale von zahlreichen Struktur-Isomeren stammen, was auf den Herstellungsprozess zurückgeführt werden kann [9, 21]. Anhand der Retentionszeiten von Maltosid-Standards konnten in APG[®]-600 die Maltoside mit Alkylketten C₁₂ und C₁₄ identifiziert werden (Abbildung 4.37). Die genaue Identifizierung jedes einzelnen Signals im Bereich der Diglucoside war aufgrund fehlender Standards und praktisch identischer Massenspektren der Isomeren nicht möglich. In Abbildung 4.38 sind der Bereich der Diglucoside im Gaschromatogramm von APG[®]-600 und die Massenspektren einiger Probenkomponenten dargestellt.

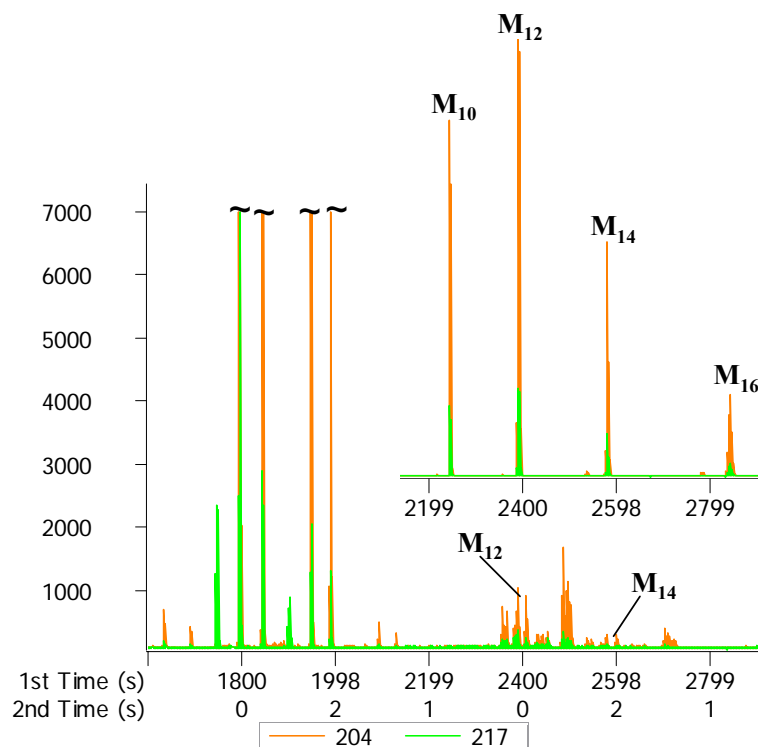


Abbildung 4.37: Chromatogramm von APG[®]-600 nach Silylierung mit TMSI (konstanter Fluss)
oben rechts: Ausschnitt eines Chromatogramms von Maltosid-Standards (M₁₀, M₁₂, M₁₄, M₁₆) zur Identifizierung der Maltoside in APG[®]-600

Die Molekülonen der APG-TMS-Derivate werden bei Verwendung einer harten Ionisationstechnik (EI) nicht registriert. Daher lässt sich eine Aussage über den Umsetzungsgrad der Silylierung von Mono- und Di-APGs nicht ohne weiteres treffen. Der Einsatz einer weichen Ionisationstechnik (CI) ermöglicht die Bestimmung der Molekül-

massen der silylierten APGs. Eine GC-(CI)MS-Untersuchung von APG-Proben (Standards und technische Produkte) wurde bei der Bayer AG in Auftrag gegeben. Dabei wurde festgestellt, dass die erhaltenen Hauptsignale nach der Umsetzung mit TMSI in Pyridin (3:7 v/v) (85 °C, 1 h) von durchsilylierten Mono-APGs stammen. Abbildung 4.39 zeigt die CI-Spektren von β C₈-, β C₁₀- und β C₁₂-APG. Die größten registrierten Massen entsprechen den nominell berechneten Massen der durchsilylierten APGs: 580 (Octylmonogluco-pyranosidtetramethylsilylester), 608 (Decylmonogluco-pyranosidtetramethylsilylester), 636 (Dodecylmonogluco-pyranosidtetramethylsilylester).

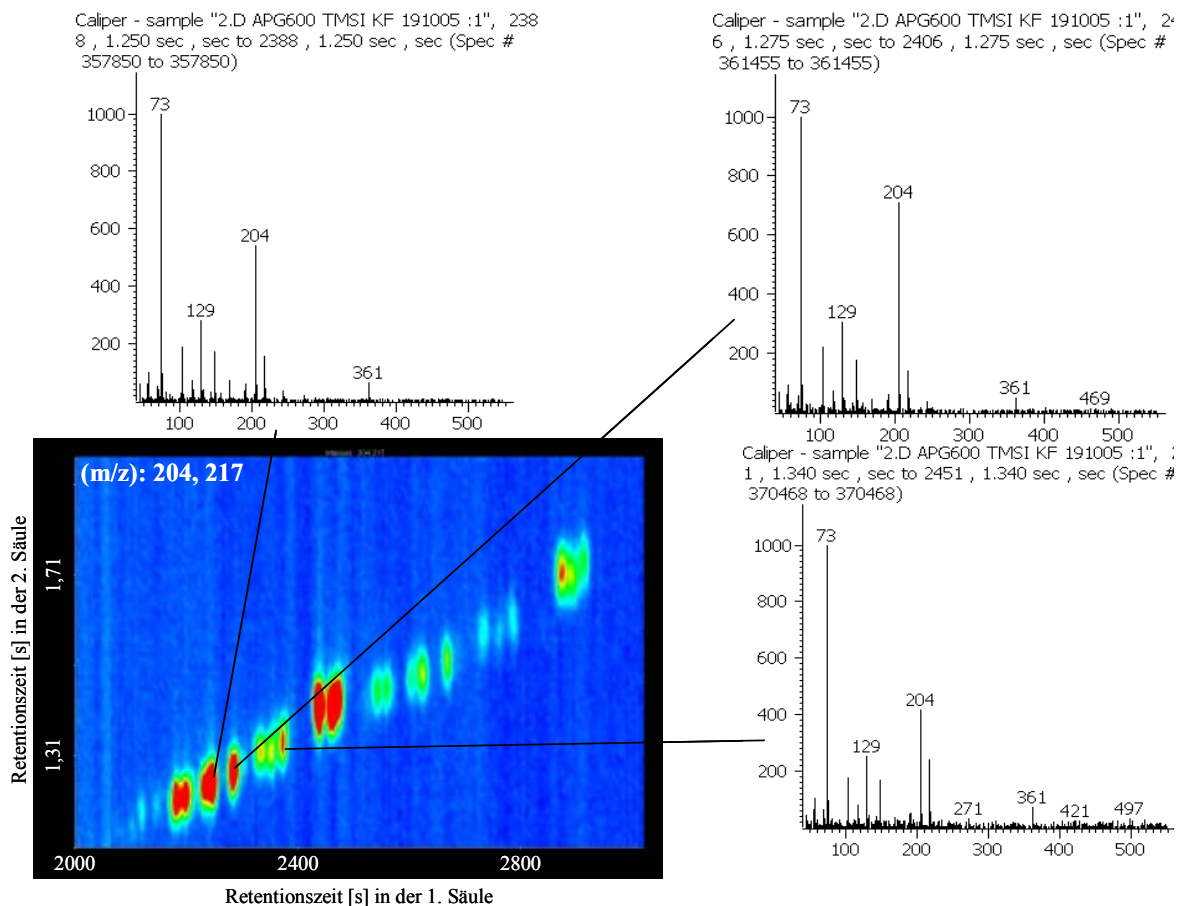
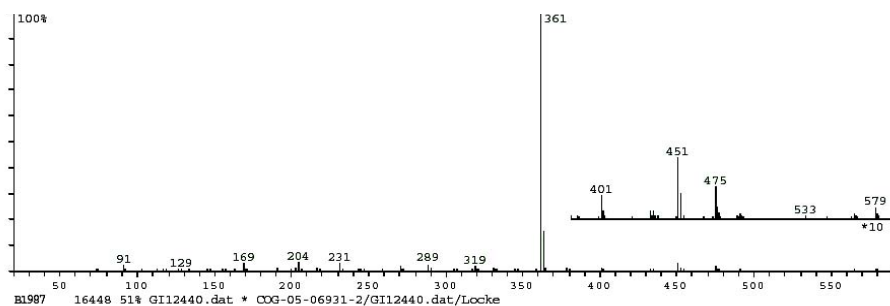
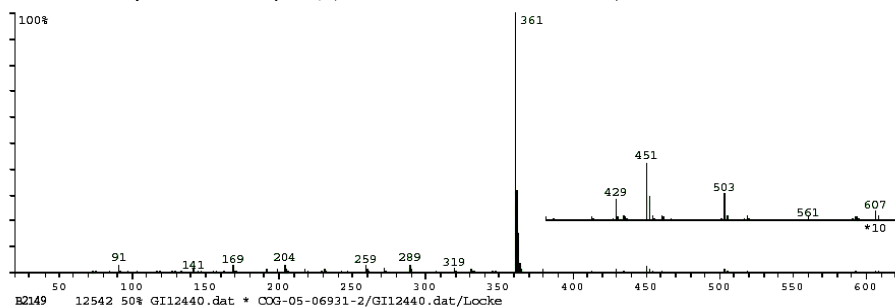
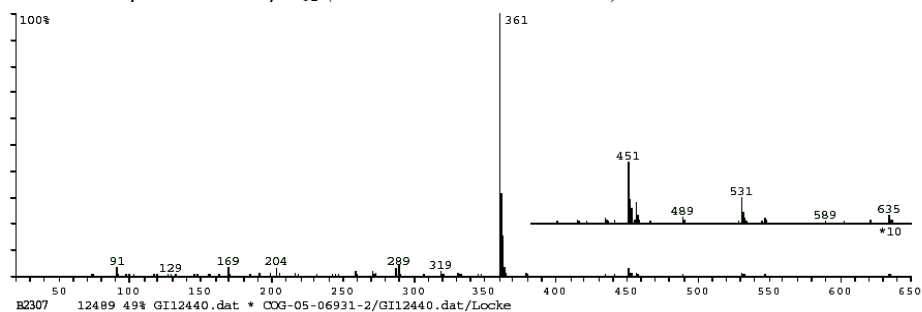


Abbildung 4.38: Diglucoside in APG[®]-600 mit ausgewählten Spektren

Die Abbildung zeigt unten links einen Ausschnitt des Bereiches von Diglucosiden aus dem 2D-Chromatogramm von APG[®]-600 und die zugehörigen EI-Massenspektren einiger ausgewählter Signale

Die Trennleistung des eingesetzten GC-MS-Systems war für eine vollständige Trennung der Diglucoside nicht ausreichend. Zudem konnten die Massen der Molekülonen nicht registriert werden, da sie außerhalb des Messbereiches (≤ 800 Da) lagen. Daher ließ sich keine Aussage über die Silylierungsgrade der Maltoside treffen.

CI-Massenspektrum von βC_8 (berechnete Masse 580 Da)CI-Massenspektrum von βC_{10} (berechnete Masse 608 Da)CI-Massenspektrum von βC_{12} (berechnete Masse 636 Da)**Abbildung 4.39: CI-Massenspektren von durchsilylierten Mono-APGs (Reaktantgas: Isobutan)**

4.2.4 Untersuchung von Handelsprodukten

Mehrere kommerzielle Produkte aus dem Einzelhandel (Shampoos, Körperpflegemittel, Spülmittel und Haushaltsreiniger) wurden untersucht. Die Rezepturen dieser Produkte sind sehr komplex, ein Beispiel gibt die Zusammensetzung eines Duschgels in Tabelle 7.4 (siehe Anhang). Die Analyse solcher Produkte mit der klassischen GC ist ohne zeitaufwendige, aus vielen Trenn- und Reinigungsschritten bestehende Probenvorbereitung in der Regel nicht realisierbar. In vielen Fällen besteht das Problem in der Koelution der Probenkomponenten, was sowohl die Hauptinhaltsstoffe (z.B. FAEOs und APGs) als auch zahlreiche niedermolekulare Matrixkomponenten betrifft. Zumeist liegen die Zusatzstoffe in

Tensidformulierungen mit niedrigen Konzentrationen vor ($< 1\%$), was deren Zuordnung bei einer zu geringen Empfindlichkeit des eingesetzten Detektors zusätzlich erschwert.

Die Kopplung einer hochleistungsfähigen Trennmethode (GCxGC) mit einem (TOF)MS, das eine Identifizierung aller registrierten Signale ermöglicht, löst die oben genannten Probleme: die Probenvorbereitung beschränkt sich ausschließlich auf die Silylierung bzw. Hydrolyse und Silylierung der Probe; die Probenkomponenten trennen sich abhängig von ihren Dampfdrücken und Polaritäten, Matrixkomponenten können detektiert und identifiziert werden.

Nach der Einwaage wurden die kommerziellen Produkte silyliert und gaschromatographisch untersucht. Die Voraussetzung für eine erfolgreiche simultane Bestimmung aller Hauptkomponenten ist die Auswahl eines universellen Silylierungsreagenzes, das eine quantitative Umsetzung aller Analyten erzielt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene Derivatisierungsgemische zur Silylierung eingesetzt:

- BSTFA/MSTFA (5:1)
- BSTFA/MSTFA (5:1) mit TMCS (1 %, v/v)
- BSTFA/MSTFA (5:1) mit TMSI (in unterschiedlichen Volumenverhältnissen)
- BSTFA
- MSTFA
- BSTFA/TMSI
- MSTFA/TMSI
- TMSI

Bei der Umsetzung der Handelsprodukte ergaben sich in Abhängigkeit der eingesetzten Silylierungsreagenzien gewisse Differenzen in den Signalintensitäten der detektierten Tenside (z.B. bei FAEO-Homologen unter Verwendung von TMSI in Pyridin oder CAPB mit MSTFA/TMSI/Pyridin). Offenbar zeigt TMSI gegenüber den FAEO einen niedrigeren Silylierungsdruck, was folglich zu einer nicht vollständigen Umsetzung dieser Substanzen führt: es wurden intensive Signale von nichtsilylierten FAEO registriert, während die Signale der silylierten Analyten vergleichsweise klein waren (Abbildung 7.20, Anhang). Der Einsatz von BSTFA/MSTFA unter Zugabe katalytischer Menge an TMCS führt zu undefinierten

Silylierungs- bzw. Zersetzungsprodukten von CAPB, was die Quantifizierung wesentlich erschwert.

Bei der Silylierung mit BSTFA/MSTFA werden FAEO und APGs durchsilyliert; die CAPB werden dabei nicht silyliert und können nach der definierten reproduzierbaren thermischen Zersetzung im Injektor (320 °C) als Amidoamine nachgewiesen werden [194]. Daher ist BSTFA/MSTFA als ein universales Silylierungsmittel zur Untersuchung von Handelsprodukten am besten geeignet (Abbildungen 7.21 - 7.24, Anhang). Bei Analysen direkt nach der Umsetzung mit BSTFA/MSTFA wurden auch einige schwache Signale von nicht vollständig silylierten Mono-APGs registriert, was bei der Umsetzung technischer Produkte und Standards nicht beobachtet wurde (Abbildung 7.25, Anhang). Allerdings konnte diese Beobachtung nur dank exzellenter Selektivität und Empfindlichkeit des eingesetzten GCxGC-(TOF)MS-Systems gemacht werden. In den am Folgetag aufgenommenen Chromatogrammen waren die Signale von Nebenprodukten der Silylierung nicht mehr zu sehen, was offensichtlich auf die Komplexität der Handelsprodukte, Anwesenheit von Wasser und eine damit verbundene Verzögerung der APG-Umsetzung zurückzuführen ist.

In Abbildung 4.40 ist das Chromatogramm eines Duschgels dargestellt. Zu sehen sind drei definierte Spuren, die den drei in der Probe vorhandenen Tensidklassen (APGs, FAEO, CAPB) entsprechen. Die Auswertung des Chromatogramms erfolgte anhand der Retentionszeiten und Massenspektren der zugehörigen Standards. Nach Hydrolyse und Silylierung der Probe ist auch die Detektion von FAES und FAS (als FAEO-TMS-Derivate und silylierte FA) möglich.

Alle kommerziellen Tensidformulierungen enthalten neben den waschaktiven Substanzen auch zahlreiche Zusatzstoffe. In der Arbeit von *Taheri* [194] findet sich ein Beispiel für den qualitativen Nachweis dieser Inhaltsstoffe in einem Duschgel. Neben den in der Verbraucherinformation angegebenen Bestandteilen konnten folgende Zusatzstoffe identifiziert werden: Methylacrylamid, Sorbinsäure, 4-Methoxy-benzaldehyd, Benzylbenzoat, Phenoxyethanol, Ethylvanillin, Octanal-2, Prolin sowie freie Zucker. Qualitativ nachgewiesen wurden auch die Edukte der Tensidherstellung (Fettsäuren als Trimethylsilylester). Somit lässt sich nicht nur eine Aussage über die Zusammensetzung und Herkunft der Probenkomponenten, sondern auch über die Herstellungswege einiger Inhaltsstoffe treffen.

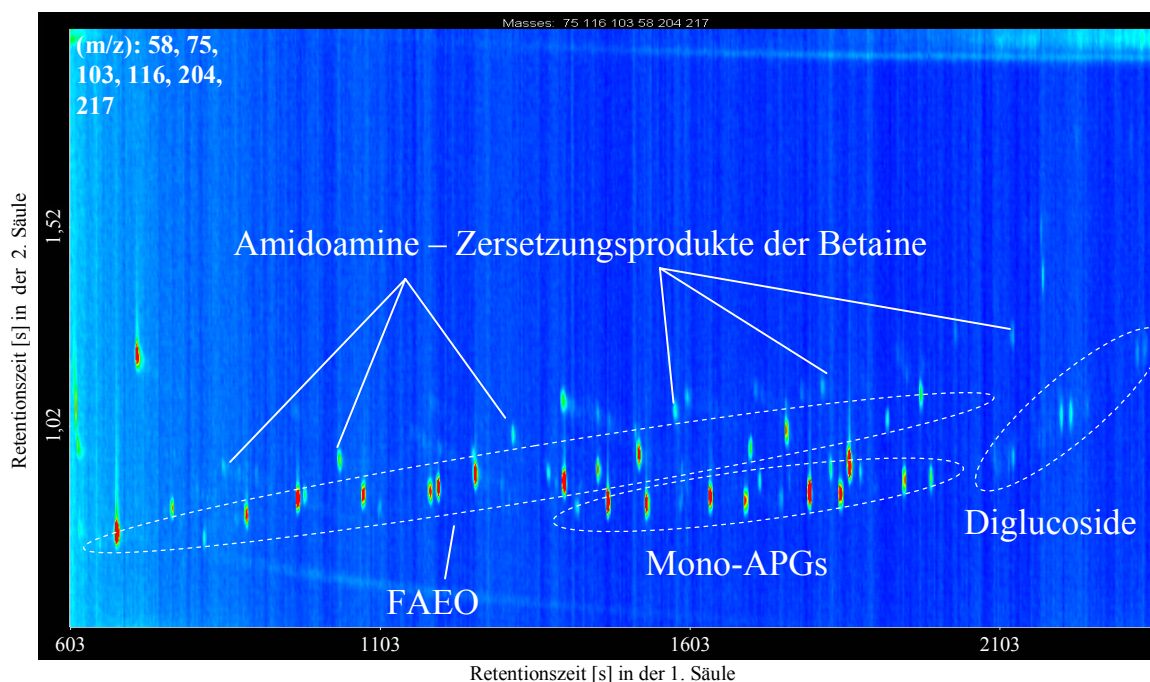


Abbildung 4.40: Tenside im Duschgel „Fruchtdusche Melone“ (Mann & Schröder GmbH) nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA (90 °C, 1 h)

Wie erwartet, zeigte die GCxGC im Gegensatz zur klassischen GC eine bessere Trenneffizienz, die eine vollständige Trennung der Komponenten ermöglichte. Die entwickelte Methode zur qualitativen und quantitativen Bestimmung der Tenside in kommerziellen Produkten wurde erfolgreich auf GCxGC-FID übertragen.

4.2.5 Quantifizierung der Komponenten eines Shampoos

Die Zusammensetzung eines von der Firma Cognis zur Verfügung gestellten Shampoos ist in Tabelle 4.11 gezeigt.

Zur Bestimmung der Konzentrationen von APGs, FAEO und Betainen wurde eine Probe des Shampoos (bzw. Standards) mit BSTFA/MSTFA (90 °C, 1 h) silyliert. Betaine sind nicht GC-gängige Substanzen. In der Arbeit von *Taheri* [194] wurde diese Problematik ausführlich diskutiert und gezeigt, dass die Betaine nach der reproduzierbaren thermischen Zersetzung im Injektor (320 °C) als Amidoamine detektiert werden können. Diese Tatsache galt als Grundlage für den quantitativen Nachweis der CAPB in der Probe. Abbildung 4.41 zeigt das 2D-Chromatogramm dieses Shampoos, in dem die Signale aller zu untersuchenden Analyten

zugeordnet sind. Zur Ermittlung der Konzentration an FAES wurde die Probe bzw. der Standard hydrolysiert und anschließend silyliert.

Inhaltsstoff	chemisch
Texapon N 70	C ₁₂₋₁₄ -FA-2EO-SO ₄ -Na
Dehyton PK 45	Cocamidopropylacetobetaine
Plantapon 818	C ₈₋₁₆ -APG
JR 400	Polymer
Cetiol LDO	Dioctylether, Laurylalkohol
Euperlan PK 4500	Glycoldistearat + Beatin + Ethersulfat
Gludain W 40	Hydrolysiertes Weizenprotein, Natriumbenzoat, Phenoxyethanol, Methylparaben, Propylparaben
Dehydol LS 3 deo	C ₁₂₋₁₄ -FA-3 EO
Parfümöl	
Euxyl K 400	Phenoxyethanol 98 %, Dibromcyanobutan 2 %
NaCl	
Zitronensäure	
Wasser	
Panthenol	

Tabelle 4.11: Zusammensetzung des untersuchten Muster-Shampoos

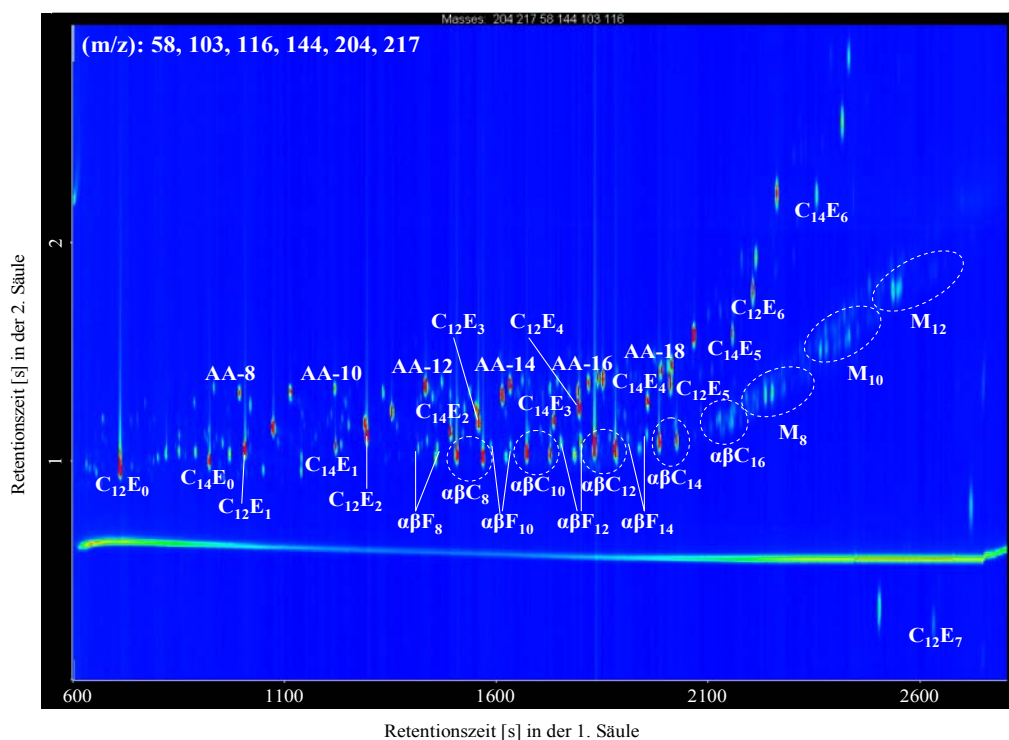


Abbildung 4.41: GCxGC eines Muster-Shampoos nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA (5:1) (90 °C, 1 h)

Die Quantifizierung bestand in der Ermittlung der Gehalte aller in der Probe vorhandenen Tensidklassen. Als Standards dienten dabei die in der Probe befindlichen Produkte: Plantapon 818, Dehyton PK 45, Dehydol 3 EO Deo und Texapon N 70 (Cognis). Diese Standards stellen relativ komplexe, aus mehreren Homologen bestehende Gemische dar. Nach der Erstellung der Kalibriergeraden einzelner Analyten (Auftragung der Peakfläche in Abhängigkeit von der Probenkonzentration) wurden die Konzentrationen und die prozentualen Anteile der verschiedenen Tensidklassen in der Probe ermittelt (Tabelle 4.12). Aufgrund des angewandten Verfahrens und der oben beschriebenen verwendeten Standards muß die durchgeführte Quantifizierung als eine semiquantitative Methode bezeichnet werden.

Inhaltsstoff	Herstellerangabe [%]	eigener Befund [%]
FA-2EO-SO ₄ -Na	7,0	6,5 ± 1,2
Cocamidopropylacetobetaine	4,1	4,5 ± 0,03
APG-C ₈₋₁₆	1,9	1,96 ± 0,02
C ₁₂₋₁₄ FA 3 EO	2,0	2,5 ± 0,4

Tabelle 4.12: Ergebnisse der Quantifizierung eines Muster-Shampoos

4.3 Vergleich der APG-Befunde mittels MEKC-PAD und GCxGC-(TOF)MS

Im Rahmen dieser Arbeit wurden mehrere Handelsprodukte mit den entwickelten Analysenverfahren untersucht. Beide Methoden erwiesen sich als zuverlässig und relativ unkompliziert.

In Tabelle 4.13 werden die mit Hilfe beider Analysenverfahren ermittelten APG-Befunde in Realproben gegenüber gestellt.

Im Rahmen ihrer Leistungskriterien liefern die neu entwickelten unabhängigen Analysenmethoden gut übereinstimmende Ergebnisse. Die Zusammensetzung der untersuchten Handelsproben entspricht der auf dem Etikett angegebenen Verbraucherinformation.

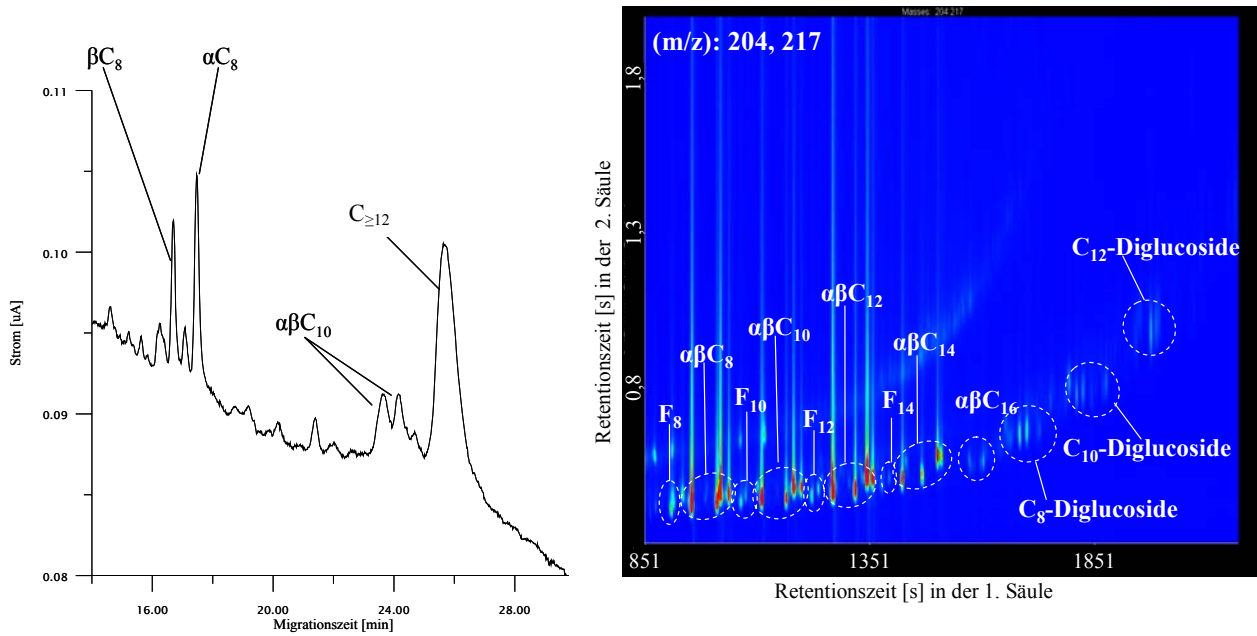
Interessant ist die Gegenüberstellung der mit beiden Methoden aufgenommenen Chromatogramme eines Handelsproduktes, bei der Vor- und Nachteile der entwickelten

Verfahren deutlich werden (Abbildung 4.42). Durch das genutzte Trenn- und Detektionsprinzip, das Störungen von Bestandteilen der Matrix ausschließt, kann die MEKC-PAD-Methode als ein schneller Test für APGs in technischen und kommerziellen Produkten eingesetzt werden. Zu ihren wichtigsten Vorteilen zählt neben hoher Selektivität bei praktisch fehlender Probenvorbereitung die Möglichkeit einer semiquantitativen Analyse. Im Gegensatz dazu ermöglicht die in dieser Arbeit entwickelte GCxGC-(TOF)MS-Methode nicht nur eine vollständige Trennung der APGs, sondern auch die Detektion, Identifizierung und Quantifizierung tensidartiger Probenkomponenten und liefert eine vollständige Information über die Zusammensetzung eines kommerziellen Produktes.

Probe	APG-Befund*	
	MEKC-PAD	GCxGC-(TOF)MS
Duschgel „Fruchtdusche Melone“, <i>Mann & Schröder GmbH</i>	$\alpha C_8 \beta C_8 \alpha C_{10} \beta C_{10}$ ($\alpha\beta$)C \geq 12	$\alpha C_8 \beta C_8 \alpha C_{10} \beta C_{10} \alpha C_{12} \beta C_{12}$ $\alpha C_{14} \beta C_{14} \alpha C_{16} \beta C_{16}$
Palmolive Duschgel <i>Colgate-Palmolive</i>	($\alpha\beta$)C \geq 12	$\alpha C_8 \beta C_8 \alpha C_{10} \beta C_{10}$ $\alpha C_{12} \beta C_{12}$ $\alpha C_{14} \beta C_{14} \alpha C_{16} \beta C_{16}$
Duschgel „Tamore Ocean“, <i>Penny-Markt</i>	$\alpha C_8 \beta C_8 \alpha C_{10} \beta C_{10}$ ($\alpha\beta$)C \geq 12	$\alpha C_8 \beta C_8 \alpha C_{10} \beta C_{10}$ $\alpha C_{12} \beta C_{12} \alpha C_{14} \beta C_{14}$
Duschgel „Milch & Honig“, <i>Mann & Schröder GmbH</i>	$\alpha C_8 \beta C_8 \alpha C_{10} \beta C_{10}$ ($\alpha\beta$)C \geq 12	$\alpha C_8 \beta C_8$ $\alpha C_{10} \beta C_{10} \alpha C_{12} \beta C_{12}$ $\alpha C_{14} \beta C_{14}$
Flüssige Seife „Milch & Honig“ <i>Colgate-Palmolive</i>	$\alpha C_8 \beta C_8 \alpha C_{10} \beta C_{10}$ ($\alpha\beta$)C \geq 12	$\alpha C_8 \beta C_8 \alpha C_{10} \beta C_{10}$ $\alpha C_{12} \beta C_{12}$ $\alpha C_{14} \beta C_{14} \alpha C_{16} \beta C_{16}$
Spülmittel „Pril“ <i>Henkel</i>	keine APGs gefunden	keine APGs gefunden
Haushaltsreiniger „LOC“ <i>Amway</i>	keine APGs gefunden	keine APGs gefunden
Badreiniger „Domestos“ <i>Domestos</i>	keine APGs gefunden	keine APGs gefunden
Fußbodenreiniger „Pronto“ <i>Johnson</i>	keine APGs gefunden	keine APGs gefunden
Reiniger „Citronia“ <i>Linker</i>	keine APGs gefunden	keine APGs gefunden
Reiniger „Windus“ <i>Ecolab</i>	keine APGs gefunden	keine APGs gefunden

* fett markiert sind die Hauptkomponenten

Tabelle 4.13: Vergleich der APG-Befunde mittels MEKC-PAD und GCxGC-(TOF)MS



**Abbildung 4.42: Vergleich zweier Chromatogramme des Duschgels „Tamore Ocean“
links: MEKC-PAD; rechts: GCxGC-(TOF)MS**

5 ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden zwei unabhängige Methoden zur Analyse von Alkylpolyglucosiden (APGs) in technischen Gemischen und in Handelsprodukten entwickelt. Die Methoden beruhen auf der micellaren elektrokinetischen Chromatographie mit pulsamperometrischer Detektion (MEKC-PAD) und der komprehensiven zweidimensionalen Gaschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion (GCxGC-MS). Während die MEKC-PAD durch das angewandte Detektionsprinzip eine hohe Selektivität für die Analyse der APGs aufweist, ermöglicht die GCxGC-(TOF)MS aufgrund ihrer hohen Trennleistung nicht nur die Erfassung und Quantifizierung der APGs, sondern auch anderer Tensidklassen nach entsprechender Probenvorbereitung.

Zur Durchführung der MEKC-PAD-Analysen wurde eine Messzelle konstruiert, mit der Störungen des Detektionssignals eliminiert werden konnten. Damit waren routinemässig Messungen mit hoher Reproduzierbarkeit möglich. Ein wichtiger Schritt bei der Optimierung der Methode war die Verwendung zweier unterschiedlicher Elektrolyte für die Trennung und die Detektion. Bei den APG-Untersuchungen kamen zwei Trennelektrolyte zum Einsatz:

1. Dehydol LS 50 (2500 mg/L); SDS 12 mM in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9,5)
2. Na-Tetradecylsulfonat (3 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9,5); ACN (25 %; v/v).

Trennelektrolyt (1) war zur Bestimmung kurzkettiger APGs in technischen Produkten ohne Probenvorbereitung geeignet. Die Analyse von APG[®]-220 (Firma Cognis) ergab $16,18 \pm 0,31$ % n-Octyl- α -D-glucopyranosid (α C₈) und $8,22 \pm 0,26$ % n-Octyl- β -D-glucopyranosid (β C₈) und bestätigte damit gut die Herstellerangaben (23,26 % ($\alpha\beta$ C₈)). Die Nachweisgrenzen der Methode lagen bei 0,070 g/L (α C₈) und 0,075 g/L (β C₈). Mit beiden Trennelektrolyten war es nicht möglich, eine vollständige Trennung aller Homologen bzw. Anomeren zu erreichen. So gelang die Anomerentrennung mit dem Trennelektrolyten (1) bis α,β C₁₀. Alle höheren Homologen wurden ungetrennt in einem Signal detektiert. Obwohl Trennelektrolyt (2) eine Homologentrennung bis α,β C₁₂ erlaubte, war keine Anomerentrennung zu beobachten. Dieser Trennelektrolyt wurde bevorzugt eingesetzt, um die Homologenverteilung in technischen und kommerziellen Produkten zu bestimmen.

Mit dem Einsatz der GCxGC-(TOF)MS konnten die Grenzen der MEKC-PAD bezüglich der Trennleistung überwunden werden. Im Falle der APGs beschränkte sich die Probenvorbereitung auf die Silylierung. So konnten neben den Homologen (Unterscheidung nach Alkylkettenlänge und Anzahl der Glucoseeinheiten) und Anomeren (α,β) auch Pyranoside von Furanosiden vollständig voneinander getrennt werden. Die hohe Peakkapazität und das Nachweisvermögen der GCxGC-(TOF)MS ermöglichten darüber hinaus in einem Analysenlauf die Bestimmung anderer Tensidklassen wie Fettalkohol-ethoxylate (FAEO) und Cocamidopropylacetobetaine (CAPB). Um gleichzeitig auch die Fettalkoholsulfate (FAS) und Fettalkoholethersulfate (FAES) erfassen zu können, mussten die Proben vor der Silylierung hydrolysiert werden. Die mit dieser Methode in einem Muster-Shampoo der Firma Cognis gefundenen Tensidgehalte von $1,96 \pm 0,02$ % (APG), $2,5 \pm 0,4$ % (FAEO), $4,5 \pm 0,03$ % (CAPB) und $6,5 \pm 1,2$ % (FAES) bestätigten die Herstellerangaben.

6 EXPERIMENTELLER TEIL

6.1 Apparatur

Elektrophoretisches System	P/ACE TM MDQ capillary electrophoresis system, Beckman Coulter, München; Diode array Detector; 32 Karat TM software, version 5,0 (2002), Beckman Coulter, München
Fused-silica Kapillare	CS Chromatographie Service GmbH, Langerwehe Beckman Coulter, (Fullerton, CA, USA)
Amperometrischer Detektor	Epsilon TM , Bioanalytical Systems, Inc., Warwickshire, UK ChromGraph software
Golddraht 99,99%, isoliert mit PTFE	Goodfellow, Huntington, UK
Platindraht 99,998%	Goodfellow, Huntington, UK
Referenzelektrode	RE-6, Bioanalytical Systems, Inc.
Aluminium- und Diamantpaste	Leco, St. Josef, MI, USA
Polishing cloth red	Heraeus Kulzer, Wehrheim/Ts.
Borosilikatglaskapillare	Hilgenberg, Malsfeld
Vortexer	REAX 2000, Heidolph, Schwabach
Analytische Waage	M2P, Sartorius, Göttingen
Pasteurpipetten	Brand, Wertheim
pH-Meter	Beckman 350, Beckman Coulter, München
pH-Standardelektrode	511275-AB, Beckman Coulter, München
Extraktionssäulen für die Proben- vorbereitung RP-18 (200 mg, 3 ml)	Merck, Darmstadt
Faktor four Varian (VF-5 ms)	Varian
30 m x 0,25 mm x 0,25 µm	
BPX-50 (1 m 0,1 mm x 0,1 µm)	SGE
Gaschromatograph	Agilent 6890
Detektor	FID, 300°
Modulator	LMCS Everest
GCxGC-(TOF)MS	LECO Pegasus III GCxGC-(TOF)MS (LECO Instrument GmbH, Mönchengladbach) 6890N (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany)
	LECO Thermal Modulation System Autosampler 7683 (Agilent)
	LECO Chroma TOF TM Software
Computer	Dell 2,99 GHz

6.2 Chemikalienliste

flüssiger und gasförmiger Stickstoff	BUW
1-Dodecansulfonsäure Natriumsalz	Fluka
1-Hexadecansulfonsäure Natriumsalz	Fluka
1-Tetradecansulfonsäure Natriumsalz	Fluka
Aceton	Carl Roth
Acetonitril (für HPLC-Analyse)	Acros-Organics
Borsäure 99,999 %	Merck
Brij 30 (Tetraethylenglycol-monodecylether)	Fluka
Brij 35 (Polyoxyethylenlaurylether)	Merck-Schuchardt
Brij 56 (Polyoxyethylen-10-cetylether)	Sigma
Brij 58 (Polyoxyethylen-20-cetylether)	Sigma
Brij 72 (Polyoxyethylen-2-stearylether)	Sigma
Brij 78 (Polyoxyethylen-20-stearylether)	Sigma
Brij 97 (Polyoxyethylen-10-oleylether)	Sigma
Brij 98 (Polyoxyethylen-20-oleylether)	Sigma
BSTFA (N,O-Bis(trimethylsilyl)-trifluoracetamid)	Fluka
Cholsäure Natriumsalz, 99 %	Acros Organics
Decyl- β -D-Maltopyranosid, > 98 %	Sigma
Dehydol LS 10	Cognis
Dehydol LS 16	Cognis
Dehydol LS 30	Cognis
Dehydol LS 4	Cognis
Dehydol LS 50	Cognis
Dehydol LS 6	Cognis
Dehyton K	Cognis
Dimethylsulfoxid (zur Synthese)	Merck-Schuchardt
Di-Natriumhydrogenphosphat - Dihydrat z.A.	Merck
Dioxan (für die Spektroskopie)	Merck
Dodecylbenzolsulfonsäure Natriumsalz	Sigma-Aldrich
Dodecylsulfat Natriumsalz	Merck
Ethylacetat (HPLC-grade)	Fisher-Scientific
HCl	BUW
Helium 5	BUW
Hexadecyl- β -D-maltosid, > 99 %	Fluka
iso-Octan	J.T.Baker B.V
Methanol (HPLC fluorescence grade)	Fischer
MSTFA (N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid)	Fluka

Myrj 45 (Polyoxyethylen-8-stearat)	Sigma
Myrj 52 (Polyoxyethylen-40-stearat)	Sigma
Myrj 59 (Polyoxyethylen-100-stearat)	Sigma
N,N-Dimethylformamid (zur Synthese)	Merck-Schuchardt
Natrium-1-decansulfonat	Fluka
Natrium-1-octansulfonat Monohydrat	Fluka
Na-Hexadecylsulfonat	Fluka
Natriumdihydrogenphosphat reinst	Merck
Natriumhydroxid, > 99 %	Carl Roth GmbH&Co
Natriumethylhexylsulfonat	Cognis
Natriumoctylsulfat	Cognis
n-Decyl- α -D-glucopyranosid, > 98 %	Sigma
n-Decyl- β -D-glucopyranosid, > 98 %	Sigma
n-Dodecyl- α -D-glucopyranosid, > 98 %	Sigma
n-Dodecyl- β -D-glucopyranosid, > 98 %	Sigma
n-Dodecyl- β -D-maltosid, > 98 %	Sigma
n-Dodecyl- β -D-maltosid > 98 %	Sigma
n-Octyl- α -D-glucopyranosid, > 98 %	Sigma
n-Octyl- β -D-glucopyranosid, > 98 %	Sigma
n-Tetradecyl- β -D-maltosid, > 98 %	Sigma
Polyoxyethylen-25-propylenglycol-stearat	Sigma
Sulfofon 12-18 G	Cognis
Talgalkohol EO 40	Cognis
Tetrahydrofuran z.A.	Merck
Texapon N 70	Cognis
Toluol	Merck-Schuchardt
TMCS (Trimethylchlorsilan)	Fluka
Tridestilliertes Wasser	BUW

6.3 Vorbereitung von Lösungen und Proben

6.3.1 MEKC-PAD

Lösungen

Di-Natriumhydrogenphosphat Puffer (Trennelektrolyt)

Di-Natriumhydrogenphosphat-Puffer der Konzentration 10 mM, pH 9,5 wurde aus Na_2HPO_4 in tridestilliertem Wasser angesetzt. Nach der pH-Einstellung wurden alle Modifizierungen (Zugabe verschiedener Micellenbildner und organischer Modifier) durchgeführt. Die genauen Elektrolytzusammensetzungen sind bei den jeweiligen Messreihen beschrieben.

NaOH-Lösung (Detektionselektrolyt):

0,1 mol/L in tridestilliertem Wasser

APG-Lösungen

Für die Optimierung der MEKC-Trennbedingungen wurden die APG-Lösungen mit der jeweiligen APG-Konzentration von 0,5 mol/L und die technischen Produkte in Konzentrationen von 1,5 mg/mL vorbereitet.

Die Gehalte von αC_8 und βC_8 wurden anhand der Kalibriergeraden und mittels Standardadditionsverfahren ermittelt.

Zur Ermittlung der Gehalte von αC_8 und βC_8 anhand der Kalibriergeraden wurden drei Einwaagen von APG[®]-220 ($E_1 = 60,7$ mg, $E_2 = 81,1$ mg, $E_3 = 40,1$ mg) gemacht, jeweils in 2 mL Elektrolyten gelöst, entsprechend verdünnt (Verdünnungsfaktor 5 bzw. 10) und nach dem Dotieren mit dem internen Standard βC_6 ($c = 0,3$ mg/mL) jeweils 3 mal vermessen.

Für die Stammlösungen wurden käufliche APG-Standards (jeweils 20 mg) analytisch eingewogen und im Elektrolyten (2 mL) gelöst. Mittels weiterer Verdünnung wurden entsprechende Kalibrierlösungen vorbereitet und mit einem internen Standard dotiert. Die Konzentration des internen Standards (βC_8) betrug jeweils $c = 0,3$ mg/mL.

Zur Ermittlung der Gehalte von αC_8 und βC_8 mittels Standardadditionsverfahren wurde eine Reihe von Kalibrierlösungen der entsprechenden Standards (αC_8 und βC_8) hergestellt. Die

genauen Einwaagen von APG[®]-220 wurden in 2 mL Elektrolytlösung gelöst, mit bestimmten Mengen der Kalibrierlösungen und des internen Standards ($c = 0,3 \text{ mg/mL}$) versetzt und 3 mal vermessen.

Probenvorbereitung der kommerziellen Produkte

Probenvorbereitung mit der SPE: Die eingewogenen kommerziellen Produkte (je ca. 30 mg) wurden in 1,5 mL tridestilliertes Wassers gelöst und auf einer RP-18-Phase (200 mg, 3 mL) (Merck) aufgereinigt [190]. Die SPE-Kartuschen wurden vor der Verwendung mit je 6 mL tridestilliertes Wasser und Methanol konditioniert. Zur Vermeidung von Adsorptionseffekten wurden die Kartuschen mehrmals mit kleinen Volumina destilliertem Wasser ausgespült und einschließend unter leichtem Vakuum bis zur Farbaufhellung des SPE-Materials getrocknet. Die Elution der APGs erfolgte mit 2,5 mL Methanol. Nach dem Aliquotieren ($V = 500 \mu\text{L}$) wurden die Proben am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingeeengt und im Trennelektrolyten aufgenommen.

Vereinfachte Methode: Die eingewogenen kommerziellen Produkte (je ca. 30 mg) wurden im ursprünglichen Zustand im Trennpuffer gelöst.

Elektroden

Als Referenzelektrode wurde eine Ag/AgCl (Typ RE-6 von BAS (Bioanalytical Systems, Inc., Warwickshire, UK), OD ca. 6 mm; Länge des Glaskörpers ca. 30 mm) verwendet. Die Elektrode wurde mittels eines Gold-Platin-Übergangsstücks (ID 1,524 mm) mit dem Detektor verbunden.

Als Hilfselektrode und Erdung wurden Platindrähte von Goodfellow (Huntingdon, UK; OD 0,5 mm; Länge ca. 6 cm; Reinheitsgrad 99,998 %) verwendet. Die elektrische Verbindung mit dem Detektor wurde mit einem Übergangsstück aus Gold (1,016 mm) hergestellt.

Injektions- und Trennbedingungen

Die Proben wurden hydrodynamisch injiziert. Die Temperatur wurde während der gesamten Messung bei 25°C gehalten; die Trennungsspannung betrug 8 kV.

Als Trennkapillare wurden fused-silica-Kapillaren von Beckman (Fullerton, CA, USA) mit dem ID 50 μm und der Länge 55 cm verwendet. Das Outlet-Kapillarende wurde besonders sorgfältig präpariert (rechtwinkliger, glatter Schnitt). Eine frisch eingesetzte Kapillare wurde 15 min mit NaOH (1 M), 15 min mit HCl (1 M), 15 min mit NaOH (1 M), 10 min mit tridestilliertem Wasser und anschließend 10 min mit dem Trennpuffer konditioniert. Um die dynamische Belegung der Kapillaroberfläche zu eliminieren, mussten regelmäßige Spül- bzw. Konditionierungsschritte in das Messprogramm integriert werden. Vor den Messungen wurde die Kapillare 10 min mit NaOH (1 M), 5 min mit tridestilliertem Wasser und 5 min mit dem Trennelektrolyten konditioniert, nach den Messungen 10 min mit tridestilliertem Wasser gespült.

6.3.2 GCxGC-(TOF)MS

Silylierung

Die käuflichen APG-Standards, technische APG-Produkte und die Handelsprodukte wurden im ursprünglichen Zustand eingewogen und silyliert. Tabelle 6.1 gibt einen Überblick über die angewandten Silylierungsmethoden.

Hydrolyse und Silylierung von FAES und kommerziellen Produkten

Die Einwaagen (150 mg) wurden mit 10 mL HCl (1,2 M) versetzt und innerhalb 1 h im Wasserbad (100 °C) hydrolysiert. Nach der Abkühlung auf Raumtemperatur wurden die tensidischen Probenkomponenten mit Ethylacetat (6 mL) extrahiert. Der Extrakt wurde mit 3 mL Silylierungsmittel versetzt und innerhalb 1 h bei 90 °C derivatisiert. Die Lösungen für die Kalibrierung wurden nach entsprechender Verdünnung mit Ethylacetat bereitgestellt.

Vorbereitung der Lösungen für die Quantifizierung der Komponenten eines Shampoos

Die Shampoo-Probe und die Standards (dem Produkt zugrunde liegende Tensidgemische) wurden analytisch eingewogen und mit dem Silylierungsreagenz versetzt (Methode IIIa, Tabelle 6.1). Nach der Umsetzung wurden die Stammlösungen mit Toluol entsprechend verdünnt und vermessen.

	Art der Probe	Reaktionsbedingungen			Aufnahme der Reaktionsmischung in Lösungsmittel (Volumen in μL)
		Silylierungsmittel	T [$^{\circ}\text{C}$]	t [min]	
I	Standards, Handelsprodukte nach der SPE	BSTFA 250 μL ; Pyridin 250 μL für je 0,5 mg Probe	95	60	Ethylacetat (900)
Ia	Standards	BSTFA 250 μL für je 0,5 mg	90	60	Ethylacetat (900)
Ib	Handelsprodukte	BSTFA 400 μL für je 0,1 mg	90	60	Ethylacetat (900)
II	Standards, Handelsprodukte nach der SPE	BSTFA/MSTFA 5:1 (v/v) 250 μL ; Pyridin 250 μL für je 0,5 mg Probe	90	60	Toluol (250)
IIa	Standards, Handelsprodukte nach der SPE	BSTFA/MSTFA 5:1 (v/v) 250 μL für je 0,5 mg Probe	80 - 90	60	iso-Octan (250)
IIb	Diglucoside	BSTFA/MSTFA 5:1 (v/v) 500 μL für je 0,5 mg Probe	80-90	60	iso-Octan (500)
III	Standards, technische Produkte	BSTFA/MSTFA 5:1 (v/v) 1 mL für je 50 - 100 mg Probe	90	60	keine Zugabe
IIIa	Handelsprodukte	BSTFA/MSTFA 5:1 (v/v) 4 mL für je 50 - 100 mg Probe	90	60	keine Zugabe
IIIb	Handelsprodukte	BSTFA/MSTFA 5:1 (v/v) 4 mL; 1 ml Pyridin für je 50 - 100 mg Probe	90	60	keine Zugabe
IV	Standards	TMSI/Pyridin 3:7 (v/v) 250 μL + MSTFA 50 μL für je 0,5 mg	80-85	30-180	Toluol (250)
V	Standards	TMSI/Pyridin 3:7 (v/v) 1 mL für je 50 mg Probe	80-85	60	keine Zugabe
Va	Handelsprodukte	TMSI/Pyridin 3:7 (v/v) 4 mL für je 50 mg Probe	85	60	keine Zugabe
VI	Handelsprodukte	BSTFA/MSTFA 5:1 (v/v) 4 mL; 1 % TMCS; 1 ml Pyridin für je 50 - 100 mg Probe	90	60	keine Zugabe
VII	Handelsprodukte	BSTFA/MSTFA 5:1 (v/v) (10 - 100 %); TMSI (100 - 10%) (gesamtes Volumen 4 ml); 1 ml Pyridin für je 50 - 100 mg Probe	90	60	keine Zugabe
VIII	Handelsprodukte	MSTFA 4 mL; 1 mL Pyridin für je 50 - 100 mg Probe	90	60	keine Zugabe
IX	Handelsprodukte	BSTFA 4 mL; 1 mL Pyridin für je 50 - 100 mg Probe	90	60	keine Zugabe
X	Handelsprodukte	MSTFA 4 mL; TMSI 10 %; 1 mL Pyridin für je 50 - 100 mg Probe	90	60	keine Zugabe
XI	Handelsprodukte	BSTFA 4 mL; TMSI 10 %; 1 mL Pyridin für je 50 - 100 mg Probe	90	60	keine Zugabe

Tabelle 6.1: Angewandte Silylierungsmethoden

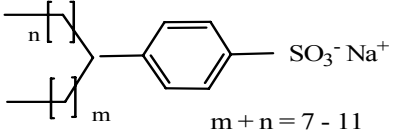
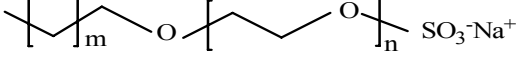
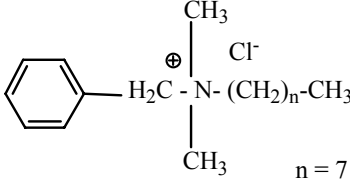
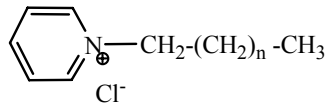
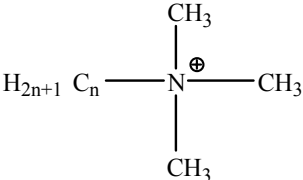
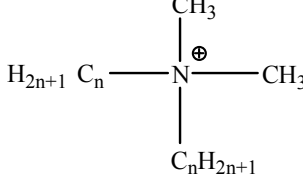
Ursprüngliche Methode zur Analyse der APGs mittels GCxGC-(TOF)MS

1. Säule	Factor four Varian (VF-5ms); 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm
2. Säule	BPX-50 (SGE); 1 m x 0,1 mm x 0,1 µm
Injektor	Split/Splitless (1:10), 320 °C;
Injektionsvolumen	Autosampler 1µL
Detektor	(TOF)MS, 320 °C
Trägergas	H ₂ , 32 psi (konstanter Druck)
Temperaturprogramm	1. Ofen: 70 °C (1 min), 40 °C/min bis 200 °C (0 min), 5 °C/min bis 320 °C (8 min) 2. Ofen: 90 °C (1 min), 40 °C/min bis 220 °C (0 min), 5 °C/min bis 320 °C (10 min)
Transferlinientemperatur	300 °C
Modulatorfrequenz	3 s (Einwirkung Hotjet 0,90 s; Abkühlungszeit 0,6 s)

Tabelle 6.2: Ursprüngliche Methode zur Analyse der APGs mittels GCxGC-(TOF)MS

7 ANHANG

7.1 Tabellen

Tensidklasse	Allgemeine Struktur
Anionische Tenside	Lineare Alkylbenzolsulfonate: (LAS) <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> $m + n = 7 - 11$ </div> </div>
	Fettalkoholsulfate: (FAS) <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> $CH_3-(CH_2)_n-O-SO_3^-Na^+$ <div style="margin-left: 20px;"> $n = 11 - 17$ </div> </div>
	Alkansulfonate: (SAS) <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> $CH_3-(CH_2)_n-SO_3^-Na^+$ <div style="margin-left: 20px;"> $n = 12 - 18$ </div> </div>
	Fettalkoholethersulfate: (FAES) <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> $m = 11 - 14 \quad n = 1 - 16$ </div> </div>
Kationische Tenside	Alkylbenzylammonium-Salze: <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> $n = 7 - 17$ </div> </div>
	Alkylpyridiniumsalze <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> $n = 6 - 14$ </div> </div>
	Alkyl- und Dialkylammoniumsalze: <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div style="margin-left: 20px;"> $n = 12 - 18$ </div> </div>

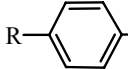
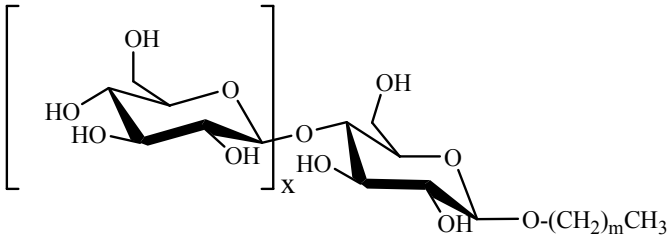
Nichtionische Tenside	Fettalkoholpolyethoxylate (FAE):	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_m - \text{O} - (\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n\text{H}$ $m = 7 - 18; n = 2 - 10$
	Alkylphenoethoxylate (APE):	 $\text{R} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{O} - (\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_m\text{H}$ $m = 2 - 100$ $\text{R} = \text{C}_9\text{H}_{19} \text{ oder } \text{C}_8\text{H}_{17}$
	Alkylpolyglucoside:	 $m = 7 - 17$ $x = 0 - 11$
Amphotere Tenside	Betaine:	$\begin{array}{c} \text{R}_2 \\ \\ \text{R}_1 - \text{N}^{\oplus} - \text{CH}_2 - \text{COO}^- \\ \\ \text{R}_3 \end{array}$ $\text{R}_1 ; \text{R}_2 ; \text{R}_3 - \text{Alkylgruppen}$
	Sulfobetaine:	$\begin{array}{c} \text{R}_2 \\ \\ \text{R}_1 - \text{N}^{\oplus} - (\text{CH}_2)_3 - \text{SO}_3^- \\ \\ \text{R}_3 \end{array}$ $\text{R}_1 ; \text{R}_2 ; \text{R}_3 - \text{Alkylgruppen}$

Tabelle 7.1: Strukturen gängiger Tenside

Tensid- klasse	Eigenschaften	Einsatzbereich
LAS	gutes Wasch-Schaumverhalten; Härteempfindlichkeit; ungenügende biologische Abbaubarkeit	Waschmittel
SAS	gutes Wasch-Schaumverhalten; Härteempfindlichkeit; ungenügende biologische Abbaubarkeit; schlechteres Versprühen	flüssige Waschrezepturen
α-Olefin- sulfonate	großes Schaumvermögen; niedrige CMC; kleine Wasserhärteempfindlichkeit;	Waschmittel für Handwäsche
FAS	großes Schaumvermögen	als Zusatz zu LAS in Waschmitteln
FAES	gutes Wasch-, Netz-, Dispergier-, Schaum- und Fettemulgiervermögen; Kältestabilität; Hautverträglichkeit	flüssige Fein- und Wollwaschmittel; Geschirrspülmittel Schaumbäder; Shampoos; kosmetische Reinigungsmittel;
FAEO	geringes Schaumvermögen; gutes Waschvermögen bei niedrigen Temperaturen; niedrige CMC; gutes Netz- und Emulgiervermögen; Vergrauungsinhibierung bei Synthesefasern; gute biologische Abbaubarkeit	flüssige Waschmittel; Reiniger; Kosmetika, Körperpflegemittel; Formulierungshilfsstoff für Pflanzen- schutzmittel

Tabelle 7.2: Eigenschaften und Einsatzbereiche gängiger Tenside [2]

wichtige Tensidarten	Verbrauch [t]
Anionische Tenside (LAS, SAS, FAS, FAES)	128 000
Nichtionische Tenside (AEO, APG)	78 000
Kationische Tenside	11 000
Amphotere Tenside	6 000

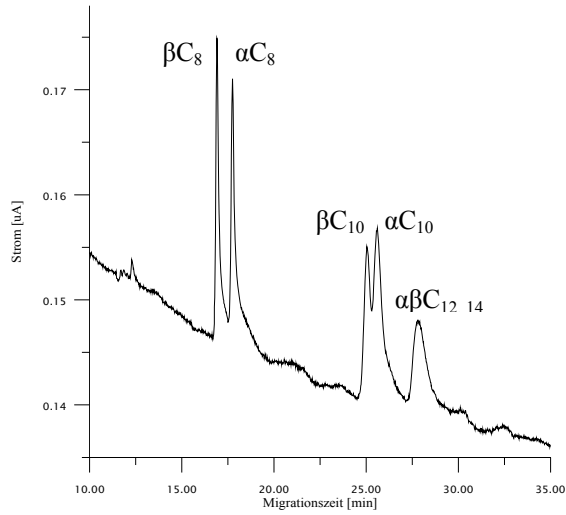
Tabelle 7.3: Tensidverbrauch in Wasch- und Reinigungsmitteln, Deutschland (1997) [195]

Inhaltstoff	Wirkung
Aqua	Verdünnungsmittel
Sodium laureth sulfate	anionisches Tensid
Sodium chloride	Viskositätsregler
Cocamidopropyl betaine	amphoterer Tensid
Glyceryl oleate	Emulgator
Coco-glucoside	nichtionisches Tensid
Glycol distearate	Emulgator, Trübungsmittel, Viskositätsregler
Sodium lauroyl glutamate	Tenside, Antistatika, Kämmbarkeitshilfen,
Glycerin	Feuchtigkeitsspender, Lösungsmittel
Starch hydroxypropyltrimonium chloride	Zusatzstoffe
Niacinamide	Antistatika, Kämmbarkeitshilfen
Glyceryl stearate	Emulgator
Citric acid	pH-Wert-Regler, Puffersubstanzen, Chelatbildner
Benzoic acid	Konservierungsstoff
Parfum	Duftstoff
Benzyl alcohol	Konservierungsstoff, Lösungsmittel
Phenoxyethanol	Konservierungsstoff
Potassium sorbate	Konservierungsstoff
CI 13015, CI 15 510, CI 16 035	kosmetische Farbstoffe
Sine adipe lac (fettfreie Milch)	
Mel	

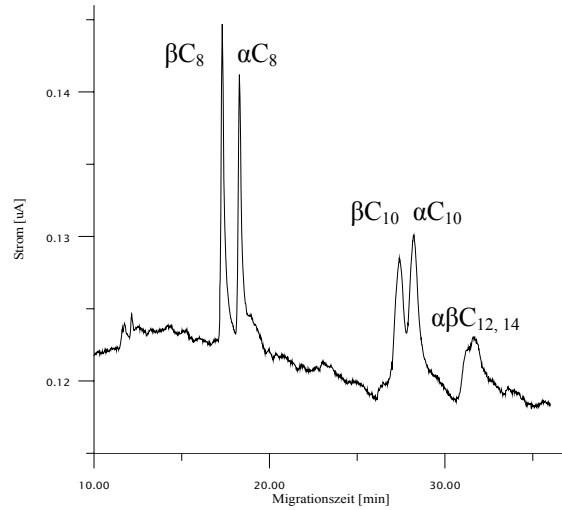
Tabelle 7.4: Zusammensetzung eines kommerziell erhältlichen Produktes (Duschgel „Milch und Honig“ (Mann & Schröder GmbH))

7.2 Abbildungen

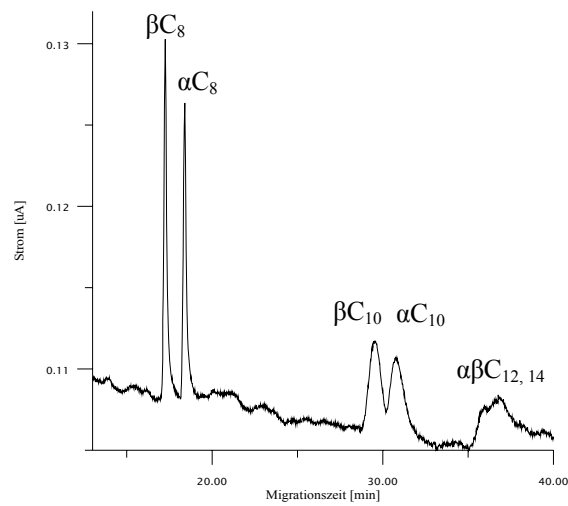
Abbildung 7.1: Einfluss der Konzentration des nichtionischen Micellenbildners auf die MEKC-Trennung (1)
Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50, Myrj 59 (je 750 - 1250 mg/L); SDS (12 mM) in Na₂HPO₄ (10 mM, pH 9,4)



Dehydrol LS 50, Myrj 59 (je 1250 mg/L)

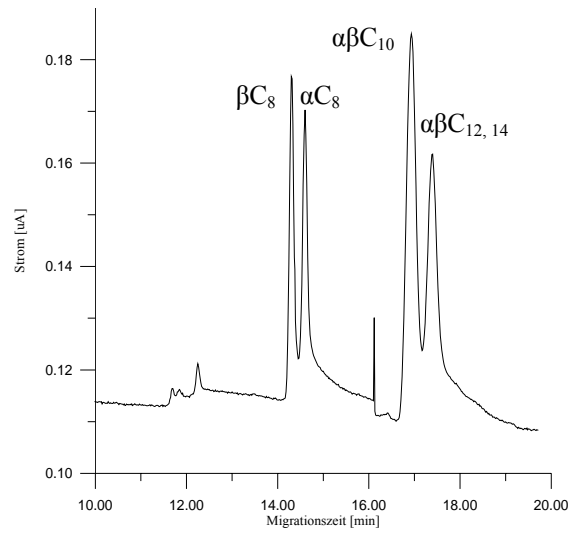


Dehydrol LS 50, Myrj 59 (je 1000 mg/L)

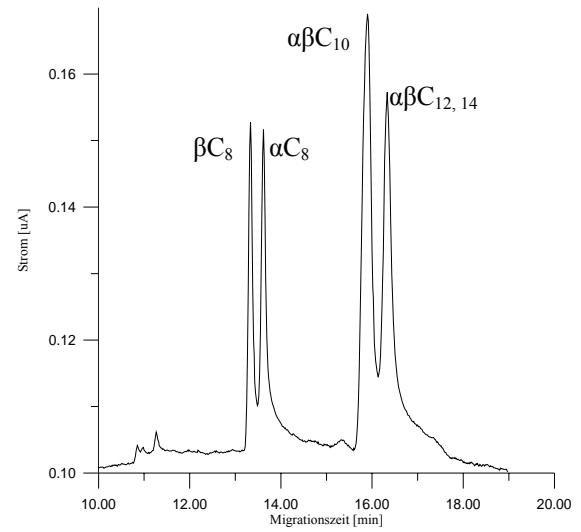


Dehydrol LS 50, Myrj 59 (je 750 mg/L)

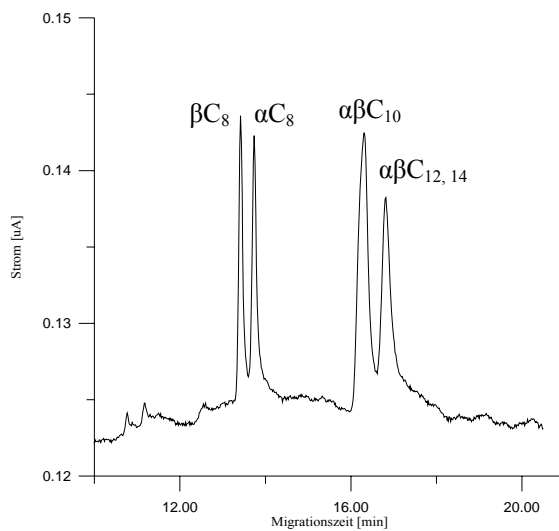
Abbildung 7.2: Einfluss der Konzentration des nichtionischen Micellenbildners auf die MEKC-Trennung (2)
 Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50 (2000 - 5000 mg/L); SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,4)



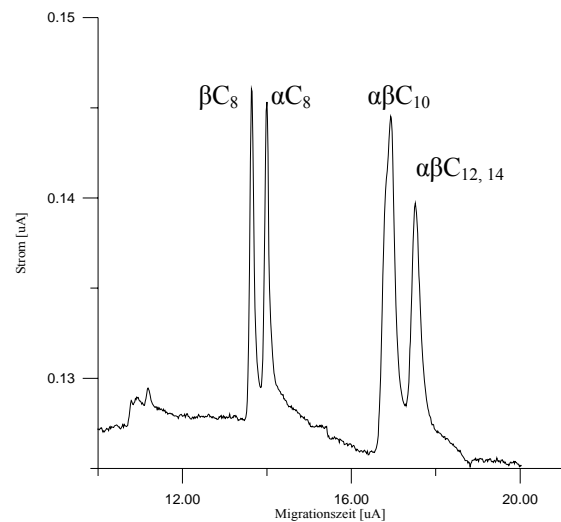
Dehydrol 50 (5000 mg/L)



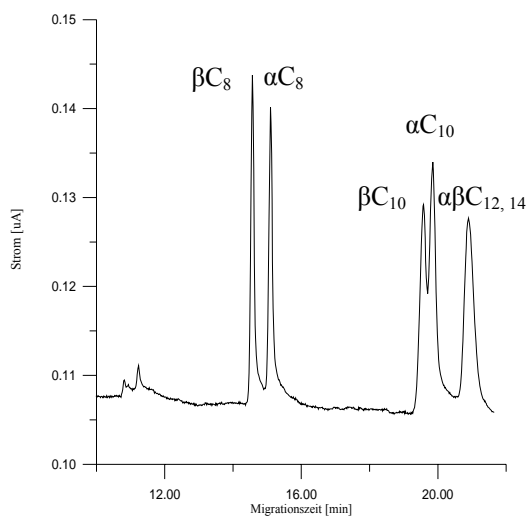
Dehydrol 50 (4500 mg/L)



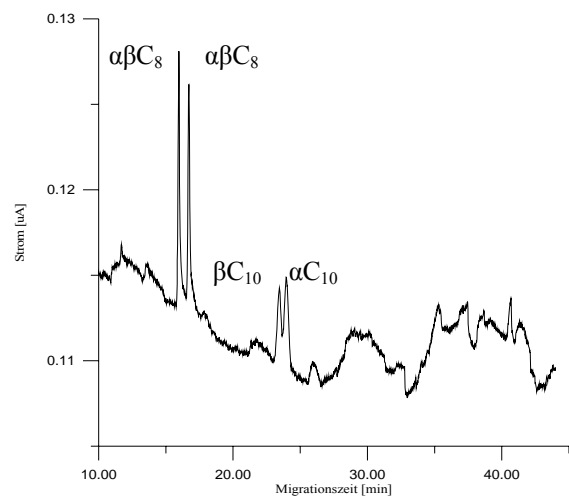
Dehydrol 50 (4000 mg/L)



Dehydrol 50 (3500 mg/L)



Dehydrol 50 (2500 mg/L)



Dehydrol 50 (2000 mg/L)

Abbildung 7.3: Einfluss der SDS-Konzentration auf die MEKC-Trennung
Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50 (4500 mg/L) in Na_2HPO_4 (10 mM; pH 9,35)

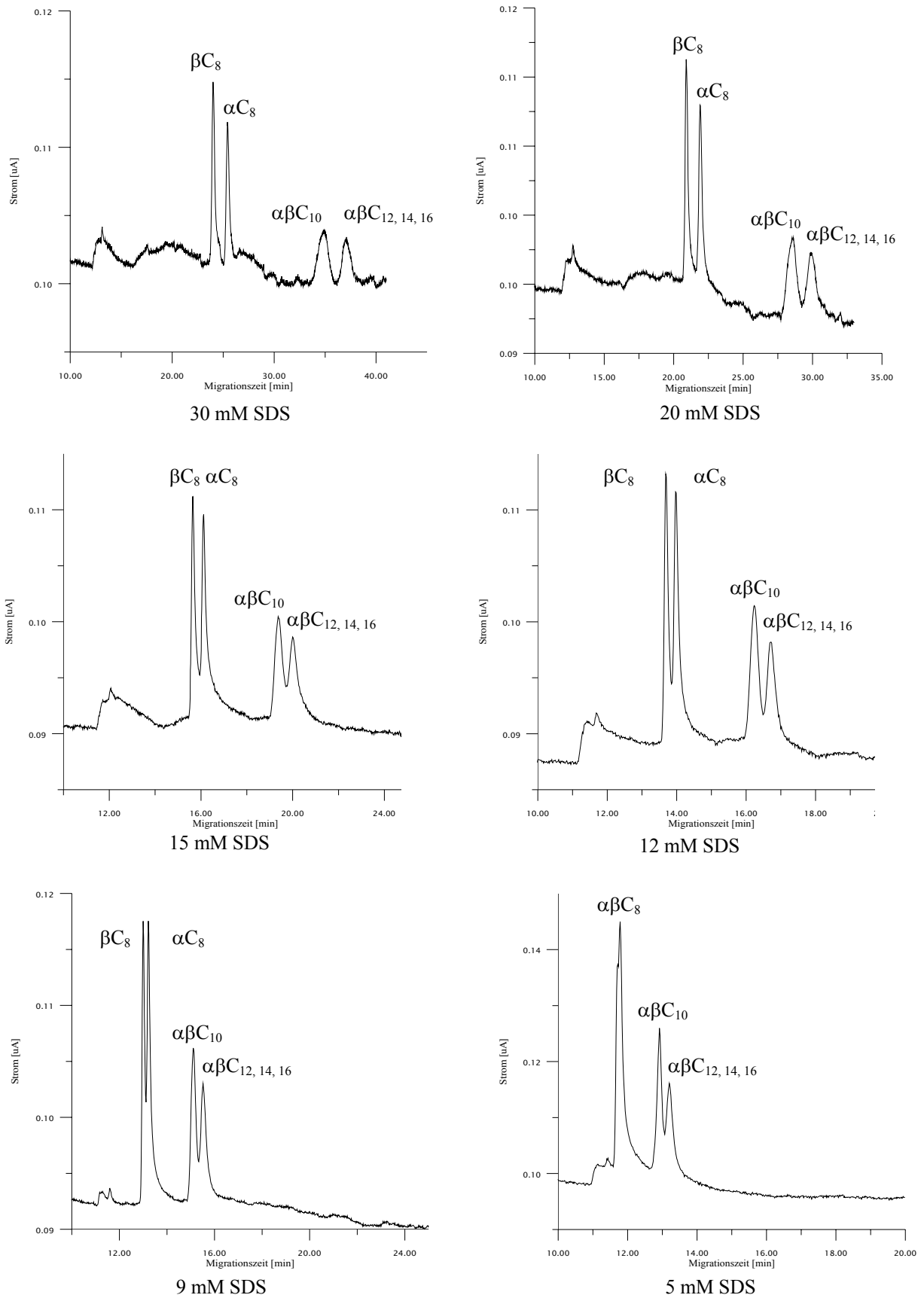


Abbildung 7.4: Einfluss des organischen Modifiers auf die MEKC-Trennung
Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50 (2500 mg/L); 12 mM SDS in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9,35); ACN 10 % (v/v)

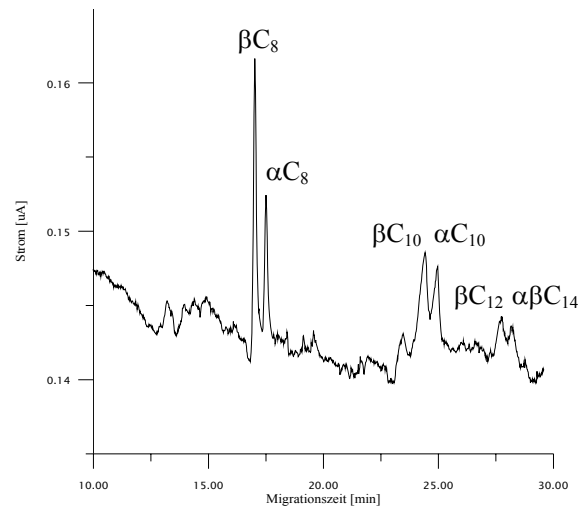


Abbildung 7.5: Einfluss des organischen Modifiers auf die PAD-Detektion
Trennelektrolyt: Na₂HPO₄ (5 mM; pH 8); ACN 70 % (v/v)

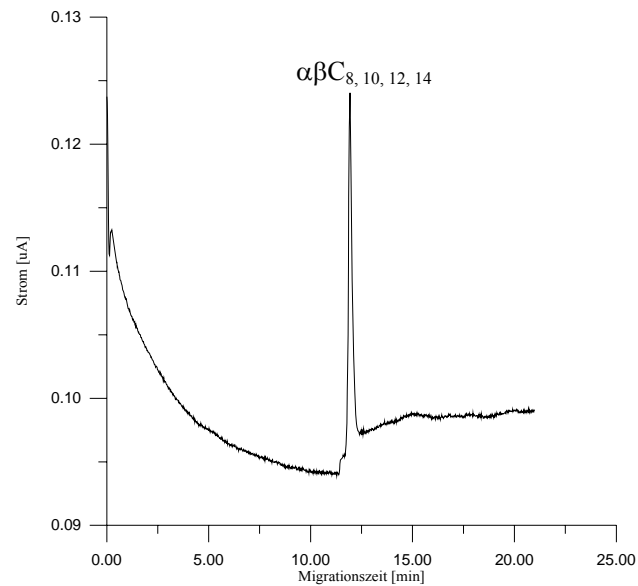


Abbildung 7.6: Einfluss der Konzentration des nichtionischen Micellenbildners in Anwesenheit von Dioxan auf die MEKC-Trennung

Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50 (2000 - 5000 mg/L); 12 mM SDS in Na₂HPO₄ (10 mM; pH 9,35); 15 % (v/v) Dioxan

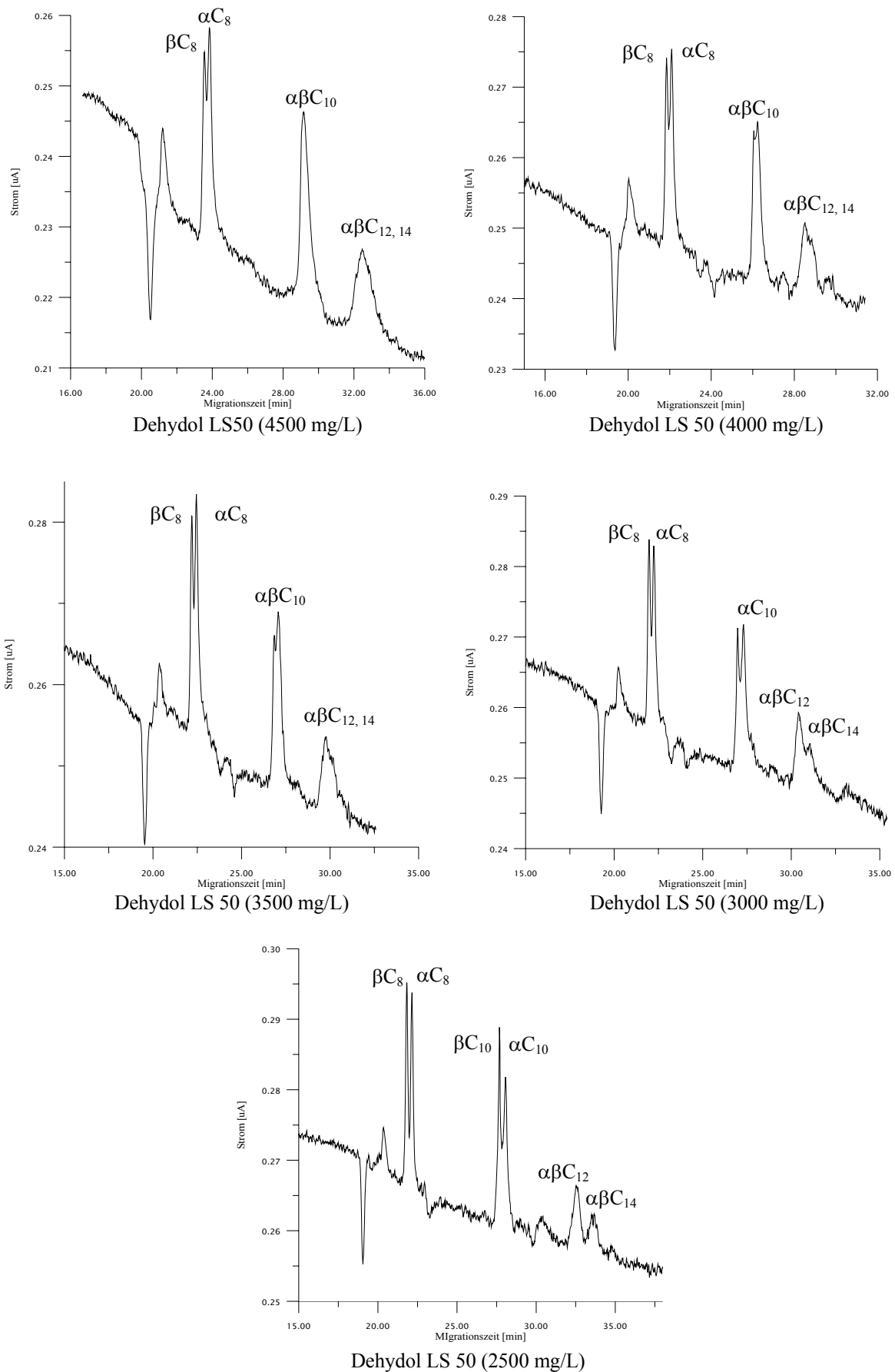


Abbildung 7.7: Einfluss der SDS-Konzentration in Anwesenheit von Dioxan auf die MEKC-Trennung
 Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50 (4500 mg/L) in Na_2HPO_4 (10 mM; pH 9,35); 15 % (v/v) Dioxan

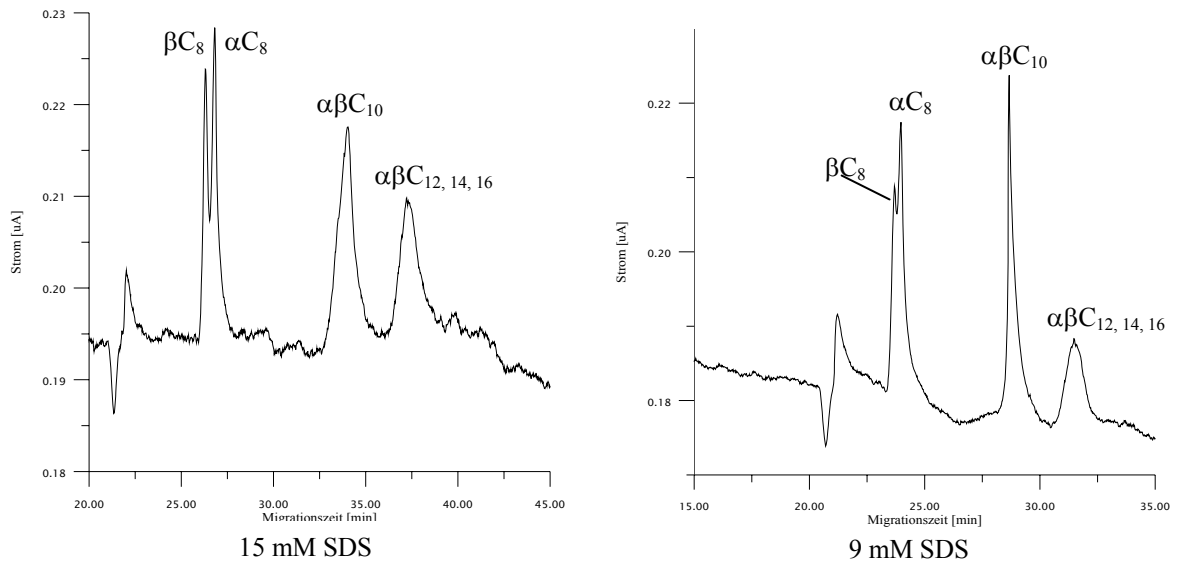


Abbildung 7.8: Einfluss verschiedener langkettiger Alkylsulfonate als Micellenbildner auf die MEKC-Trennung
 Trennelektrolyt: Brij 58 (5000 mg/L) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,4)

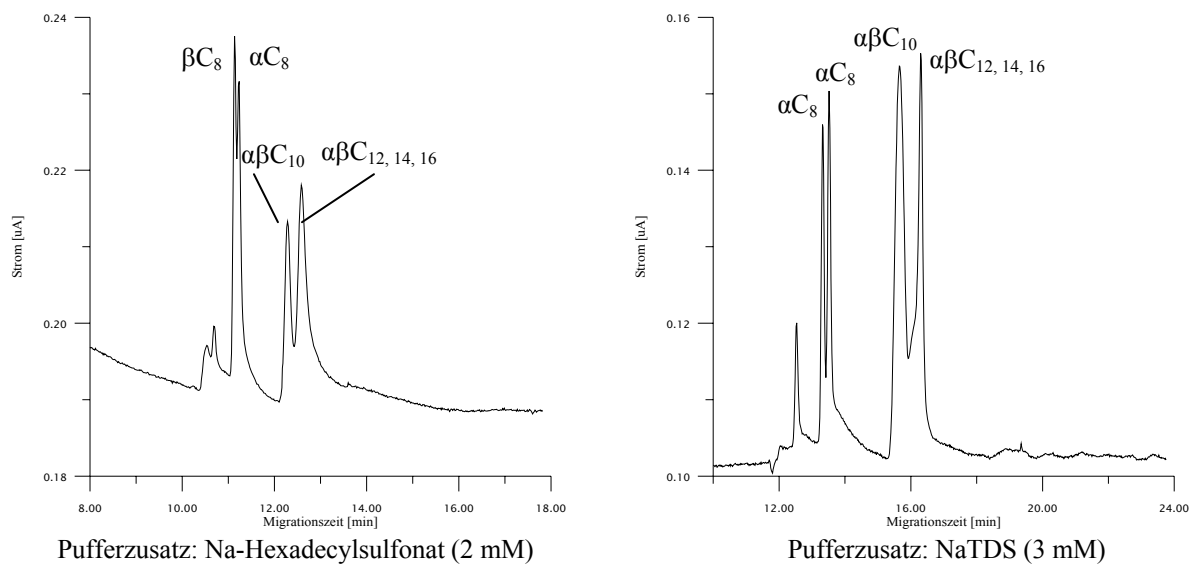
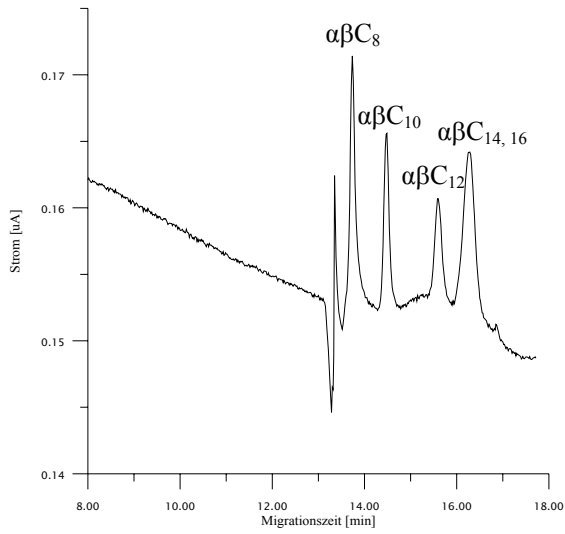
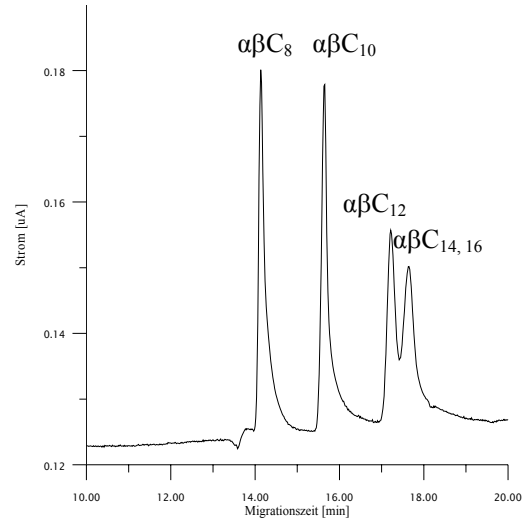


Abbildung 7.9: Einfluss verschiedener langkettiger Alkylsulfonate in Anwesenheit von ACN auf die MEKC-Trennung

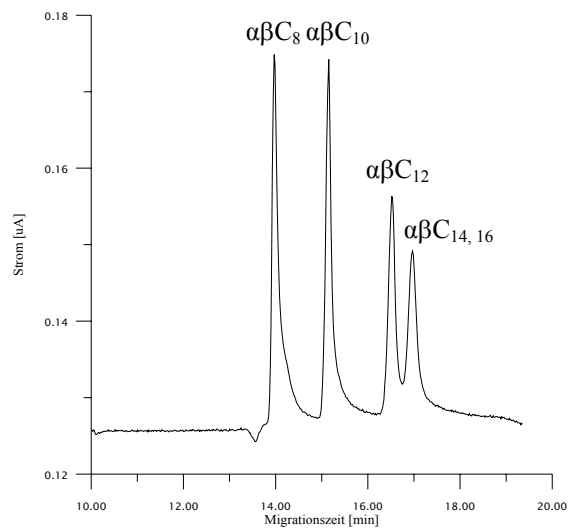
Trennelektrolyt: Brij 58 (5000 mg/L) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,4); 25 % (v/v) ACN



Pufferzusatz: Na-Hexadecylsulfonat (2 mM)



Pufferzusatz: Na-C₁₂₋₁₈-Fettalkoholsulfat (3 mM)



Pufferzusatz: Na-Laurylmyristilethersulfat (EO 2) (3 mM)

Abbildung 7.10: Einfluss der Konzentration von Tetradecylsulfonat in Anwesenheit von ACN auf die MEKC-Trennung

Trennelektrolyt: Brij 58 (5000 mg/L) in Na_2HPO_4 (10 mM; pH 9,35), ACN 25 % (v/v)

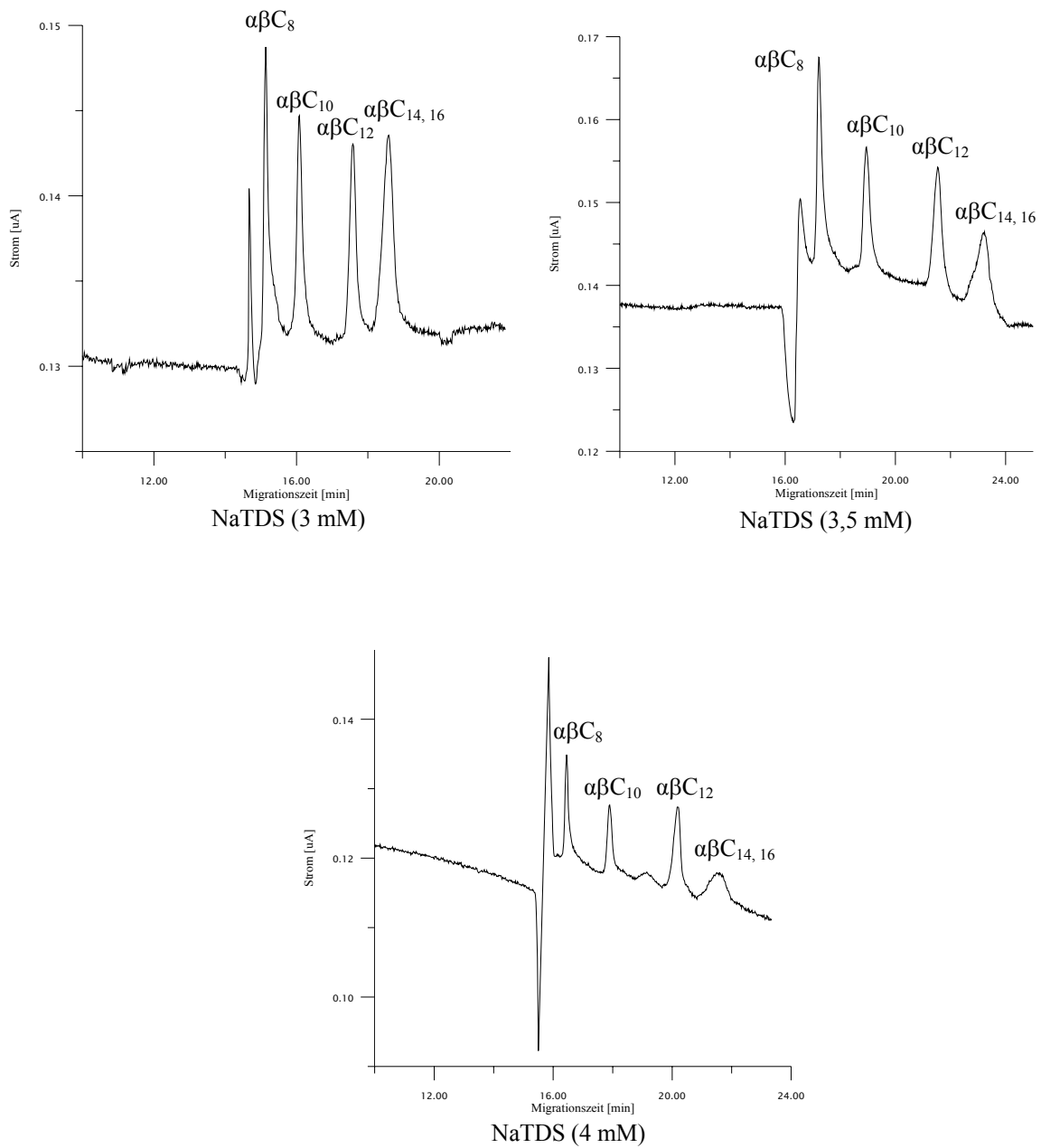
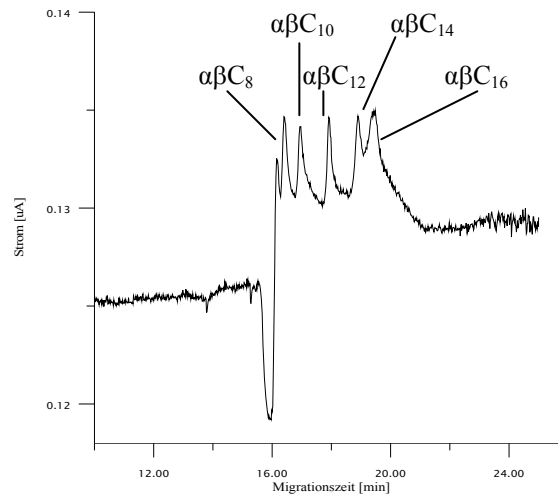


Abbildung 7.11: MEKC von APG-Standards

Trennelektrolyt: NaTDS (3 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na₂HPO₄ (10 mM pH 9,4); ACN 30 % (v/v)

**Abbildung 7.12: MEKC von β-D-Maltosid-Standards (M₁₀₋₁₆)**

Trennelektrolyt:

links: NaTDS (3 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na₂HPO₄ (10 mM pH 9,4); ACN 25 % (v/v);
rechts: Na-Hexadecylsulfonat (2 mM); Brij 58 (5000 mg/L) in Na₂HPO₄ (10 mM pH 9,4); ACN 30 % (v/v)

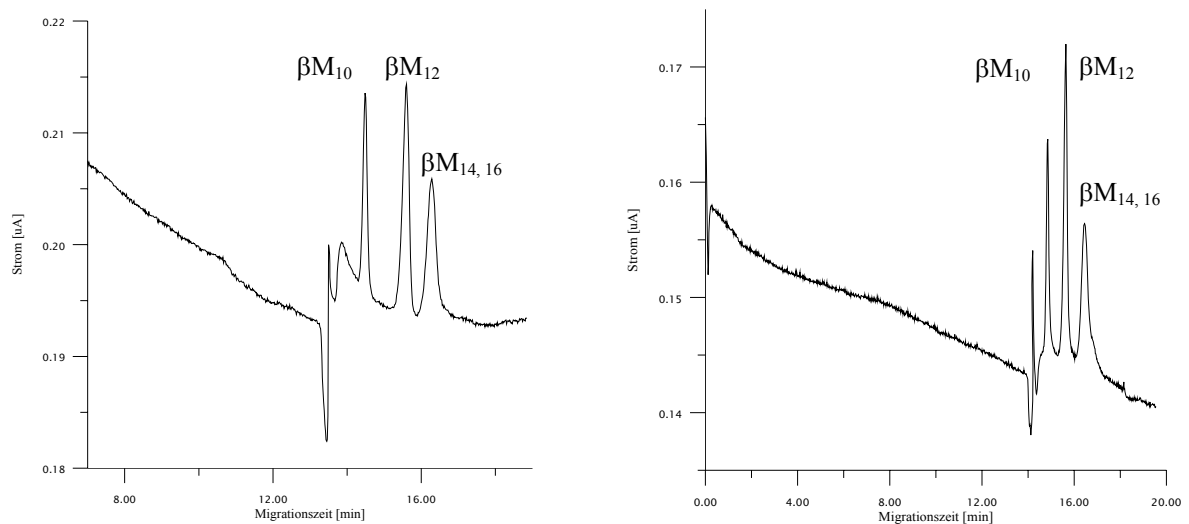
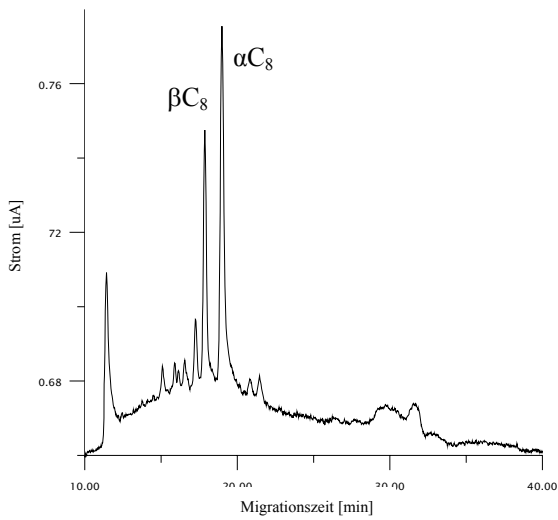
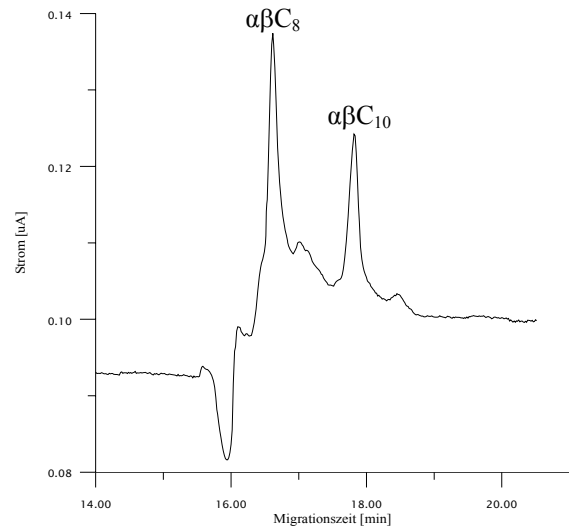


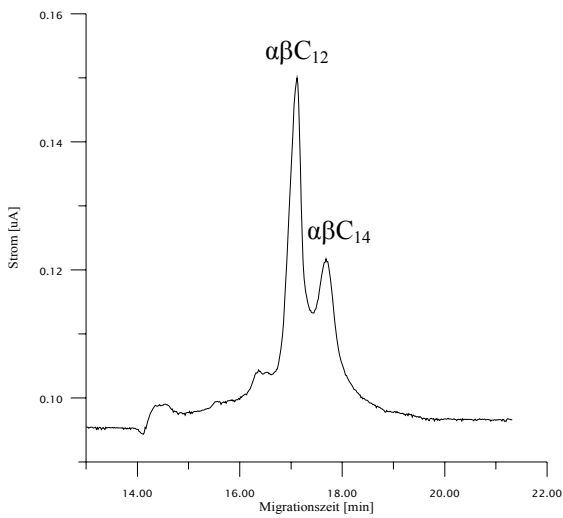
Abbildung 7.13: MEKC von technischen Produkten

**APG[®]-220**

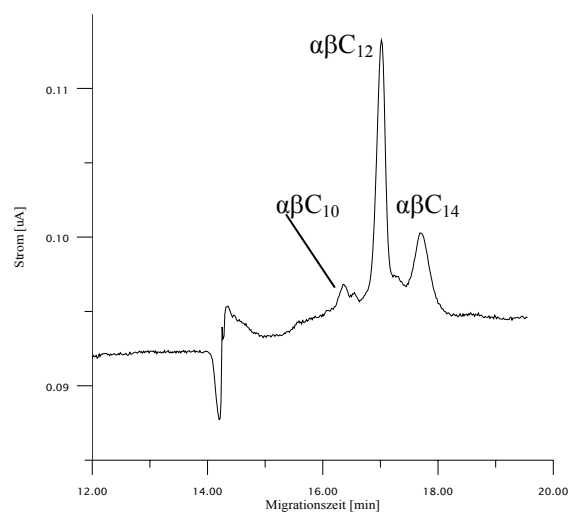
Trennelektrolyt: Dehydol LS 10 (2500 mg/L);
SDS (12 mM) in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,4)

**APG[®]-220**

Trennelektrolyt: NaTDS (3 mM), Brij 58 (5000 mg/L)
in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,4); ACN 25 % (v/v)

**APG[®]-1200**

Trennelektrolyt: NaTDS (3 mM), Brij 58 (5000 mg/L)
in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,4); ACN 25 % (v/v)

**APG[®]-600**

Trennelektrolyt: NaTDS (3 mM), Brij 58 (5000 mg/L)
in Na_2HPO_4 (10 mM, pH 9,4); ACN 25 % (v/v)

Abbildung 7.14: Co-Migration von Mono- und Di-APGs bei der MEKC
Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50 (2500 mg/L), SDS (12 mM), Na₂HPO₄ (10 mM, pH 9,4)

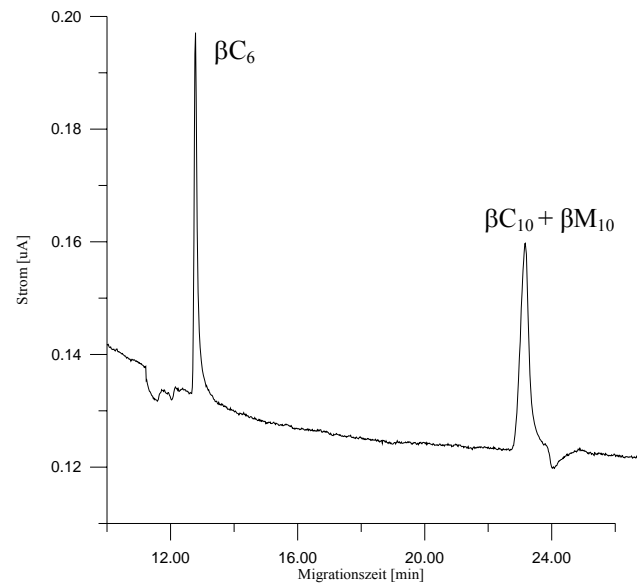


Abbildung 7.15: Ermittlung der Gehalte von αC_8 - und βC_8 -APG in APG[®]-220 mittels Standardadditionsverfahren

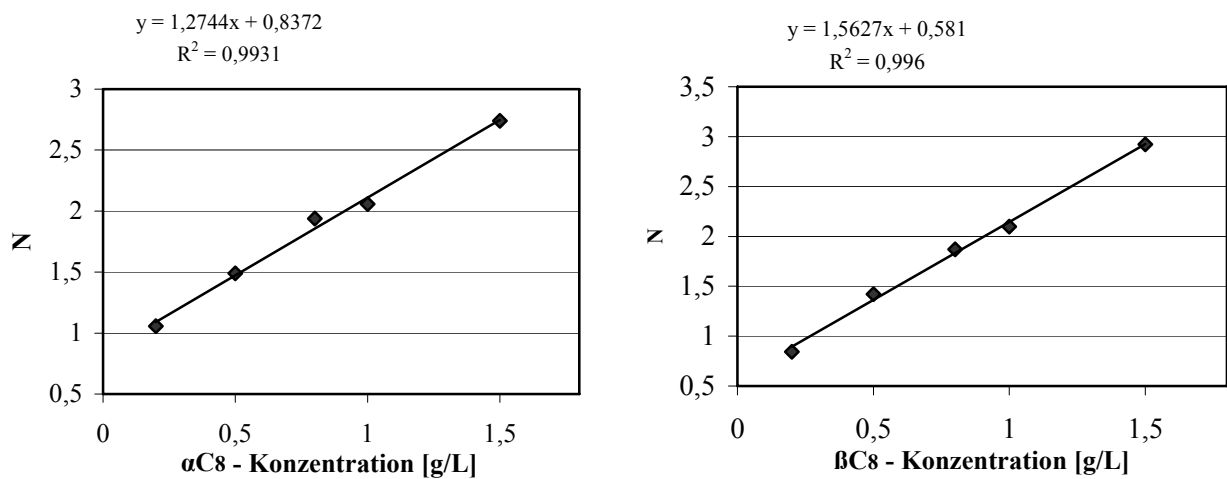
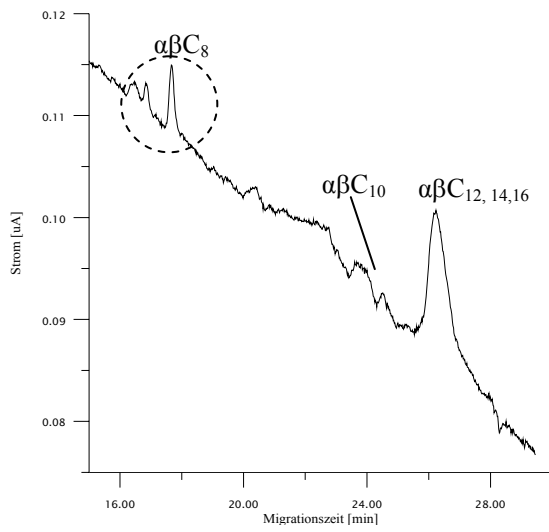
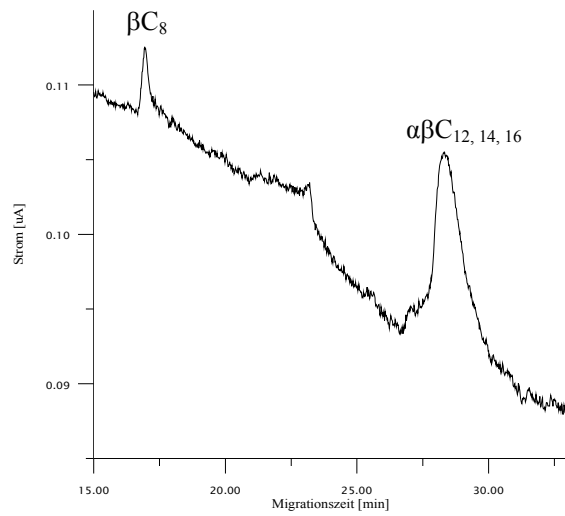


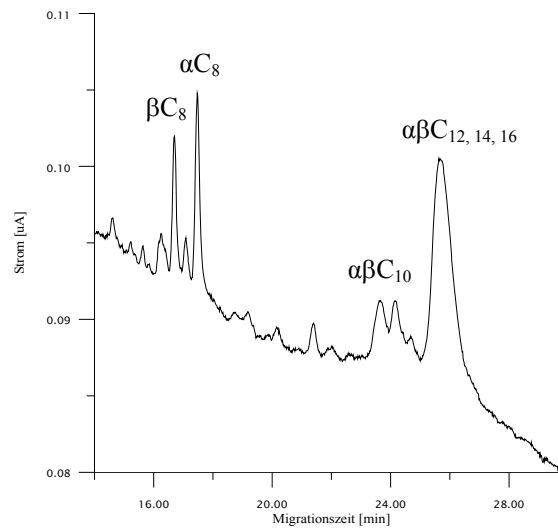
Abbildung 7.16: MEKC-PAD-Analyse von Handelsprodukten
Trennelektrolyt: Dehydrol LS 50 (2500 mg/L), SDS 12 mM in Na₂HPO₄ (10 mM, pH 9,4)



Duschgel „Milch und Hönig“
(Mann&Schröder GmbH)

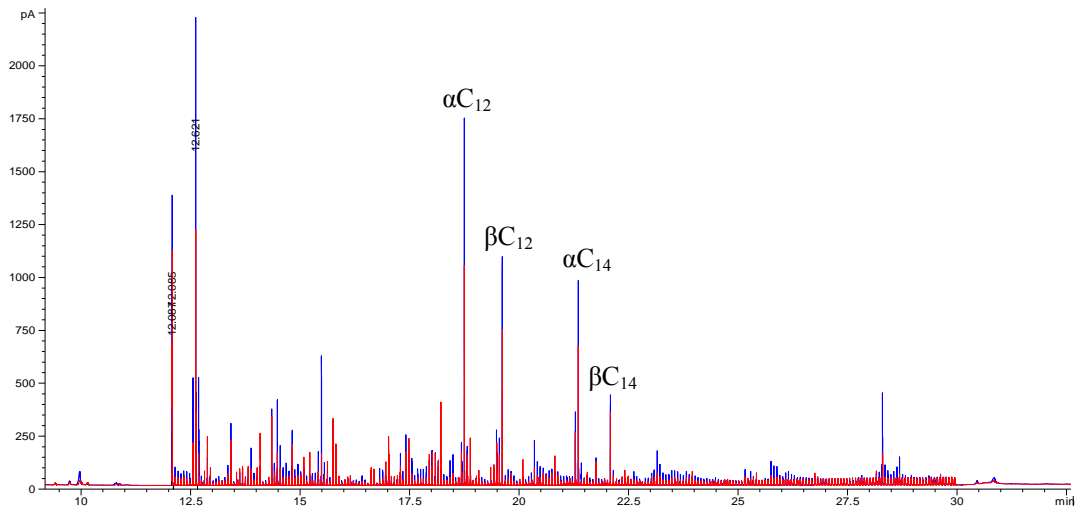


Duschgel „Palmolive“
(Colgate-Palmolive)



Duschgel „Tamore-Ocean“
(Penny-Markt GmbH)

Abbildung 7.17: Vergleich zweier GC-Chromatogramme von „Flüssige Seife Palmoliv“ (Colgate-Palmolive)
 (nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA, 90°C, 1 h)
 blau: mit Pyridin, rot: ohne Pyridin



Analyse von technischen Produkten mittels GCxGC-(TOF)MS

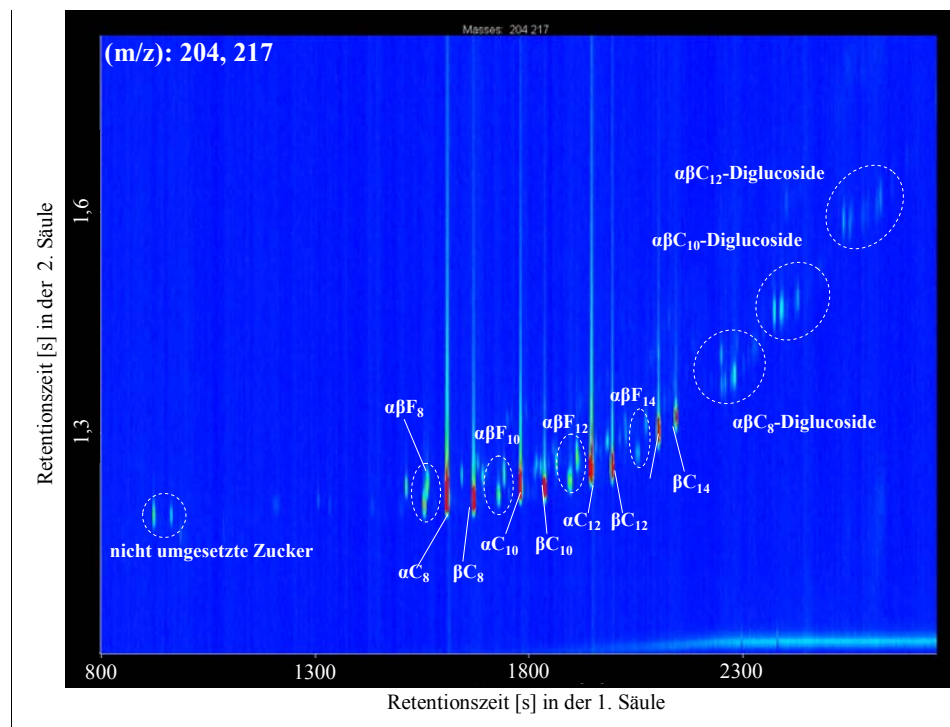


Abbildung 7.18: GCxGC des technischen Produktes 7484-150
 nach Silylierung mit TMSI/Pyridin (3:7, v/v) (85 °C, 1 h)

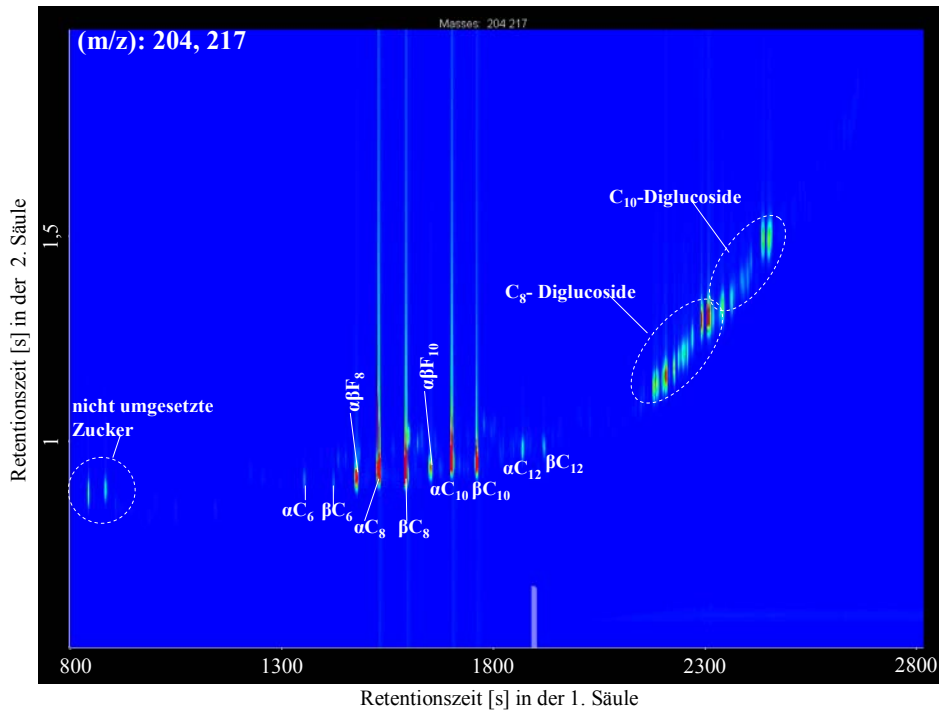


Abbildung 7.19: GCxGC von APG®-220
nach Silylierung mit TMSI/Pyridin (3:7, v/v) (85 °C, 1 h)

Analyse von Realproben mittels GCxGC-(TOF)MS

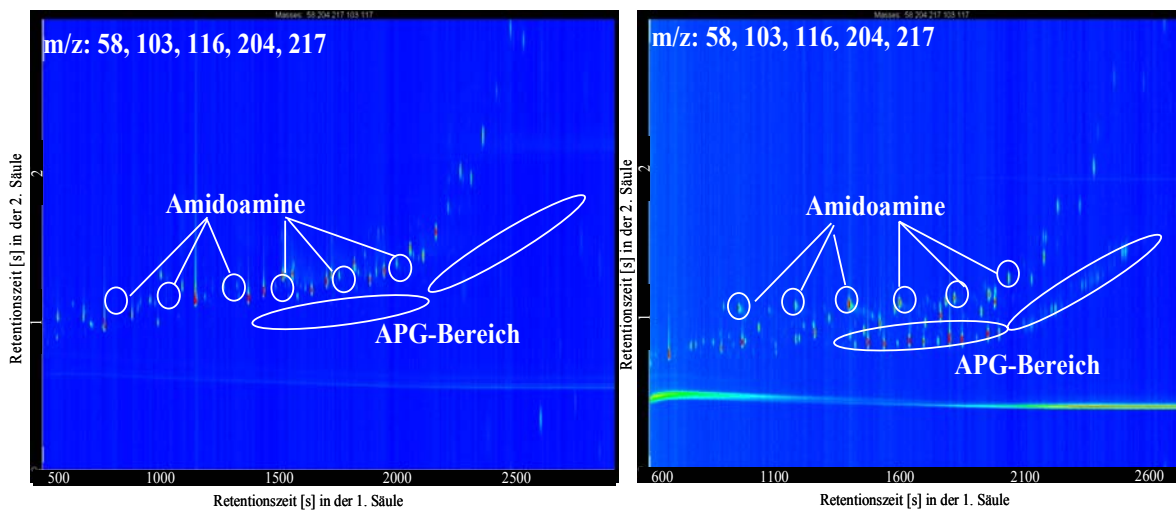


Abbildung 7.20: GCxGC von Muster-Shampoo
links: nach Silylierung mit TMSI (80 °C, 1 h); rechts: nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA (80 °C, 1 h)

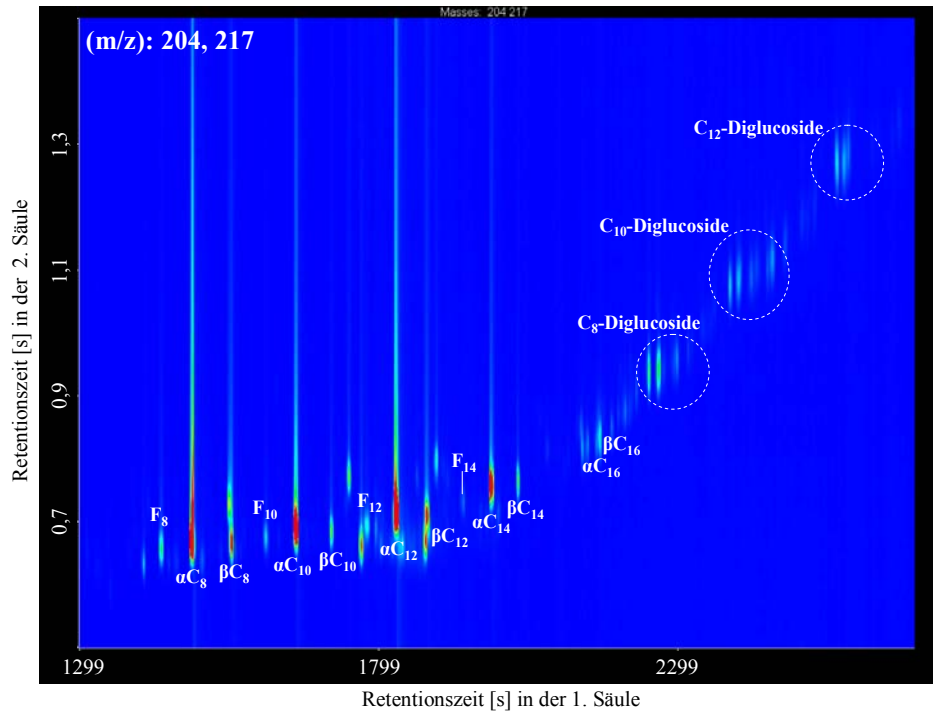


Abbildung 7.21: GCxGC von APGs im Duschgel „Milch und Honig“ (Mann & Schröder GmbH) nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA, (90 °C, 1 h)

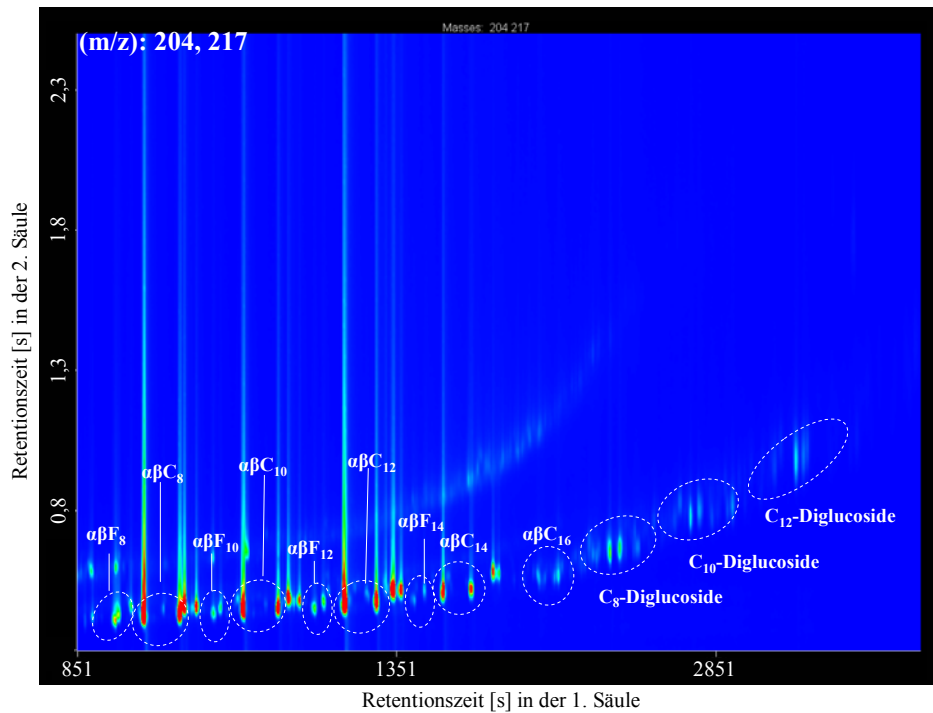


Abbildung 7.22: GCxGC von APGs im Duschgel „Fruchtdusche Melone“ (Mann & Schröder GmbH) nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA (90 °C, 1 h)

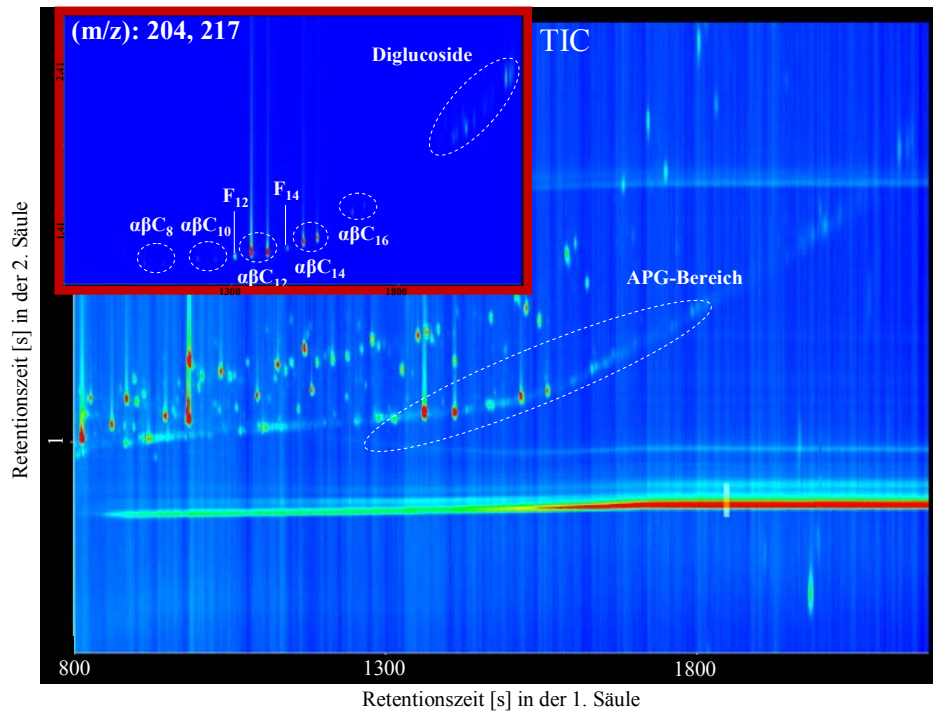


Abbildung 7.23: GCxGC von Duschgel Palmoliv (Colgate-Palmolive)
 nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA (90 °C, 1 h), aufgenommen mit konstantem Druck
 TIC-Chromatogramm, links oben: APG-Bereich (eingblendet sind die Massen 204 und 217)

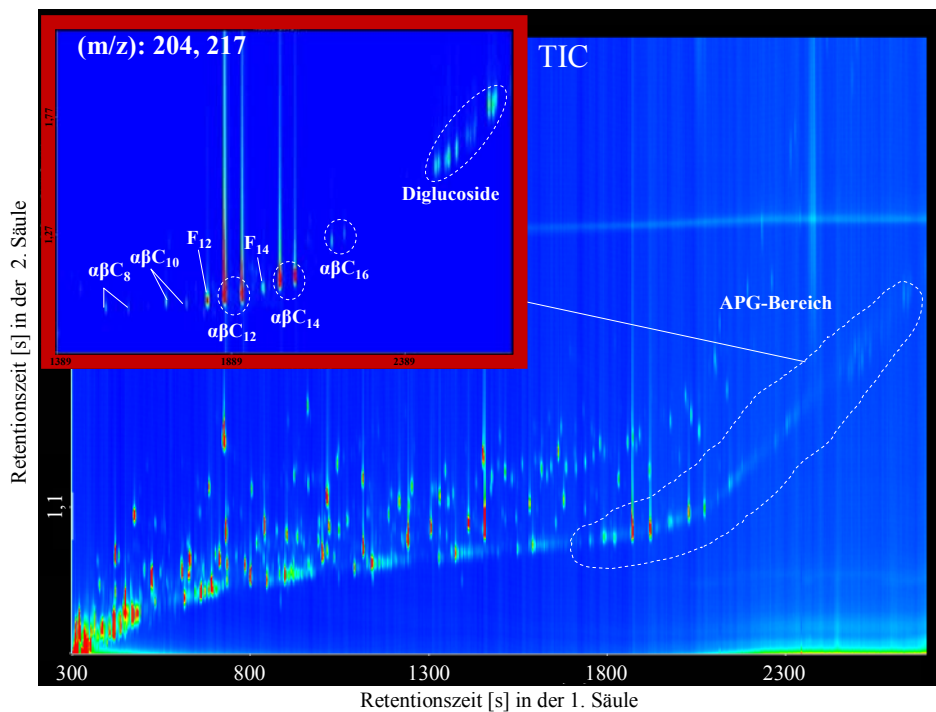


Abbildung 7.24: GCxGC von Palmoliv Creme-Seife (Colgate-Palmolive)
 nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA (90 °C, 1 h), aufgenommen mit konstantem Druck
 TIC-Chromatogramm, links oben: APG-Bereich (eingblendet sind die Massen 204 und 217)

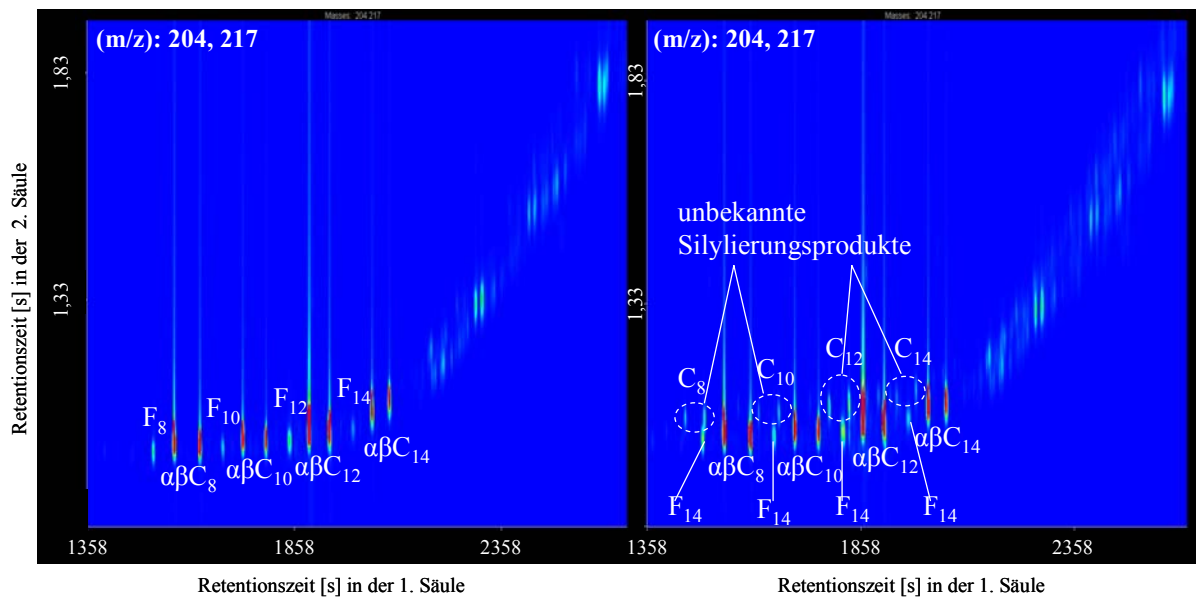


Abbildung 7.25: GCxGC von APGs in „Muster-Shampoo“

links: am Folgetag nach der Silylierung;

rechts: direkt nach der Silylierung mit BSTFA/MSTFA (5:1, v/v); (Nachweis unbekannter Silylierungsprodukte)

8 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1.1: Glycosylierung nach E. Fischer	3
Abbildung 1.2: Industrielle Herstellungswege der APGs	4
Abbildung 1.3: Stereoselektive Synthesemethoden von APGs	5
Abbildung 1.4: Derivate der APGs	6
Abbildung 1.5: Schema zur Auftrennung von Komponenten einer Waschformulierung nach Hummel	10
Abbildung 2.1: PAD-Potentialwelle für die APG-Analyse	21
Abbildung 4.1: Die ursprüngliche Messzelle	32
Abbildung 4.2: Zeichnung des Outlet-Gefäßes	33
Abbildung 4.3: Zeichnung des Messzellenkorpus (Halters)	34
Abbildung 4.4: a: Arbeitselektrode in der Hülse; b: Messzellenfenster	35
Abbildung 4.5: Bild der neuen Messzelle (zur besseren Übersicht ohne Elektrolytlösung aufgenommen)	35
Abbildung 4.6: MEKC von $\alpha, \beta C_{10}$	39
Abbildung 4.7: MEKC von $\alpha, \beta C_{10}$	39
Abbildung 4.8: MEKC von APG [®] -220	40
Abbildung 4.9: MEKC von APG [®] -220	42
Abbildung 4.10: MEKC von $\alpha \beta C_8 \alpha \beta C_{10} \beta C_{12}$	42
Abbildung 4.11: MEKC von $\alpha \beta C_8 \alpha \beta C_{10} \beta C_{12}$	43
Abbildung 4.12: MEKC von $\alpha \beta C_8 \alpha \beta C_{10} \beta C_{12} \alpha \beta C_{14}$	43
Abbildung 4.13: Abhängigkeit der Migrationszeiten C_{12} bis C_{18} -APGs von den HLB-Werten und Molgewichten getesteter Micellenbildner	44
Abbildung 4.14: MEKC von $\alpha \beta C_8 \alpha \beta C_{10} \alpha \beta C_{12} \alpha \beta C_{14}$	46
Abbildung 4.15: MEKC von $\alpha \beta C_8 \alpha \beta C_{10} \beta C_{12} \alpha \beta C_{14}$	47
Abbildung 4.16: MEKC von $\alpha \beta C_8 \alpha \beta C_{10} \beta C_{12} \alpha \beta C_{14} \alpha \beta C_{16} \alpha \beta C_{18}$	48
Abbildung 4.17: MEKC von $\alpha \beta C_8 \alpha \beta C_{10} \beta C_{12} \alpha \beta C_{14}$	50
Abbildung 4.18: MEKC von $\alpha \beta C_8 \alpha \beta C_{10} \beta C_{12} \alpha \beta C_{14}$	51
Abbildung 4.19: MEKC von $\alpha \beta C_8 \alpha \beta C_{10} \beta C_{12} \alpha \beta C_{14}$	51
Abbildung 4.20: MEKC von $\alpha \beta C_8 \alpha \beta C_{10} \beta C_{12} \alpha \beta C_{14}$	55
Abbildung 4.21: MEKC von $\alpha \beta C_8 \alpha \beta C_{10} \alpha \beta C_{12} \alpha \beta C_{14} \alpha \beta C_{16} \alpha \beta C_{18}$	56
Abbildung 4.22: Analyse technischer Produkte: APG [®] -600 (links); APG [®] -220 (rechts)	58
Abbildung 4.23: Analyse technischer Produkte: APG [®] -220 (links); 7484-150 (rechts)	58
Abbildung 4.24: Kalibrierung der APGs (C_8 bis C_{14})	60
Abbildung 4.25: Kalibrierung von αC_{10} , βC_{10} , αC_{12} und βC_{12} bei Verwendung des internen Standards βC_6	61
Abbildung 4.26: Kalibriergeraden von αC_8 und βC_8 bei Verwendung des internen Standards βC_6	61
Abbildung 4.27: MEKC von Duschgel „Fruchtdusche Melone“ (Mann&Schröder GmbH)	64
Abbildung 4.28: Vergleich zweier Elektropherogramme	65
Abbildung 4.29: Vergleich zweier Chromatogramme	68
Abbildung 4.30: β -Maltoside C_{10-16} nach Silylierung mit TMSI (85 °C, 1 h)	71
Abbildung 4.31: APG [®] -600	73
Abbildung 4.32: Gaschromatogramm von Mono-APGs nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA (85 °C, 1 h)	74
Abbildung 4.33: Gaschromatogramm von βM_{10} nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA (85 °C, 1 h)	74
Abbildung 4.34: Gaschromatogramm von αC_8	75

Abbildung 4.35: Gaschromatogramm von βM_{10}	76
Abbildung 4.36: GCxGC von αC_{10} und βM_{10}	76
Abbildung 4.37: Chromatogramm von APG[®]-600 nach Silylierung mit TMSI (konstanter Fluss)	77
Abbildung 4.38: Diglucoside in APG[®]-600 mit ausgewählten Spektren	78
Abbildung 4.39: CI-Massenspektren von durchsilylierten Mono-APGs (Reaktantgas: Isobutan)	79
Abbildung 4.40: Tenside im Duschgel „Fruchtdusche Melone“ (Mann & Schröder GmbH)	82
Abbildung 4.41: GCxGC eines Muster-Shampoos	83
Abbildung 4.42: Vergleich zweier Chromatogramme des Duschgels „Tamore Ocean“	86
Abbildung 7.1: Einfluss der Konzentration des nichtionischen Micellenbildners auf die MEKC-Trennung (1)	101
Abbildung 7.2: Einfluss der Konzentration des nichtionischen Micellenbildners auf die MEKC-Trennung (2)	102
Abbildung 7.3: Einfluss der SDS-Konzentration auf die MEKC-Trennung	103
Abbildung 7.4: Einfluss des organischen Modifiers auf die MEKC-Trennung	104
Abbildung 7.5: Einfluss des organischen Modifiers auf die PAD-Detektion	104
Abbildung 7.6: Einfluss der Konzentration des nichtionischen Micellenbildners in Anwesenheit von Dioxan auf die MEKC-Trennung	105
Abbildung 7.7: Einfluss der SDS-Konzentration in Anwesenheit von Dioxan auf die MEKC-Trennung	106
Abbildung 7.8: Einfluss verschiedener langkettiger Alkylsulfonate als Micellenbildner	106
Abbildung 7.9: Einfluss verschiedener langkettiger Alkylsulfonate in Anwesenheit von ACN	107
Abbildung 7.10: Einfluss der Konzentration von Tetradecylsulfonat in Anwesenheit von ACN	108
Abbildung 7.11: MEKC von APG-Standards	109
Abbildung 7.12: MEKC von β-D-Maltosid-Standards (M_{10-16})	109
Abbildung 7.13: MEKC von technischen Produkten	110
Abbildung 7.14: Co-Migration von Mono- und Di-APGs bei der MEKC	111
Abbildung 7.15: Ermittlung der Gehalte von αC_8- und βC_8-APG in APG[®]-220 mittels Standardadditionsverfahren	111
Abbildung 7.16: MEKC-PAD-Analyse von Handelsprodukten	112
Abbildung 7.17: Vergleich zweier GC-Chromatogramme von „Flüssige Seife Palmoliv“ (Colgate-Palmolive)	113
Abbildung 7.18: GCxGC des technischen Produktes 7484-150	113
Abbildung 7.19: GCxGC von APG[®]-220	114
Abbildung 7.20: GCxGC von Muster-Shampoo	114
Abbildung 7.21: GCxGC von APGs im Duschgel „Milch und Honig“ (Mann & Schröder GmbH)	115
Abbildung 7.22: GCxGC von APGs im Duschgel „Fruchtdusche Melone“ (Mann&Schröder GmbH)	115
Abbildung 7.23: GCxGC von Duschgel Palmoliv (Colgate-Palmolive)	116
Abbildung 7.24: GCxGC von Palmoliv Creme-Seife (Colgate-Palmolive)	116
Abbildung 7.25: GCxGC von APGs in „Muster-Shampoo“	117

9 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1.1: Zusammensetzung der technischen APG-Gemische	7
Tabelle 1.2: Abbaubarkeit von Tensiden	8
Tabelle 1.3: Kritische micellare Konzentrationen von APGs	9
Tabelle 1.4: Eigenschaften und Einsatzbereiche der APGs	9
Tabelle 2.1: Überblick der gängigen Elektromigrationsmethoden	13
Tabelle 2.2: Typische elektrophoretische Bedingungen	16
Tabelle 2.3: Einsatzgebiete der üblichen Arbeitselektroden	24
Tabelle 4.1: Angewandte PAD - Bedingung	36
Tabelle 4.2: Screening verschiedener MEKC -Trennsysteme für die APG-PAD-Detektion	38
Tabelle 4.3: Überblick über die getesteten Micellenbildner	41
Tabelle 4.4: Untersuchung des Einflusses der Gehalte von SDS und Dehydrol auf die Trennung	51
Tabelle 4.5: Der Einfluss von Puffer-Parametern auf Trennleistung und Detektion	53
Tabelle 4.6: Screening verschiedener Alkylsulfonate und Alkylsulfate	54
Tabelle 4.7: Einsatz optimierter Trennsysteme zur Analyse technischer Produkte	57
Tabelle 4.8: Gehalte, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze, kritische Werte und Verfahrensstandardabweichung	63
Tabelle 4.9: Optimierte Analysenbedingungen für die GCxGC-(TOF)MS	70
Tabelle 4.10: Überblick über typische Fragmente von APG-TMS-Derivaten	70
Tabelle 4.11: Zusammensetzung des untersuchten Muster-Shampoos	83
Tabelle 4.12: Ergebnisse der Quantifizierung eines Muster-Shampoos	84
Tabelle 4.13: Vergleich der APG-Befunde mittels MEKC-PAD und GCxGC-(TOF)MS	85
Tabelle 6.1: Angewandte Silylierungsmethoden	95
Tabelle 6.2: Ursprüngliche Methode zur Analyse der APGs mittels GCxGC-(TOF)MS	96
Tabelle 7.1: Strukturen gängiger Tenside	98
Tabelle 7.2: Eigenschaften und Einsatzbereiche gängiger Tenside	99
Tabelle 7.3: Tensidverbrauch in Wasch- und Reinigungsmitteln, Deutschland (1997) ..	99

10 LITERATURVERZEICHNIS

1. Stache, H. und Großmann, H. *Waschmittel* Springer Verlag, Berlin, Heidelberg **1992**
2. Andree, H. *Waschmittelchemie. Aktuelle Themen aus Forschung und Entwicklung* Henkel & Cie., Düsseldorf **1975**
3. Wagner, G. *Waschmittel-Chemie und Ökologie* Ernst Klett Verlag GmbH, Stuttgart **1993**
4. Glathe, S. und Schermer, D. *Chem.Unserer Zeit* 37 **2003** 336 - 346
5. Rehage, H. *Selbstorganisation von Tensiden* *Chem.Unserer Zeit* 39 **2005** 36 - 44
6. Kosswig, K. und Stahe H. *Die Tenside* Carl Hanser Verlag, München, Wien **1993**
7. Dörfler, H. D. *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme* Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York **2002**
8. Evans, D. F. und Wennerström, H. *The colloidal domain where physics, chemistry, biology, and technology meet* Wiley-VCH, New York 2nd ed. **1999**
9. Hill, K., von Rubinski, W. und Stoll, G. *Alkyl Polyglycosides Technology, Properties and Applications* VCH, Weinheim **1996**
10. Colley, M. A. *Ann.Chim.Phys.* IV **1870** 363
11. Michael, A. *Am.Chem.J.* 1 **1879**
12. E.Fischer E. *Ber.* 26 **1893** 2400
13. Koenigs, W. und Knorr, E. *Ber.* 34 **1901** 957
14. Fischer, E. und Helferich, B. *Justus Liebigs Ann.Chem.* 68 **1911** 386

15. H.Th.Böhme AG. *DRP 593422*. **1934**
16. H.Th.Böhme AG. *DRP 611055*. **1935**
17. Biermann, M., Schmid, K. und Schulz, P. *Alkylpolyglucosides - Technology and Properties* Starch-Starke 45 **1993** 281 - 288
18. Degrip, W. J. und Boveegeurts, P. H. M. *Synthesis and Properties of Alkylglucosides with Mild Detergent Action - Improved Synthesis and Purification of Beta-1-Octyl-Glucose, Beta-1-Nonyl-Glucose and Beta-1-Decyl-Glucose - Synthesis of Beta-1-Undecylglucose and Beta-1-Dodecylmaltose* Chemistry and Physics of Lipids 23 **1979** 321 - 335
19. Focher, B., Savelli, G. und Torri, G. *Neutral and ionic alkylglucopyranosides. Synthesis, characterization and propertie* Chemistry and Physics of Lipids 53 **1990** 141 - 155
20. Weber, N. und Benning, H. *Synthesis of Alkyl-b-Glycosides* Chemistry and Physics of Lipids 31 **1982** 325 - 329
21. Balzer, D. *Nonionic Surfactants. Alkylpolyglucosides* Marcel Dekker Inc. New York, Basel **2000**
22. Flory, P. J. *Molecular Size Distribution in Three Dimensional Polymers .6. Branched Polymers Containing A-R-Bf-I Type Units* Journal of the American Chemical Society 74 **1952** 2718 - 2723
23. Mc.Curry, P. M. Henkel Corpotation, nicht publizierte Resultate **1111**
24. Industrieverband Körperpflege und Waschmittel e.V.(IKW). **2000**
25. Kroh, L. W., Neubert, T., Raabe, E. und Waldhoff, H. *Enzymatic analysis of alkyl polyglycosides - Enzymatic degradation by alpha-glucosidase, beta-glucosidase and isomaltase* Tenside Surfactants Detergents 36 **1999** 19 - 21
26. Verein für Umwelt und Arbeitsschutz e.V.(Hg): Chemie im Haushalt. **1983**

-
27. Falbe, J. *Surfactants in Consumer Products* **1987**
 28. Nickel, D., Nitsch, C., Kurzendörfer, C.-P. und von Rubinski, W. *Progr. Colloid Polym. Sci* 89 **1992** 249
 29. Pfüller, U. *Mizellen-Vesikel-Mikroemulsionen* VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin **1986**
 30. Shinoda, K., Yamaguchi, T. und Hori, R. *The Surface Tension and the Critical Micelle Concentration in Aqueous Solution of Beta-D-Alkyl Glucosides and Their Mixtures* *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 34 **1961** 237 - 241
 31. Heerklotz, H. und Seelig, J. *Correlation of Membrane/Water Partition Coefficients of Detergents with the Critical Micelle Concentration* *Biophysical Journal* 78 **2000** 2345 - 2440
 32. Hummel, D. O. *Analyse der Tenside. Chemische, physikalisch-chemische und physikalische Methoden* Carl Hanser Verlag München, Wien **1996**
 33. Haeflinger, O. P. *Universal Two-Dimensional HPLC Technique for the Chemical Analysis of Complex Surfactants Mixtures* *Anal. Chem.* 75 **2003** 371 - 378
 34. *DIONEX Acclaim Surfactant Column: A Simple Solution to Difficult Challenges* Hersteller-PRoduktinformation **2005**
 35. Alexander C.J. und Richter M.M. *Measurement of fatty amine ethoxylate surfactants using electrochemiluminescence* *Analytica Chimica Acta* 402 **1999** 105 - 112
 36. Chen, S. H. und Pietrzyk, D. J. *Separation of Sulfonate and Sulfate Surfactants by Capillary Electrophoresis - Effect of Buffer Cation* *Analytical Chemistry* 65 **1993** 2770 - 2775
 37. Ding, W. H. und Liu, C. H. *Analysis of linear alkylbenzenesulfonates by capillary zone electrophoresis with large-volume sample stacking* *Journal of Chromatography A* 929 **2001** 143 - 150

-
38. Dworschak A. und Pyell U. *Widening of the elution window in micellar electrokinetic chromatography with cationic surfactants II. Cationic additives and modifiers of the electroosmotic flow* Journal of Chromatography A 855 **1999** 669 - 679
 39. Dworschak A. und Pyell U. *Widening of the elution window in micellar electrokinetic chromatography with cationic surfactants - I. Selection of surfactant, variation of pH and addition of organic modifiers or inorganic metal salts* Journal of Chromatography A 848 **1999** 387 - 400
 40. Gallagher P.A. und Danielson N.D. *Capillary electrophoresis of cationic and anionic surfactants with indirect conductivity detection* Journal of Chromatography A 781 **1997** 533 - 540
 41. Gallagher P.A., Oertel C.M. und Danielson N.D. *Spliced capillaries for use in capillary electrophoresis with conductivity detection* Journal of Chromatography A 817 **1998** 31 - 39
 42. Heinig, K., Vogt, C. und Werner, G. *Separation of anionic surfactants using aqueous and nonaqueous capillary electrophoresis* Journal of Capillary Electrophoresis 3 **1996** 261 - 270
 43. Heinig, K., Vogt, C. und Werner, G. *Separation of ionic and neutral surfactants by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography* Journal of Chromatography A 745 **1996** 281 - 292
 44. Heinig, K., Vogt, C. und Werner, G. *Separation of nonionic surfactants of the polyoxyethylene type by capillary electrophoresis* Fresenius Journal of Analytical Chemistry 357 **1997** 695 - 700
 45. Howisey, R. L., Acheson, M. B., Rowbotham, R. K., Morgan, A., Reshetilov, A. N., Semenchuk, I. N., Iliysov, P. V. und Taranova, L. A. *The amperometric biosensor for detection of sodium dodecyl sulfate* Analytica Chimica Acta 347 **1997** 19 - 26

-
46. Kulapina, E. G., Chernova, R. K., Kulapin, A. I., Mitrochina, S. A. und Mikhaleva, N. *M. Separation of anionic, cationic and nonionic surfactants im Homologous Series using Molecular sieves* Journal of analytical Chemistry 58 **2003** 655
 47. Liu, H. Y. und Ding, W. H. *Determination of homologues of quaternary ammonium surfactants by capillary electrophoresis using indirect UV detection* Journal of Chromatography A 1025 **2004** 303 - 312
 48. Macka, M., Gerhardt, G., Andersson, P., Bogan, D., Cassidy, R. M. und Haddad, P. R. *Capillary electrophoresis with end-capillary potentiometric detection using a copper electrode* Electrophoresis 20 **1999** 2539 - 2546
 49. Malinowska, E., Manzoni, A. und Meyerhoff, M. E. *Potentiometric response of magnesium-selective membrane electrode in the presence of nonionic surfactants* Analytica Chimica Acta 382 **1999** 265 - 275
 50. Moskvin, L. N., Simon, J., Löffler, P., Michailova, N. V. und Nicolaevna, D. N. *Photometric determination of anionic surfactants with a flow-injection analyzer that includes a chromatomembrane cell for sample preconcentration by liquid-liquid solvent extraction* Talanta 43 **1996** 819 - 824
 51. Portet, F. I., Treiner, C. und Desbene, P. L. *Simultaneous quantitative trace analysis of anionic and nonionic surfactant mixtures by reversed-phase liquid chromatography* Journal of Chromatography A 878 **2000** 99 - 113
 52. Shamsi, S. A. und Danielson, N. D. *Individual and Simultaneous Class Separations of Cationic and Anionic Surfactants Using Capillary Electrophoresis with Indirect Photometric Detection* Analytical Chemistry 67 **1995** 4210 - 4216
 53. Vogt, C. *Bestimmung von Tensiden und hochgeladenen Additiven mittels Kapillarelektrophorese.* 5 **2003** 551 - 555
 54. Hülskötter F., Raulf M. und Buschmann N. *Proceeding of 4th World Surfactant Congress, Barcelona* **1996**
 55. Buschmann, N. und Hülskötter, F. *Jorn.Com.Esp.Deterg.* 27 **1997** 419

-
56. Buschmann, N. und Wodarczak, S. *Jorn.Com.Esp.Deterg.* 25 **1994** 203
 57. Bastl-Borrmann, R. und Kroh, L. W. *Novel enzymatic assay for determination of alkyl polyglucosides with short chain fatty alcohols* *J.Analytical Chemistry* 371 **2001** 939 - 943
 58. Waldhoff, H., Scherler, D. und Bütfering, L. *Analytiker Taschenbuch* **1999**
 59. Hummel, D. O. *Analysis of Surfactants. Atlas of FTIR Spectra with Interpretations* Hanser Verlag, München **1996**
 60. Buschmann, N., Hulskotter, F., Kruse, A. und Wodarczak, S. *Analytical methods for the determination of alkylpolyglucosides* *Fett-Lipid* 98 **1996** 399 - 402
 61. Buschmann, N. und Kruse, A. *Jorn.Com.Esp.Deterg.* 26 **1995** 209
 62. York, H., Funk, W. und Fischer, W. *Dünnschichtchromatographie: Reagenzien und Nachweismethoden* VCH, Weinheim **1993**
 63. Spilker, R., Menzebach, B., Schneider, U. und Venn, I. *Analysis of alkyl polyglucosides* *Tenside Surfactants Detergents* 33 **1996** 21 - 25
 64. Klaffke, S., Neubert, T. und Kroh, L. W. *Determination of nonionic surfactants by LC/MS technique using alkyl polyglycosides as model substance* *Tenside Surfactants Detergents* 36 **1999** 178 - 184
 65. Touchstone, J. C. *Practice of Thin Layer Chromatography* Wiley, New York **1992**
 66. Nguyễn M.N.A. *Optimisation of the Analysis of Alkyl Polyglycosides by MEKC-PAD* Dissertation, Universität Wuppertal **2004**
 67. Schröder, H. F. *Proceeding of 4th World Surfactant Congress, Barcelona* **1996**
 68. Billian, P. und Stan, H. J. *Gas chromatography mass spectrometry of alkyl polyglucosides as their trimethylsilylethers* *Tenside Surfactants Detergents* 35 **1998** 181 - 184

-
69. Wodarczak, S. und Burford, M. *Contribution to "HPLC"* Birmingham **1997**
 70. Waldhoff, H., Scherler, M. und Schmitt, M. *Alkyl polyglycosides (APG) - Analysis of raw material; determination in products and environmental matrices* Proceedings of 4th World Surfactant Congress, Barcelona 1 **1996** 507 - 518
 71. Thomson, B., Wang, Z. und Paine, A. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72 **1995** 11
 72. Berchter, M., Meister, J. und Hammes, C. *MALDI-TOF-MS: A new analytical technique for characterizing products on the base of renewable resources* *Fett-Lipid* 99 **1997** 384 - 391
 73. Buschmann N., Merschel L. und Wodarczak S. *Analytical methods for alkyl polyglucosides .2. Qualitative determination using thin layer chromatography and identification by means of in-situ secondary ion mass spectrometry* *Tenside Surfactants Detergents* 33 **1996** 16 - 20
 74. Schreiber, A., Efer, J., Ceglarek U. und Engewald, W. *GIT Labor-Fachz.* 42 **1998** 1050 - 1055
 75. Riekkola, M.-L., Jönsson, A. A. und Smith, P. M. *Terminology for Analytical Electromigration Techniques* *Pure Appl. Chem.* 76 **2004** 443 - 451
 76. Terabe, S., Otsuka, K., Ichikawa, K., Tsuchiya, A. und Ando, T. *Electrokinetic separations with micellar solutions and open-tubular capillaries* *Anal. Chem.* 56(1) **1984** 111 - 113
 77. Terabe, S., Otsuka, K. und Ando, T. *Electrokinetic Chromatography with Micellar Solutions and Open-Tubular Capillaries* *Analytical Chemistry* 57 **1985** 834 - 841
 78. Terabe, S., Matsubara, N., Ishihama, Y. und Okada, Y. *Microemulsion Electrokinetic Chromatography - Comparison with Micellar Electrokinetic Chromatography* *Journal of Chromatography* 608 **1992** 23 - 29
 79. Kuhn, R. und Hofstetter-Kuhn, S. *Capillary Electrophoresis: Principles and Practice* **1993**

-
80. Blumberg, L. M. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography: metrics, potentials, limits* Journal of Chromatography A 985 **2003** 29 - 38
 81. Brinkman, U. A. T., Beens, J. und Dalluge, J. *The potential of comprehensive gas chromatography and its combination with time-of-flight mass spectrometry for the analysis of complex samples* Forensic Science International 136 **2003** 110 - 111
 82. Dimandja, J. M. D. *Gc X Gc* Analytical Chemistry 76 **2004** 167A - 174A
 83. Marriott, P. und Shellie, R. *Principles and applications of comprehensive two-dimensional gas chromatography* Trac-Trends in Analytical Chemistry 21 **2002** 573 - 583
 84. Marriott, P. J., Morrison, P. D., Shellie, R. A., Dunn, M. S., Sari, E. und Ryan, D. *Multidimensional and comprehensive - Two-dimensional gas chromatography* Lc Gc Europe 16 **2003** 23 - 31
 85. Dimandja, J. M. D. *A new tool for the optimized analysis of complex volatile mixtures: Comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry* American Laboratory 35 **2003** 42
 86. Liu, Z. und Phillips, J. B. *Comprehensive Two-dimensional gas chromatography using an column Thermal Modulator Interface;* Journal of Chromatography Science 29 (6) **1991** 227-231
 87. Phillips, J. B. und Xu, J. *Comprehensive multi-dimensional gas chromatography* Journal of Chromatography A 703 **1995** 327 - 334
 88. Phillips, J. B. und Beens, J. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a hyphenated method with strong coupling between the two dimensions* Journal of Chromatography A 856 **1999** 331 - 347
 89. Dalluge, J., Beens, J. und Brinkman, U. A. T. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool* Journal of Chromatography A 1000 **2003** 69 - 108

-
90. Hyotylainen, T., Kallio, M., Hartonen, K., Jussila, M., Palonen, S. und Riekkola, M. *L. Modulator design two-dimensional for comprehensive gas chromatography: Quantitative analysis of polyaromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls* Analytical Chemistry 74 **2002** 4441 - 4446
 91. Pursch, M., Sun, K., Winniford, B., Cortes, H., Weber, A., McCabe, T. und Luong, J. *Modulation techniques and applications in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC)* Analytical and Bioanalytical Chemistry 373 **2002** 356 - 367
 92. Kinghorn, R. M. und Marriott P.J. *High speed cryogenic modulation - A technology enabling comprehensive multidimensional gas chromatography* Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 22 **1999** 235 - 238
 93. Beens, J., Adahchour, M. und Vreuls, R. J. J. *Simple, non-moving modulation interface for comprehensive two-dimensional gas chromatography* Journal of Chromatography A 919 **2001** 127 - 132
 94. Phillips, J. B., Gaines, R. B. und Blomberg, F. W. M. *A robust thermal modulator for comprehensive two-dimensional chromatography* Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 22 **1999** 3 - 10
 95. Marriott, P. J. *Longitudinally modulated cryogenic system. A generally applicable approach to solute trapping and mobilization in gas chromatography* Analytical Chemistry 69 **1997** 2582 - 2588
 96. Kinghorn, R. M. und Marriott P.J. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography using a modulating cryogenic trap* Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 21 **1998** 620 - 622
 97. Kinghorn, R. M., Marriott P.J. und Dawes, P. A. *Design and implementation of comprehensive gas chromatography with cryogenic modulation* Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 23 **2000** 245 - 252

-
98. Ledford, E. B. und Billesbach, C. *Jet-cooled thermal modulator for comprehensive multidimensional gas chromatography* Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 23 **2000** 202 - 204
 99. Marriott P.J. *GCxGC (short course)* 24th International Symposium on Chromatography, Leipzig **2001**
 100. Adahchour, M., Beens, J. und Vreuls, R. J. J. *Application of solid-phase micro-extraction and comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC) for flavour analysis* Chromatographia 55 **2002** 357 - 361
 101. Shellie, R., Marriott, P. und Morrison, P. *Concepts and preliminary observations on the triple-dimensional analysis of complex volatile samples by using GCxGC-TOFMS* Analytical Chemistry 73 **2001** 1336 - 1344
 102. Haglund, P., Harju, M. und Danielsson, C. *Effects of temperature and flow regulated carbon dioxide cooling in longitudinally modulated cryogenic systems for comprehensive two-dimensional gas chromatography* Journal of Chromatography A 962 **2002** 127 - 134
 103. Korytar, P., Leonards, P. E. G. und de Boer, J. *High-resolution separation of polychlorinated biphenyls by comprehensive two-dimensional gas chromatography* Journal of Chromatography A 958 **2002** 203 - 218
 104. Dalluge, J., van Rijn, M., Beens, J., Vreuls, R. J. J. und Brinkman, U. A. T. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection applied to the determination of pesticides in food extracts* Journal of Chromatography A 965 **2002** 207 - 217
 105. van Deursen, M., Beens, J. und Reijenga, J. *Group-type identification of oil samples using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to a time of flight mass spectrometer (GCxGC-TOF)* Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 23 **2000** 507 - 510

-
106. Jensen, M. B. und Johnson, D. C. *Fast wave forms for pulsed electrochemical detection of glucose by incorporation of reductive desorption of oxidation products* Analytical Chemistry 69 **1997** 1776 - 1781
107. Johnson, D. C., Polta, J. A., Polta, T. Z., Neuburger, G. G., Johnson, J., Tang, A. P. C., Yeo, I. H. und Baur, J. *Anodic Detection in Flow-Through Cells* Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions I 82 **1986** 1081 - 1098
108. Johnson, D. C. und Lacourse, W. R. *Pulsed Electrochemical Detection at Noble-Metal Electrodes in Liquid-Chromatography* Electroanalysis 4 **1992** 367 - 380
109. Hughes, S., Meschi, P. L. und Johnson, D. C. *Amperometric Detection of Simple Alcohols in Aqueous-Solutions by Application of A Triple-Pulse Potential Waveform at Platinum-Electrodes* Analytica Chimica Acta 132 **1981** 1 - 10
110. Hughes, S. und Johnson, D. C. *Amperometric Detection of Simple Carbohydrates at Platinum-Electrodes in Alkaline-Solutions by Application of A Triple-Pulse Potential Waveform* Analytica Chimica Acta 132 **1981** 11 - 22
111. Hughes, S. und Johnson, D. C. *Pulsed-Potential Amperometric Detection of Reducing Sugars* Abstracts of Papers of the American Chemical Society 182 **1981** 71
112. Lacourse, W. R. und Johnson, D. C. *Optimization of Wave-Forms for Pulsed Amperometric Detection of Carbohydrates Based on Pulsed Voltammetry* Analytical Chemistry 65 **1993** 50 - 55
113. Hughes, S. und Johnson, D. C. *Triple-Pulse Amperometric Detection of Carbohydrates After Chromatographic-Separation* Analytica Chimica Acta 149 **1983** 1 - 10
114. Johnson, D. C. und Lacourse, W. R. *Liquid-Chromatography with Pulsed Electrochemical Detection at Gold and Platinum-Electrodes* Analytical Chemistry 62 **1990** A589 - A597
115. Weiss, J. *Ionenchromatographie* VCH Verlag **1991**

-
116. Ding, Y. S., Yu, H. und Mou, S. F. *Direct determination of free amino acids and sugars in green tea by anion-exchange chromatography with integrated pulsed amperometric detection* Journal of Chromatography A 982 **2002** 237 - 244
117. Johnson, D. C., Dobberpuhl, D., Roberts, R. und Vandenberg, P. *Pulsed Amperometric Detection of Carbohydrates, Amines and Sulfur Species in Ion Chromatography - the Current State of Research* Journal of Chromatography 640 **1993** 79 - 96
118. Lacourse, W. R. *Pulsed Electrochemical Detection at Noble-Metal Electrodes in High-Performance Liquid-Chromatography* Analysis 21 **1993** 181 - 195
119. Rocklin, R. D. und Pohl, C. A. *Determination of Carbohydrates by Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection* Journal of Liquid Chromatography 6 **1983** 1577 - 1590
120. Voegel, P. D., Zhou, W. H. und Baldwin, R. P. *Integrated capillary electrophoresis/electrochemical detection with metal film electrodes directly deposited onto the capillary tip* Analytical Chemistry 69 **1997** 951 - 957
121. Matysik, F. M., Nyholm, L. und Markides, K. E. *Comparison of μm and mm sized disk electrodes for end-column electrochemical detection in capillary electrophoresis* Fresenius Journal of Analytical Chemistry 363 **1999** 231 - 235
122. Selvaganapathy, P., Burns, M. A., Burke, D. T. und Mastrangelo, C. H. *Inline Electrochemical Detection for Capillary Electrophoresis* MEMS, Interlacken, Schweiz **2001**
123. Martin, R. S., Ratzlaff, K. L., Huynh, B. H. und Lunte, S. M. *In-channel electrochemical detection for microchip capillary electrophoresis using an electrically isolated potentiostat* Analytical Chemistry 74 **2002** 1136
124. Wallingford, R. A. und Ewing, A. G. *Amperometric Detection of Catechols in Capillary Zone Electrophoresis with Normal and Micellar Solutions* Analytical Chemistry 60 **1988** 258 - 263

-
125. Oshea, T. J., Greenhagen, R. D., Lunte, S. M., Lunte, C. E., Smyth, M. R., Radzik, D. M. und Watanabe, N. *Capillary Electrophoresis with Electrochemical Detection Employing An On-Column Nafion Joint Journal of Chromatography* 593 **1992** 305 - 312
126. Chen, I. C. und Whang, C. W. *Capillary Electrophoresis with Amperometric Detection Using A Porous Cellulose-Acetate Joint Journal of Chromatography* 644 **1993** 208 - 212
127. Kok, W. T. und Sahin, Y. *Solid-State Field Decoupler for Off-Column Detection in Capillary Electrophoresis Analytical Chemistry* 65 **1993** 2497 - 2501
128. Zhong, M. und Lunte, S. M. *Integrated on-capillary electrochemical detector for capillary electrophoresis Analytical Chemistry* 68 **1996** 2488 - 2493
129. Jin, W. R., Xu, Q. und Li, W. *A new capillary electrophoresis end-column amperometric detection system without the need for capillary/electrode alignment Electrophoresis* 21 **2000** 1527 - 1534
130. Goto, M., Inagaki, S. und Esaka, Y. *Handy detection cell for end-column electrochemical detection in capillary electrophoresis Analytical Sciences* 17 **2001** 1383 - 1387
131. Chen, M. C. und Huang, H. J. *An Electrochemical Coil for End-Column Amperometric Detection in Capillary Electrophoresis Analytical Chemistry* 67 **1995** 4010 - 4014
132. Ye, J. N. und Baldwin, R. P. *Amperometric Detection in Capillary Electrophoresis with Normal Size Electrodes Analytical Chemistry* 65 **1993** 3525 - 3527
133. Baldwin, R. P. *Recent advances in electrochemical detection in capillary electrophoresis Electrophoresis* 21 **2000** 4017 - 4028
134. Jin, W., Ye, X., Yu, D. und Dong, Q. *A simple capillary zone electrophoretic assay for reserpin using end-column amperometric detection at a carbon fiber micro-disk array electrode Analytica Chimica Acta* 408 **2000** 257 - 262

-
135. Bergquist, J., Josefsson, E., Tarkowski, A., Ekman, R. und Ewing, A. *Measurements of catecholamine-mediated apoptosis of immunocompetent cells by capillary electrophoresis* Electrophoresis 18 **1997** 1760 - 1766
136. Fishman, H. A. und Ewing, A. G. *The Effect of Anodic Surface-Treatment on the Oxidation of Catechols at Ultrasmall Carbon Ring Electrodes* Electroanalysis 3 **1991** 899 - 907
137. Jin, W. R., Wei, H. Y. und Zhao, X. *Determination of adenine and guanine by capillary zone electrophoresis with end-column amperometric detection at a carbon fiber microdisk array electrode* Electroanalysis 9 **1997** 770 - 774
138. Weiss, D. J. und Lunte, C. E. *Detection of a urinary biomarker for oxidative DNA damage 8-hydroxydeoxyguanosine by capillary electrophoresis with electrochemical detection* Electrophoresis 21 **2000** 2080 - 2085
139. Shen, H., Witowski, S. R., Boyd, B. W. und Kennedy, R. T. *Detection of peptides by precolumn derivatization with biuret reagent and preconcentration on capillary liquid chromatography columns with electrochemical detection* Analytical Chemistry 71 **1999** 987 - 994
140. Wang, A., Zhang, L., Zhang, S. und Fang, Y. *Determination of thiols following their separation by CZE with amperometric detection at a carbon electrode* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 23 **2000** 429 - 436
141. Fermier, A. M., Gostkowski, M. L. und Colon, L. A. *Rudimentary capillary-electrode alignment for capillary electrophoresis with electrochemical detection* Analytical Chemistry 68 **1996** 1661 - 1664
142. Vandeberg, P. J. und Johnson, D. C. *Pulsed Electrochemical Detection of Cysteine, Cystine, Methionine, and Glutathione at Gold Electrodes Following Their Separation by Liquid-Chromatography* Analytical Chemistry 65 **1993** 2713 - 2718
143. Lai, E. P. C., Zhang, W. G., Trier, X., Georgi, A., Kowalski, S., Kennedy, S., MdMuslim, T. und Dabek-Zlotorzynska, E. *Speciation of mercury at ng/ml*

-
- concentration levels by capillary electrophoresis with amperometric detection*
Analytica Chimica Acta 364 **1998** 63 - 74
144. Lai, E. P. C. und Dabek-Zlotorzynska, E. *Capillary electrophoresis with amperometric detection for mercury speciation* Am. Environ. Lab. 6 **1996** 1 - 8
145. Vandeberg, P. J. und Johnson, D. C. *Rotated Ring-Disk Electrode Study of Organic Sulfur-Compounds at Gold Using Pulsed Electrochemical Detection at the Ring*
Abstracts of Papers of the American Chemical Society 206 **1993** 59
146. Vandeberg, P. J., Kowagoe, J. L. und Johnson, D. C. *Pulsed amperometric detection of sulfur compounds: thiourea at gold electrodes* Analytica Chimica Acta 260 **1992** 1 - 11
147. Chen, L. M., Yet, M. G. und Shao, M. C. *New Methods for Rapid Separation and Detection of Oligosaccharides from Glycoproteins* Faseb Journal 2 **1988** 2819 - 2824
148. Oshea, T. J., Lunte, S. M. und Lacourse, W. R. *Detection of Carbohydrates by Capillary Electrophoresis with Pulsed Amperometric Detection* Analytical Chemistry 65 **1993** 948 - 951
149. Casella, I. G. *Platinum Glassy-Carbon Electrode As Detector for Liquid-Chromatographic Determination of Hydroxyl-Containing Compounds* Analytica Chimica Acta 311 **1995** 37 - 46
150. van Riel, J. A. M. und Olieman, C. *Selective Detection in RP-HPLC of Tyr-, Trp-, and Sulfur-Containing Peptides by Pulsed Amperometry at Platinum* Analytical Chemistry 67 **1995** 3911 - 3915
151. Santos, L. M. und Baldwin R.P. *Liquid chromatography/electrochemical detection of carbohydrates at a cobalt phthalocyanine containing chemically modified electrode* Analytical Chemistry 59 **1987** 1766 - 1770
152. Wang, J., Chen, G. und Chatrathi, M. P. *Nickel amperometric detector prepared by electroless deposition for microchip electrophoretic measurement of alcohols and sugars* Electroanalysis 16 **2004** 1603 - 1608

-
153. Fermier, A. M. und Colon, L. A. *Capillary electrophoresis with constant potential amperometric detection using a nickel microelectrode for detection of carbohydrates* Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 19 **1996** 613 - 616
 154. Wang, Q. J. und Fang, Y. Z. *Analysis of sugars in traditional Chinese drugs* Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences 812 **2004** 309 - 324
 155. Engstromsilverman, C. E. und Ewing, A. G. *Copper Wire Amperometric Detector for Capillary Electrophoresis* Journal of Microcolumn Separations 3 **1991** 141 - 145
 156. Ye, J. N. und Baldwin, R. P. *Amperometric Detection in Capillary Electrophoresis with Normal Size Electrodes* Analytical Chemistry 65 **1993** 3525 - 3527
 157. Colon, L. A., Dadoo, R. und Zare, R. N. *Determination of Carbohydrates by Capillary Zone Electrophoresis with Amperometric Detection at A Copper Microelectrode* Analytical Chemistry 65 **1993** 476 - 481
 158. Luo, M. Z. und Baldwin, R. P. *Characterization of Carbohydrate Oxidation at Copper Electrodes* Journal of Electroanalytical Chemistry 387 **1995** 87 - 94
 159. Voegel, P. D. und Baldwin, R. P. *Electrochemical detection with copper electrodes in liquid chromatography and capillary electrophoresis* American Laboratory 28 **1996** 39
 160. Oshea, T. J. und Lunte, S. M. *Selective Detection of Free Thiols by Capillary Electrophoresis Electrochemistry Using A Gold Mercury Amalgam Microelectrode* Analytical Chemistry 65 **1993** 247 - 250
 161. Rocklin, R. D. *A Practical Guide to HPLC Detection* **1993**
 162. Elrassi, Z. *Carbohydrate Analysis - High-Performance Liquid-Chromatography and Capillary Electrophoresis* Trac-Trends in Analytical Chemistry 14 **1995**

-
163. Neuburger, G. G. und Johnson, D. C. *Pulsed Amperometric Detection of Carbohydrates at Gold Electrodes with A 2-Step Potential Wave-Form* Analytical Chemistry 59 **1987** 150 - 154
164. Neuburger, G. G. und Johnson, D. C. *Comparison of the Pulsed Amperometric Detection of Carbohydrates at Gold and Platinum-Electrodes for Flow-Injection and Liquid-Chromatographic Systems* Analytical Chemistry 59 **1987** 203 - 204
165. Baldwin, R. P. *Electrochemical determination of carbohydrates: Enzyme electrodes and amperometric detection in liquid chromatography and capillary electrophoresis* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 19 **1999** 69 - 81
166. Grayson, M. A. *Measuring mass. From positive rays to proteins* Chemical Heritage Press, Philadelphia **2002**
167. Virkki, V. T., Ketola, R. A., Ojala, M., Kotiaho, T., Komppa, V., Grove, A. und Facchetti, S. *On-Site Environmental-Analysis by Membrane Inlet Mass-Spectrometry* Analytical Chemistry 67 **1995** 1421 - 1425
168. Hoch, G. und Kok, B. *A Mass Spectrometer Inlet System for Sampling Gases Dissolved in Liquid Phases* Archives of Biochemistry and Biophysics 101 **1963** 160
169. Bier, M. E. und Cooks, R. G. *Membrane Interface for Selective Introduction of Volatile Compounds Directly Into the Ionization-Chamber of A Mass-Spectrometer* Analytical Chemistry 59 **1987** 597 - 601
170. Willoughby, R., Sheehan, E. und Mitrovic, S. *A Global View of LC/MS* Global View Publishing, Pittsburg, PA **1988** 362 - 363
171. Ternes, T. A., Hany, J., Baumann, W. und Nagel, R. *Contributions to the Analysis of Organic Xenobiotics in Fish .I. A Method for Simultaneous Determination of Triazines, Acetamides and Lipophilic Compounds in Fish Using Gc/Ms* Fresenius Journal of Analytical Chemistry 351 **1995** 790 - 797
172. Holmes, J. C. und Morell, F. A. *Appl.Spectrosc.* 11 **1957** 86

-
173. Pinkston, J. D., Owens, G. D., Burkes, L. J., Delaney, T. E., Millington, D. S. und Maltby, D. A. *Capillary Supercritical Fluid Chromatography-Mass Spectrometry Using A High Mass Quadrupole and Splitless Injection* Analytical Chemistry 60 **1988** 962 - 966
174. Pinkston, J. D. *Practical supercritical fluid chromatography and extraction* Harwood Acad.Publ.,Amsterdam **1999**
175. Banks, J. F. und Dresch, T. *Detection of fast capillary electrophoresis peptide and protein separations using electrospray ionization with a time-of-flight mass spectrometer* Analytical Chemistry 68 **1996** 1480 - 1485
176. Hofstadler, S. A., Swanek, F. D., Gale, D. C., Ewing, A. G. und Smith, R. D. *Capillary Electrophoresis Electrospray-Ionization Fourier-Transform Ion-Cyclotron Resonance Mass-Spectrometry for Direct Analysis of Cellular Proteins* Analytical Chemistry 67 **1995** 1477 - 1480
177. Smith, R. D., Wahl, J. H., Goodlett, D. R. und Hofstadler, S. A. *Capillary Electrophoresis/Mass Spectrometry* Analytical Chemistry 65 **1993** A574 - A584
178. Olivares, J. A., Nguyen, N. T., Yonker, C. R. und Smith, R. D. *On-line mass spectrometric detection for capillary zone electrophoresis* Anal.Chem. 59 **1987** 1230 - 1232
179. Marshall, A. G., Comisarow, M. B. und Parisod, G. *Theory of Fourier-Transform Ion-Cyclotron Resonance Mass Spectroscopy-Iii .1. Relaxation and Spectral-Line Shape in Fourier-Transform Ion Resonance Spectroscopy* Journal of Chemical Physics 71 **1979** 4434 - 4444
180. persönliche Mitteilung Prof.Gäb Universität Wuppetal **2005**
181. Hubner, J., Nguyen, A., Turcu, F., Melchior, D., Kling, H. W., Gab, S. und Schmitz, O. J. *Analysis of alkyl polyglucosides in industrial products by capillary electrophoresis with pulsed amperometric detection* Analytical and Bioanalytical Chemistry 384 **2006** 259 - 264

-
182. Jellinek, J. S. *Kosmetologie* **1976**
183. Schrader, K. *Grundlagen und Rezepturen der Kosmetika* **1989**
184. Ghosh, S. und Moulik S.P. *Interfacial and Micellization Behaviors of Binary and Ternary Mixtures of Amphiphiles (Tween-20, Brij-35, and Sodium Dodecyl Sulfate) in Aqueous Medium* J.Colloid Interface Sci. 208 (2) **1998** 357 - 366
185. Akbas, H., Sidim, T. und Iscan, M. *Effect of Polyoxyethylene Chain Length and Electrolyte on the Viscosity of Mixed Micelles* Turk.J.Chem. 27 **2003** 357 - 363
186. de Oliveira, H. P. M. und Gehlen, M. H. *Characterization of mixed micelles of sodium dodecyl sulfate and tetraoxyethylene dodecyl ether in aqueous solution* Langmuir 18 **2002** 3792 - 3796
187. Shiloach, A. und Blankschtein, D. *Measurement and prediction of ionic/nonionic mixed micelle formation and growth* Langmuir 14 **1998** 7166 - 7182
188. Khaledi, M. G. *Micelles as separation media in high-performance liquid chromatography and high-performance capillary electrophoresis: overview and perspective* Journal of Chromatography A 780 **1997** 3 - 40
189. Muijselaar, P. G., Otsuka, K. und Terabe, S. *Micelles as pseudo-stationary phases in micellar electrokinetic chromatography* Journal of Chromatography A 780 **1997** 41 - 61
190. Billian, P. *Chemische Charakterisierung von Alkylpolyglucosiden* **2000**
191. Blau, K. *Handbook of derivatives chromatography* **1993**
192. Blomberg, J. und Brinkman, U. A. T. *Practical and theoretical aspects of designing a flame-ionization detector mass spectrometer Deans' switch - Pressure-flow relations in gas chromatography detector interfaces using vacuum-outlet conditions* Journal of Chromatography A 831 **1999** 257 - 265

-
193. Hail, M. E. und Yost, R. A. *Theoretical and Practical Aspects of Short Open Tubular Columns at Subambient Pressures in Gas-Chromatography Mass-Spectrometry*
Analytical Chemistry 61 **1989** 2402 - 2410
194. Taheri, R. *Analyse polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe und Tenside in komplexer Matrix mittels comprehensiver zweidimensionaler Gaschromatographie*
Dissertation **2006**
195. Nitschke, L. *Wasch- und Reinigungsformulierungen im Wasser* GIT Fachz. 7 **1999**
730 - 731