

Online Monitoring von Mikroreaktorsystemen mit ESI-Massenspektrometrie

Dissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor-Ingenieur (Dr.-Ing.)
der Fakultät für Informatik und Elektrotechnik
der Universität Rostock

vorgelegt von
Dipl. Ing. Anne Fröhlich
Rostock, 27.09.2010

Gutachter:

Prof. Dr.-Ing. habil. K. Thurow, Fakultät für Elektrotechnik und Informatik,
Institut für Automatisierungstechnik, Universität Rostock

Prof. Dr. M. Beller, Leibnitz-Institut für Katalyse e.V., Rostock

Prof. Dr.-Ing. H. Röck, Technische Fakultät, Lehrstuhl für Automatisierungs- und
Regelungstechnik, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Datum der Verteidigung: 15.08.2011

Danksagung

Die vorliegende Dissertation wurde an der Fakultät für Elektrotechnik und Informatik am Institut für Automatisierungstechnik der Universität Rostock unter der Leitung von Frau Prof. Dr.-Ing. habil. K. Thurow angefertigt.

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die mich auf vielfältige Weise bei meiner Arbeit unterstützten. Besonderer Dank geht an alle Mitarbeiter des IAT und von celisca, ohne deren Hilfe und Unterstützung ein Abschluss der Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen wäre.

'Fortschritt ist die Entwicklung des Primitiven über das Komplizierte zum Einfachen.'
[Wernher von Braun]

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	vi
Tabellenverzeichnis	x
Verzeichnis der benutzten Abkürzungen und Formelzeichen	xi
1 Preamble	1
2 Einleitung	2
3 Grundlagen	4
3.1 Batch- und Kontireaktor	4
3.2 Mikroreaktor	5
3.3 Strömungsmechanische Grundlagen	6
3.3.1 Gesetz nach Hagen-Poiseuilles	6
3.3.2 Vermischen von Fluiden	10
3.3.2.1 Konvektion	10
3.3.2.2 Diffusion	13
3.3.2.3 Dispersion	14
3.4 Mischmethoden in Mikroreaktionssystemen	14
3.4.1 Aktive Mischmethoden	14
3.4.2 Passive Mischmethoden	15
3.5 Funktionsweise des ESI-TOF	17
4 Stand der Technik	19
4.1 Analytische Messverfahren zur Reaktionsverfolgung	19
4.1.1 Gas- und Flüssigchromatographie (GC bzw. GLC)	19
4.1.2 Molekülspektroskopie	23
4.1.3 MS - Massenspektrometrie	25

4.1.4	NMR - Kernspinresonanzspektroskopie	25
4.2	Prozesskopplungen - Massenspektrometrie	27
4.2.1	Online-MS-Kopplungen – Gasphase	27
4.2.2	Online-MS-Kopplungen – Flüssigphase	29
4.2.3	Portable Massenspektrometer	30
5	Anforderung und technische Randbedingungen	32
6	Konzeptionierung und Umsetzung der online-MS-Kopplung zur Prozessüberwachung	34
6.1	Reaktor - Mikroreaktionssystem	35
6.1.1	Mikroreaktionssystem von Ehrfeld	35
6.1.1.1	Reaktionsaufbau - Mäanderreaktor	36
6.1.2	Kapillarreaktor	37
6.1.3	Monitoring verschiedener Reaktionsstadien t_s	37
6.1.3.1	Variante 1	39
6.1.3.2	Variante 2	39
6.1.3.3	Variante 3	39
6.1.3.3.1	Fluidelement x	41
6.1.3.3.2	Fluidelement y	42
6.2	Probenentnahme und -vorbereitung	45
6.2.1	Anforderungen an das Probenentnahmesystem	45
6.2.2	Konzept I - “aktive Probenentnahme“	46
6.2.2.1	Ablauf	46
6.2.2.2	Ergebnisse - “aktive Probenentnahme“	47
6.2.3	Konzept II - „kleine Volumina“	52
6.2.3.1	Ablauf	52
6.2.3.2	Ergebnisse - „kleine Volumina“	55
6.2.3.2.1	Druckverluste	55
6.2.3.2.2	Messung	59
6.2.3.2.3	Auswertung	60
6.2.4	Konzept III - „Strömungsphysik“	61
6.2.4.1	Ablauf	62
6.2.4.2	Prinzip des Konzepts	62
6.2.4.3	Ergebnisse - „Strömungsphysik“	66
6.2.5	Ermittlung der Druckverluste	68

6.2.6	Konzept IV - „Multiport-Ventil“	69
6.2.6.1	Aufbau	69
6.2.6.2	Ablauf	72
6.2.6.3	Ergebnisse - „Multiport-Ventil“	73
6.3	Ansteuerung und Softwareimplementierung	74
6.3.1	Steuerung mit LabVision und LabBox	74
6.3.2	Steuerung mit eigener Software	75
6.3.2.1	Kommunikation der Software mit Agilent MassHunter . .	77
6.3.2.2	Softwarebeschreibung	77
6.3.2.2.1	Reaktoreinstellungen	77
6.3.2.2.2	Volumenstromregelung ins ESI-TOF	78
6.3.2.2.3	Dateneingabe für die Akquisition mit MassHunter sowie Messstart	80
6.3.2.2.4	Mitloggen der Daten	82
6.3.2.2.5	Messende	82
6.4	Analyse - TOF Spezifikationen	83
6.5	Datenauswertung	86
7	Validierung des entwickelten Probenentnahmesystems „Multiport-Ventil“	89
7.1	Qualität der Messwerte: Autosampler und ESI-TOF	89
7.1.1	Autosampler - Kalibrierung mit Oktansäure	89
7.1.2	Autosampler - Kalibrierung mit Salicylaldehyd	90
7.1.3	Autosampler - Konstanz der Messung - Trp + ASS, OS	90
7.1.4	Autosampler - Einfluss des Volumenstroms ins ESI-TOF (Q_{TOF}) .	92
7.2	Qualität der Messwerte: „Multiport-Ventil“ und ESI-TOF	94
7.2.1	System „Multiport-Ventil“	94
7.2.1.1	„Multiport-Ventil“ Konfiguration I - Kalibrierung mit Oktansäure	94
7.2.1.2	„Multiport-Ventil“ Konfiguration I - Kalibrierung mit Salicylaldehyd	95
7.2.1.3	„Multiport-Ventil“ Konfiguration I - Tryptophan und NFT	97
7.2.2	Systemanpassung „Multiport-Ventil“	98
7.2.2.1	„Multiport-Ventil“ Konfiguration II - Kalibrierung mit Oktansäure	100

7.2.2.2	„Multiport-Ventil“ Konfiguration II - Tryptophan und NFT	101
7.2.2.3	Vergleich der Ergebnisse vor und nach der Systemkonfiguration (I + II)	102
7.2.2.4	„Multiport-Ventil“ Konfiguration II - Konstanz der Messung - Trp + ASS, OS + 4-MOS	103
7.2.2.5	„Multiport-Ventil“ Konfiguration II - Einfluss der Probenentnahmelänge	104
7.2.2.6	„Multiport-Ventil“ Konfiguration II - Einfluss des Volumenstroms ins ESI-TOF (Q_{TOF})	105
7.2.3	Ergebnisse - „Multiport-Ventil“	107
7.2.3.1	Vergleich Probenentnahmesystem „Multiport-Ventil“ Konfiguration II mit Autosampler	107
7.3	Tryptophanreaktion zur Validierung des Systems „Multiport-Ventils“	110
7.3.1	Reaktion im GC-Vial - Vergleichsmessung	111
7.3.1.1	Messungen am LC/MSD	111
7.3.1.2	Messungen am ESI-TOF	113
7.3.2	Reaktion im 1ml Kapillarreaktor - Messungen mit dem „Multiport-Ventil“ Konfiguration II	115
7.3.2.1	Einstellen des Reaktionsstadiums im 1ml Kapillarreaktor	115
7.3.2.2	Tryptophanreaktion mit (mIS) und ohne internen Standard (oIS)	116
7.3.2.3	Tryptophanreaktion - manuelle Probenentnahme	117
7.3.2.4	Einstellen der Reaktionsstadien entsprechend Variante 1 und 3 - Tryptophanreaktion mIS	118
7.3.2.5	Vergleich Probenentnahme durch „Multiport-Ventil“ und manuelle Probenentnahme	119
7.3.2.6	Abhängigkeit vom Volumenstrom - „Multiport-Ventil Konf. II“ mit Variante 3 der Berechnung der Reaktionsstadien - Tryptophanreaktion mIS	121
7.3.2.7	Mischverhältnisse T-Mischer am Beispiel der Eduktvolumenströme Q_1 und Q_2	123
8	Zusammenfassung	125

9 Ausblick	128
10 Abstract	129
Literaturverzeichnis	131
A Anhang	141

Abbildungsverzeichnis

3.1	Zum Kräftegleichgewicht der laminaren Rohrströmung (nach Quelle Bohl und Elmendorf [2008])	7
3.2	Geschwindigkeits- und Schubspannungsverteilung bei laminarer Rohrströmung (nach Quelle Bohl und Elmendorf [2008])	8
3.3	Verteilung eines Probenpfropfens im laminaren Trägerstrom aus LÄNGE [2000]	10
3.4	Probenverdünnung aufgrund der Konvektion	11
3.5	Konvektion mit axialer (a) und radialer (r) Diffusion im Trägerstrom aus LÄNGE [2000]	13
3.6	Simulationsergebnisse der Strömung und Vermischung von wässrigen Lösungen in T-förmigen Mikromischern (Links: Symmetrische 1:1 Mischung mit $Re = 300$ im Mischkanal, periodische Strömungsablösung mit einer weiteren Umlenkung (N.Kockmann [2007]))	17
3.7	Taylor-Konus	18
4.1	Terme der Van-Deemter-Gleichung	20
4.2	Eddy-Diffusion A	21
4.3	Diffusion B	21
4.4	Stoffaustausch C	22
4.5	Einteilung der Molekülspektroskopie, aus Ansysco [2010]	23
4.6	diskrete Energieniveaus, aus Ansysco [2010]	24
6.1	Reaktorsystem, Kopplung, Analyse	34
6.2	gewählte Module des Ehrfeldsystems	35
6.3	Reaktionsaufbau für die Modellreaktion	36
6.4	zeitlicher Reaktionsverlauf und Aufenthaltsdauer im Reaktor	38
6.5	Reaktionsstadien im kontinuierlichen Reaktor	41
6.6	Aufbau-“aktive Probenentnahme“	46

6.7 berechnete Konvektion aufgrund des Geschwindigkeitsprofils, 500 μ l Probenenschleife	48
6.8 berechneter Konzentrationsverlauf in %, 500 μ l Schleife und TOF-Kapillare	49
6.9 TIC: Probenentnahme ohne 500 μ l Probenschleife	51
6.10 Aufbau - „kleine Volumina“	53
6.11 Pumpenkennlinie, mzl-2905, für Isopropanol	55
6.12 Gegenüberstellung der durch HNPM berechneten Arbeitspunkte (schwarz) und der experimentell ermittelter Drehzahlen (blau) - Konzept „kleine Volumina“	58
6.13 Signal für verschiedene Probenvolumina	59
6.14 Gegenüberstellung der Aufbauten: Konzept I - „aktive Probenentnahme“ und Konzept II - „kleine Volumina“	61
6.15 Aufbau - „Strömungsphysik“	61
6.16 URI	62
6.17 Widerstandsbeiwerte von Abzweigstücken (Quelle: Bohl und Elmendorf [2008])	66
6.18 Druckverluste VICI-Ventil und TOF	69
6.19 Aufbau - „Multiport-Ventil“	70
6.20 Foto Probenentnahmesystem	70
6.21 Foto Probenentnahmesystem - Einblick	71
6.22 Foto Probenentnahmesystem - Anschluss ans TOF	71
6.23 Verdünnen der Probe und tatsächliches Mischverhältnis	73
6.24 Screenshot LabVision, Steuerung Reaktorkreislauf	75
6.25 Screenshot des GUI	76
6.26 Durchfluss-Kalibrierkurve mzl4605	79
6.27 Screenshot MassHunter Acquisition - Ausschnitt	81
6.28 Screenshot der Signalabnahme während des Spülorgangs des Systems „Multiport-Ventil“	82
6.29 Auswertung in Excel	83
6.30 Abtastrate: 1,03 Spektren/sek	84
6.31 Abhängigkeit der Peakhöhe von der Abtastrate	85
6.32 Abtastrate: 5 Spektren/sek	85
6.33 Online-Monitoring mit der Akquisitionsoftware MassHunter	88
7.1 Kalibrierkurve Salicylaldehyd 1-1000ppm und Oktansäure 0,1-1000 μ M . . .	90

7.2	Autosampler, 1000 μ l OS mit IS, Signalstärke height und area	91
7.3	Autosampler, 1000 μ l OS mit IS, height ratio, area ratio	92
7.4	Einfluss des Volumenstroms Q_{TOF} auf die Signalstärke, Autosampler	92
7.5	Einfluss des Volumenstroms Q_{TOF} auf die Signalstärke, Autosampler	93
7.6	Kalibrierkurve von Oktansäure und IS (4-MOS)	95
7.7	+/- ESI Kalibrierung Salicylaldehyd	96
7.8	Salicylaldehyd	97
7.9	Konsistenz: Reaktor Probenentnahme mit „Multiport-Ventil“ Konf. I	98
7.10	Gegenüberstellung der Arbeitspunkte der Pumpen mzl2905 und mzl4605	99
7.11	Kalibrierkurve von Oktansäure und IS (4-MOS), „Multiport-Ventil“ Konf. II	100
7.12	Konsistenz: Reaktor Probenentnahme mit „Multiport-Ventil“ Konf. II, nach Systemkonfiguration	101
7.13	Vergleich der Signale vor und nach der Systemanpassung	102
7.14	minimaler Probenabstand des Probenentnahmesystems	103
7.15	Konsistenz der Messwerte des Systems „Multiport-Ventil“ Konf. II	104
7.16	Überschneidung des Schaltvorgangs des VICI-Ventils mit der Analyse, 1sek und 0,2sek	105
7.17	Einfluss von Q_{TOF} auf die Signalstärke, Reaktor mit automatischer Probenentnahme durch „Multiport-Ventil“ Konf. II vs. Autosampler	106
7.18	Einfluss von Q_{TOF} auf die Signalstärke, Reaktor automatische Probenentnahme „Multiport-Ventil“ Konf. II	107
7.19	Tryptophanreaktion	110
7.20	MSD Signal Reaktionsstadien t_s von 0min bis >1h (overlaid), NFT (IS)	111
7.21	MSD Spektrum Trp, Tryptophanreaktion mit 50 μ l Ac ₂ O bei RT, Reaktionszeit $t_S=0min$	112
7.22	MSD Spektrum NAT, Tryptophanreaktion mit 50 μ l Ac ₂ O, bei RT, Reaktionszeit $t_S=69,4min$	112
7.23	Vergleichsreaktion 1mg Tryptophan + 900 μ l AcOH + x μ l Ac ₂ O in GC-Vials, mS, RT, MSD ESI neg.	113
7.24	Tryptophanreaktion in GC-Vial, mS und oS, RT, ESI-TOF neg.	114
7.25	Reaktionsstadium $t_s=5, 10$ und 40min, 1ml Reaktor, Tryptophan (203), NAT (245)	115
7.26	mit internem Standard (mIS) vs ohne internen Standard (oIS)	116
7.27	manuelle Probenentnahme ins GC-Vial	117

7.28 Vergleich der Probenentnahme entsprechend der Variante 1 und 3, mIS, 500ppm	119
7.29 Vergleich „Multiport-Ventil“ Konf. II vs. manuelle Probenentnahme, NFT	120
7.30 Vergleich „Multiport-Ventil“ Konf. II vs. manuelle Probenentnahme - height ratio	121
7.31 Abhängigkeit der Peakhöhen von 500ppm NFT vom Volumenstrom Q_{TOF} , entsprechend Variante 3 der Berechnung der Reaktionsstadien	122
7.32 Abhängigkeit der Peakhöhen des Produktes NAT vom Volumenstrom ins TOF Q_{TOF} , entsprechend Variante 3 der Berechnung der Reaktionsstadien	123
7.33 Vergleich - Zufuhr unterschiedlicher Eduktströme (autom. Verdünnen) vs. manuell vorverdünnte Probe, NFT	124
A.1 Certificate of Analysis von Agilent Technologies, ESI-Tuning Mix, Seite1 .	143
A.2 Certificate of Analysis von Agilent Technologies, ESI-Tuning Mix, Seite2 .	144
A.3 Certificate of Analysis von Agilent Technologies, ESI-Tuning Mix, Seite3 .	145
A.4 Certificate of Analysis von Agilent Technologies, ESI-Tuning Mix, Seite4 .	146
A.5 Pumpenkennlinie mzs-2942 mit Getriebe für $\eta = 2mPas$	147
A.6 Pumpenkennlinie mzs-2942 für $\eta = 2mPas$	148
A.7 Pumpenkennlinie mzs-2542 mit Getriebe für $\eta = 2,4mPas$	149
A.8 Schaltvorschrift der Ventile	150
A.9 Auszug aus dem von der Software generierten LOGFile	152
A.10 Screenshot Spy++, Fenster Hierarchie der MassHuntersoftware	153
A.11 Reaktionsstadium $t_s=5\text{min}$, 1ml Reaktor, Tryptophan (203), Produkt (245)	155
A.12 Reaktionsstadium $t_s=5\text{min}$, 1ml Reaktor, Tryptophan (203), Produkt (245)	156

Tabellenverzeichnis

4.1	portable Massenspektrometer von verschiedenen Herstellern [09.2010]	31
6.1	Durchflusszeiten $t = \frac{V}{Q}$ der Reaktoren	37
6.2	Reaktionsstadien 11ml Mäanderreaktor	44
6.3	Konzeptergebnisse	52
6.4	TOF-Strecke, Druckverlust und Durchströmdauer in Abh. von der Länge und vom Durchmesser	54
6.5	berechnete Druckverluste der 0,7mm Kapillaren, der TOF-Kapillaren, der 3/2 Wegeventile und der Rohrverengung im Konzept „kleine Volumina“, $\eta=2,3\text{mPas}$ (Isopropanol)	57
6.6	Schaltvorschrift der Ventile und resultierende theoretische Volumenströme in Klammern, 0=zu, 1=auf	64
6.7	Schaltvorschrift der Ventile und resultierende theoretische Volumenströme in Klammern, 0=zu, 1=auf, halbiert	65
6.8	berechnete Druckverluste einer 200mm Kapillare in Abhängigkeit vom Durchmesser und Volumenstrom	65
6.9	experimentell bestimmter Volumenstrom ins TOF	67
6.10	elektrische Spezifikationen	74
6.11	tatsächlicher und eingestellter Volumenstrom ins TOF, sowie Kontrollwert des Durchflussmessers, Fluid: 40/60 ACN/H ₂ O+0,1HCOOH	79
7.1	Zusammenfassung	97
A.1	fluidische Spezifikationen	142
A.2	Zusammenfassung fluidische Spezifikationen - Konzept IV „Multiport-Ventil“	151

Verzeichnis der benutzten Abkürzungen und Formelzeichen

Chemikalien

ACN	Acetonitril
<i>Ac₂O</i>	Essigsäureanhydrid
ACOH	Essigsäure
ASS	Acetylsalicylsäure
<i>H₂O</i>	Wasser
HCOOH	Ameisensäure
LSM	Lösungsmittel
MeOH	Methanol
NAT	N-Acetyl Tryptophan
NFT	N-Formyl DL Tryptophan
Trp	L-Tryptophan
OS	Oktansäure

Abkürzungen

Abh.	Abhängigkeit
EIC	extrahierter Ionenstrom für bestimmtes Masse/Ladungsverhältnis m/z
ESI	ElektroSpray Ionisation
ESI+, ESI-	positiver und negativer ESI Modus
FM	flow meter, Durchflussmesser
GC	gas chromatography
GUI	graphical user interface
HNPM	Fa. HNP Mikrosysteme
HPLC	high performance liquid chromatography, Flüssigchromatographie-Verfahren
HTMS	high throughput mass spectrometry
IS	interner Standard

Konf.	Konfiguration
LC	liquid chromatography
MFC	Microsoft foundation classes
MS	Massenspektrometrie, Massenspektrometer
MSD	Massenspektrometer gekoppelt mit einem Chromatographen wie GC / LC
mIS	mit internem Standard
mS	mit Säule
MV	Mischungsverhältnis
mzr-	Pumpenbezeichnung der HNPM Pumpen
oIS	ohne internen Standard
oS	ohne Säule
P1, P2, P3	Pumpen 1, 2, 3
PosA, PosB	Schaltposition des VICI-Ventils, A- Durchströmen der Schleife durch den Reaktorvolumenstrom, B- durch den TOF Volumenstrom
ppm	parts per million
Q_{TOF}	Volumenstrom ins TOF (0,1-1ml/min begrenzt)
RT	Raumtemperatur 22°C
s	Probenentnahmestelle
t_S	Reaktionsstadium
TIC	Totalionenstrom
TOF	Time Of Flight Massenspektrometer
$V_{Reaktor}$	Reaktionsvolumen des verwendeten Reaktors
V1..V8	3/2-Wegeventile 1 bis 8
VBA	Visual Basic for applications

Formelzeichen

c_0	Konzentration zum Zeitpunkt t=0
c_t	Konzentration zum Zeitpunkt t
C	Integrationskonstante
D	charakteristische Länge
D_v	Durchmesser des VICI-Ventils, auf dem die einzelnen Ports liegen
dp	Druckgradient
d_{Port}	Portdurchmesser des VICI-Ventils
F_p	Druckkraft
F_R	Reibungskraft
l	Rohrlänge
dl	differenziell kleine Rohrlänge
π	Kreiszahl $\pi = 3,14159$
r	zylindrische Koordinate
r_0	Rohrradius
Re	Reynoldszahl
Re_{krit}	Kritische Reynoldszahl, Übergang von laminarer zur turbulenten Strömung
t_{gep}	Dauer [sek] des Pumpvorgangs um V_{gep} zu fördern
t_V	Probenlänge [sek], Dauer von PosA nach PosB und zurück zur PosA bei der Probenentnahme
V_{gep}	gepumptes Volumen
V_{Tot}	Totvolumen des VICI-Ventils bei der Probenentnahme
\bar{w}	mittlere Geschwindigkeit in Strömungsrichtung
w_{max}	maximale Geschwindigkeit in der Rohrmitte
$\frac{\partial c}{\partial x_i}$	partielle Ableitung der Konzentration nach x_i mit i=1,2,3; entspricht den Raumkoordinaten x, y, z
$\frac{\partial T}{\partial x_i}$	partielle Ableitung der Temperatur nach x_i mit i=1,2,3
$\frac{\partial c}{\partial r}$	partielle Ableitung der Konzentration nach r
Δp	Druckdifferenz
Δp_{L07}	Druckverluste der 0,7mm Kapillaren
Δp_{LTOF}	Druckverlust der 0,25mm TOF-Kapillaren
$2 \cdot \Delta p_{Ventil}$	Druckverlust der zwei 3/2-Wegeventile
Δp_{Vereng}	Druckverlust der Rohrverengung
η	kinematische Viskosität [$\frac{m^2}{s}$]
μ	dynamische Viskosität [$\frac{kg}{ms}$]
Φ	Kontraktionszahl
ρ	Dichte [$\frac{g}{cm^3}$]
τ	Schubspannung
ζ	Widerstandsbeiwert
V_U	Fördervolumen der Pumpe je Umdrehung

1 Preamble

This thesis deals with the coupling of micro reaction system to mass spectrometric analysis systems.

Micro reaction technology has emerged as an important tool in chemical research and development. The major advantage of micro scaled reactors is a high surface volume ratio which offers excellent heat transportation. Some reactions such as strong exo- or endothermic ones can only be handled by miniaturisation of the reaction environment. Mixing procedures in designated modules are rapidly performed and lead to well defined reaction mixtures. Furthermore, working with high reactive and dangerous reagents is simplified due to the small and closed construction. To monitor the reactions, online coupling to advanced analysis instruments gains in importance, but is not available for a broad variety of systems. Choosing the modular micro reaction system from Ehrfeld Mikrotechnik BTS gives the possibility to create a wide field of reaction setups, such as mechanistic testing, synthesis of catalysts and medical compounds. Temperatures from minus 80°C up to 200°C, a pressure up to 100bar and a flowrate between a few millilitres and multiple litres per hour, or several tons per year, can be realized. The aimed coupling of the continuous reactor directly to a mass spectrometer offers a real-time monitoring of many different chemical processes. The content of the reactor can be determined at any stadium of the reaction, and makes it possible to have a detailed insight into e.g. the transformation of the pre-catalyst into its active species, product-educt ratio and the appearance of transient intermediates. Optimization at chosen points in the chemical process can be made. With the possibility of sampling without discontinuing the process and MS being a very fast analysing method combined with a special sample preparation, even online optimization of chemical processes is possible.

2 Einleitung

Mikroreaktionstechnik hat sich zu einem wichtigen Werkzeug in der chemischen Forschung und Entwicklung entwickelt. Der große Vorteil von Mikroreaktoren ist ihr hohes Oberflächen/Volumenverhältnis, wodurch Wärme optimal transportiert werden kann. Einige Reaktionen, wie z.B. stark exo- oder endotherme, können überhaupt erst durch Miniaturisierung der Reaktion gehandhabt werden. Mischverfahren in ausgewiesenen Modulen sind schnell durchgeführt und führen zu gut definierten Reaktionsmischungen. Darüber hinaus wird die Arbeit mit hoch reaktiven und gefährlichen Reagenzien aufgrund der kleinen und geschlossenen Bauweise vereinfacht. Zur Überwachung der Reaktionen gewinnt die online-Kopplung an hochentwickelte Analyse-Instrumente an Bedeutung, steht aber bisher für eine breite Palette von Systemen nicht zur Verfügung.

Eine genaue Überwachung von chemischen und biochemischen Reaktionen in geschlossenen Reaktoren ist sowohl für die Untersuchung von Reaktionsmechanismen als auch zur Optimierung der Reaktionsführung wichtig. Dabei sind neben den klassischen physikalischen Parametern wie Druck, Temperatur, Viskosität etc. der Verbrauch der eingesetzten Edukte, die Qualität der Produkte und der Verbrauch an Katalysatoren bzw. Additiven von Interesse.

Die angestrebte Kopplung des kontinuierlichen Reaktors an ein Massenspektrometer bietet eine Echtzeit-Überwachung einer Vielzahl chemischer Prozesse. Der Inhalt des Reaktors kann in jedem Stadium der Reaktion bestimmt werden und macht einen detaillierten Einblick in z.B. die Umwandlung des Pre-Katalysators in seine aktive Form, das Produkt-Edukt-Verhältnis und das Auftreten von transienten Zwischenstufen möglich. Mit der Möglichkeit der Probenentnahme ohne Unterbrechung des Prozesses, und der Massenspektrometrie als einer sehr schnellen Analyse-Methode, kombiniert mit einer speziellen Probenvorbereitung ist auch eine online-Optimierung von chemischen Verfahren möglich.

Der Reaktionsprozess kann durch unterschiedliche Parameter beeinflusst werden. U.a. spielt das Verhältnis der Eduktvolumenströme und deren Verweildauer im Reaktor eine Rolle. Aber auch das Reaktorvolumen sowie die Reaktionstemperatur sind wichtige

Parameter. Durch das Monitoring des Verbrauchs der eingesetzten Edukte sowie der Entstehung des Produktes zu verschiedenen Reaktionsstadien der Reaktion kann der Reaktionsprozess optimiert werden. Denkbarer Einsatz ist z.B. die Untersuchung von reaktiven Zwischenstufen in Lösung oder die Prozessüberwachung zur Präformierung von Katalysatoren.

Die Probenentnahme aus dem kontinuierlichen 'output' des Reaktors und deren Aufbereitung sowie der Transport zum ESI-TOF sollen durch die zu entwickelnde Kopplung erfolgen. In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Konzepte entwickelt und auf Funktion überprüft. Die Validierung des Systems erfolgte anhand der Synthese von N-Acetyl-Tryptophan. Die Kommunikation mit der Gerätesoftware des Analysengerätes ist Teil der entwickelten Software.

3 Grundlagen

3.1 Batch- und Kontireaktor

Grundlegend gibt es zwei Reaktortypen, den Batch- und den kontinuierlichen Reaktor. Im diskontinuierlichen Betrieb (Batch-Reaktor) werden die Edukte, Katalysatoren und gegebenenfalls notwendige Lösungsmittel im Reaktor vorgelegt. Die Reaktion beginnt und läuft unter Aufbringen von Druck durch Reaktionsgase und Temperatur ab. Nach dem Ende der Reaktion werden dem Reaktor das Produkt und verbliebene Edukte entnommen, der Reaktor gesäubert und erneut eingesetzt. Der Batch-Reaktor ist räumlich stationär, aber zeitlich instationär, d.h. zu einem diskreten Zeitpunkt liegt im Batch-Reaktor an jedem Punkt die exakt gleiche Konzentration $\frac{\partial c}{\partial x_i} = 0$ und Temperatur $\frac{\partial T}{\partial x_i} = 0$ vor. Diese Bedingungen gelten für einen idealen Reaktor wobei eine vollständige und augenblickliche Vermischung stattfindet.

Der Kontireaktor läuft im Durchflussbetrieb. Es werden an einer Stelle kontinuierlich Edukte zugeführt und an einer anderen wird das Produkt kontinuierlich entnommen. Ist das Gleichgewicht zwischen Edukt- und Produktfluss, der so genannte steady-state, erreicht, ist die Konzentration des Reaktorinhalts nicht nur räumlich sondern auch zeitlich konstant. Im idealen Kontireaktor gibt es keine Konzentrationsgradienten in radialer Richtung, $\frac{\partial c}{\partial r} = 0$.

Im Vergleich zu Standardreaktoren werden in Mikroreaktoren teilweise bessere Syntheseergebnisse erzielt. Worin liegt das begründet?

Damit eine chemische Reaktion optimal ablaufen kann, müssen in einem Reaktor verschiedene Voraussetzungen erfüllt sein. Eine annähernd ideale Durchmischung der Edukte muss realisiert sein. Dies ist verbunden mit einer großen Phasengrenzfläche bei mehrphasigen Reaktionen (z.B. gas-flüssig-fest oder flüssig-flüssig). Im Anschluss muss genügend Verweilstrecke für die benötigte Reaktionszeit im Reaktor gewährleistet werden. Die dabei u.U. freigesetzte Reaktionswärme muss effektiv abgeführt, bei endothermen Reaktionen zugeführt werden.

Mikroreaktoren besitzen mit $1 \cdot 10^4$ bis $5 \cdot 10^4 \frac{m^2}{m^3}$ ein deutlich größeres Oberflächen/Volumen-Verhältnis im Vergleich zu Standardreaktoren von mit $1 - 10 \frac{m^2}{m^3}$. Neu entwickelte Nano-reaktoren besitzen ein Oberflächen/Volumen-Verhältnis von $5 \cdot 10^6$ bis $2 \cdot 10^7 \frac{m^2}{m^3}$ (Popp und Schneider [2008]). Die Ab- und Zufuhr von Reaktionsenergie ist bei Mikroreaktoren weitaus günstiger.

Mikromischer zeigen für Flüssigkeiten Mischzeiten im Bereich von $1s$ bis $1ms$, die deutlich unter denen konventioneller Mischer liegen. Daraus resultiert ein intensiverer Stofftransport, wodurch es zu einer deutlichen Verringerung der Reaktionszeit bei Zunahme der Ausbeute über dem Reaktionsweg bzw.- volumen kommt.

3.2 Mikroreaktor

Der Begriff Mikrofluidik bezieht sich auf Strömungen mit typischen Längenskalen unter einem Millimeter. Mikrofluidik hat sich in den Bereichen der (Bio)-Chemie und Life Science als eine gute Alternative zu den konventionellen Laborausstattungen etabliert, und zwar aufgrund ihres geringen Substanzverbrauchs, niedrigerer Zeit- und Kostenintensivität sowie des hohen Durchsatzvermögens (Watts und Wiles [2007], Wiles und Watts [2008], Janasek et al. [2006]).

In diesem Projekt sollen kontinuierlich betriebene Reaktoren Verwendung finden, welche mit einem Fassungsvermögen von wenigen Millilitern zu den Mikroreaktoren gehören. Neben dem Vorteil, dass durch das kleine Reaktionsvolumen der Edukteinsatz sehr gering ist, haben große Reaktoren den Nachteil, dass wegen ihrer Größe spezielle Sicherungen (z.B. Sicherungsventile, mess- und Regelungstechnische Maßnahmen, vgl. Christ und Westphal [2009]) und Anschlüsse (Heizung, Druckluft etc.) notwendig werden. Deshalb sind sie fest in einem Raum installiert, der den erweiterten, notwendigen Sicherheitsvorschriften entspricht. Um sie an einen Analysator, z.B. an ein Massenspektrometer anschließen zu können, muss dieses in näherer Umgebung installiert sein. Dies ist häufig nicht realisierbar. Ein Mikroreaktor hat den Vorteil, dass man ihn zu dem benötigten Analysator transportieren kann, notfalls außer Haus. Da das Reaktionsvolumen im Mikroreaktor sehr gering ist, wird keine Sicherung im herkömmlichen Sinn benötigt. Durch den großen spezifischen Wärmeaustausch kann das thermische Durchgehen der Reaktionen in Mikroreaktoren verhindert werden. Aufgrund der kleinen Abmessungen wird die Ausbreitung von Explosionen unterdrückt. Gaadde et al. [2009] beschreibt die sicherheitstechnischen Aspekte der Mikroverfahrenstechnik. Weiterhin fallen das Heiz- und das Drucksystem kleiner aus oder sind integriert. Diese Eigenschaften machen den Mikroreaktor zu einem

ortsungebundenen Reaktor. Geyer et al. [2006] betiteln den Mikroreaktor, ein Werkzeug für chemische Synthese, als den „Reaktionskolben des 21ten Jahrhunderts“. Er ermöglicht, neben dem High-Throughput-Screening eine exakte Kontrolle von Reaktionsparametern bei geringem Substanzverbrauch, sowie die Möglichkeit eines Upscalings des Produktionsprozesses mit erhöhter Sicherheit. Geyer et al. [2008] demonstrieren anhand einer Auswahl von grundlegenden organischen Reaktionen die erfolgreiche Anwendung von mikrostrukturierten Bauteilen in der organischen Chemie. Kiwi-Minsker und Renken [2005] legen die Vorteile der Nutzung eines Mikroreaktorsystems für katalytische Reaktionen dar. Sie gehen dabei auf Gasphasen-, Flüssigphasen- und Gas-Festphasen-Reaktionen ein. Die Abmessungen im Mikroskalenbereich bringen eine Verschiebung zu kleinen Reynoldszahlen mit sich. Die Strömungsmechanik im Mikroskalenbereich unterscheidet sich von der im Makrobereich. Brody et al. [1996] zeigen auf, wie sich dies im Design von mikrofluidischen Bauteilen widerspiegeln kann und erläutern eigene Beispiele für biologische Prozesse.

3.3 Strömungsmechanische Grundlagen

3.3.1 Gesetz nach Hagen-Poiseuilles

Fließt durch eine Kapillare ein Fluid unterliegt dieses bestimmten Gesetzmäßigkeiten. Der Volumenstrom in der Kapillare ist abhängig von dem ihm entgegengesetzten Widerstand und Druckverlust. Diesen Zusammenhang verdeutlicht das im nun folgenden hergeleitete Gesetzes nach Hagen-Poiseuilles.

Für den Zusammenhang zwischen der dynamischen ν und kinematischen η Viskosität eines Fluides, der inneren Reibung, gilt

$$\eta = \rho\nu \quad (3.1)$$

mit ρ als charakteristischer Dichte des Fluides.

Die Reynoldszahl ergibt mit Gl. 3.1 den folgenden Zusammenhang:

$$Re = \frac{\text{Trägheitskräfte}}{\text{Reibungskräfte}} = \frac{\bar{v}D}{\nu} = \frac{\bar{v}\rho}{\eta}D \quad (3.2)$$

mit \bar{v} - mittlere Geschwindigkeit und D - charakteristische Länge je nach Anwendungsfall.

Die Übergang von laminarer zu turbulenter Strömung ist durch $Re_{krit} = 2320$ charakterisiert.

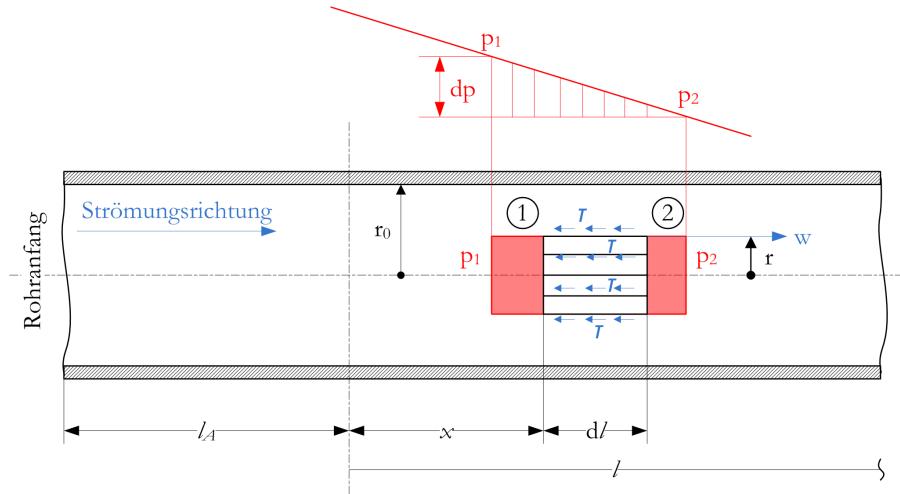


Abbildung 3.1: Zum Kräftegleichgewicht der laminaren Rohrströmung (nach Quelle Bohl und Elmendorf [2008])

An einem zylinderförmigen Fluidelement eines fertig ausgebildeten Strömungsprofils mit dem Radius r_0 und der Länge dl wird das Kräftegleichgewicht für eine stationäre Strömung wie folgt formuliert (vgl. Abbildung 3.1):

$$\underbrace{F_p}_{\text{Druckkraft}} = \underbrace{F_R}_{\text{Reibungskraft}} \quad (3.3)$$

Die Druckkraft über der Länge des Fluidelementes ist eine Funktion aus der Druckdifferenz zu Beginn und am Ende des Elementes und der Fläche, auf der sie wirkt.

$$F_p = dp\pi r_0^2 \quad (3.4)$$

Die Reibungskraft ergibt sich aus der Schubspannung τ , welche der Strömung entgegenwirkt und der Zylindermantelfläche.

$$F_R = \tau dA = \tau \underbrace{2\pi r dl}_{\text{Mantelfläche}} \quad (3.5)$$

Nach Gleichsetzen der Gleichungen Gl.3.4 und Gl.3.5 und dem Einsetzen des Newtonschen Schubspannungsansatzes $\tau = -\eta \frac{dw}{dr}$ folgt:

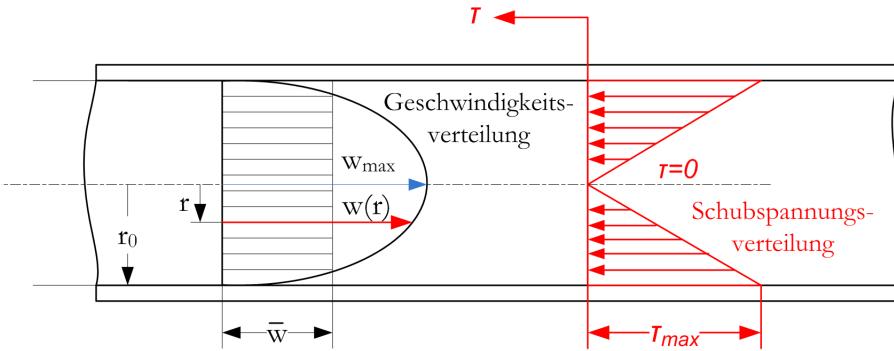


Abbildung 3.2: Geschwindigkeits- und Schubspannungsverteilung bei laminarer Rohrströmung (nach Quelle Bohl und Elmendorf [2008])

$$\frac{dw}{dr} = -\frac{1}{2\eta} \frac{dp}{dl} r \quad (3.6)$$

Durch Integration ergibt sich eine Beziehung für das Geschwindigkeitsprofil über dem Radius r , also die Geschwindigkeit als Funktion des Radius $w=f(r)$:

$$dw = -\frac{1}{2\eta} \frac{dp}{dl} r dr \quad (3.7)$$

$$w = \int -\frac{1}{2\eta} \frac{dp}{dl} r dr \quad (3.8)$$

Durch Einsetzen der Randbedingung $w(r = r_0) = 0$ in die integrierte Gleichung

$$w = -\frac{1}{2\eta} \frac{dp}{dl} \frac{1}{2} r^2 + C \quad (3.9)$$

erhalten wir das Stokes'sche Gesetz (Gl. 3.10).

$$w = \frac{1}{4\eta} \frac{dp}{dl} (r_0^2 - r^2) \quad (3.10)$$

Die Geschwindigkeit nimmt an der Stelle $r=0$ ihren maximalen Wert an und kann mit

$$w_{max} = \frac{1}{4\eta} \frac{dp}{dl} r_0^2 = konstant \quad (3.11)$$

wie folgt ausgedrückt werden:

$$w = w_{max} * \left[1 - \left(\frac{r}{r_0}\right)^2\right] \quad (3.12)$$

Aus der Integration der Geschwindigkeit über den Strömungsquerschnitt folgt der Volumenstrom

$$\frac{dV}{dt} = \underbrace{Q = \bar{w}A}_{\text{Kontinuitätsgesetz}} = \bar{w}\pi r_0^2 = 2\pi \int_0^{r_0} wrdr \quad (3.13)$$

woraus sich nach Lösung des Integrals für die mittlere Geschwindigkeit

$$\bar{w} = \frac{w_{max}}{2}$$

ergibt.

Mit Hilfe dieser Gleichung lässt sich nun der Volumenstrom Q bestimmen, wobei anstelle der differenziellen kurzen Rohrstrecke dl die gesamte Rohrstrecke l betrachtet wird.

$$Q = \frac{\pi}{8\eta l} r_0^4 (p_1 - p_2) \quad (3.14)$$

Diese Gleichung 3.14 besagt, dass für eine laminare Strömung in einem kreiszylindrischen Rohr der Volumenstrom Q proportional zum Druckverlust $p_1 - p_2$ auf der Rohrlänge l , zur 4ten Potenz des Rohrradius r_0 umgekehrt proportional zur Länge l sowie zur dynamischen Viskosität η des Fluides ist. Dieses Strömungsgesetz ist das Gesetz von Hagen-Poiseuilles.

Durch Umstellen von 3.14 und Einarbeiten von Gl. 3.1 und dem Widerstandsbeiwert für laminare Rohrströmung $\lambda = \frac{64}{Re}$ ergibt sich der allgemeine Zusammenhang für den Druckverlust:

$$dp = \zeta \frac{\rho}{2} \bar{v}^2 \quad (3.15)$$

mit $\zeta = \lambda \frac{l}{d}$ für laminare Rohrströmung mit einem runden Rohrquerschnitt, wobei für ζ auch andere Widerstandsbeiwerte, z.B. für Verluste durch Ventile, eingesetzt werden können.

3.3.2 Vermischen von Fluiden

Ein wichtiges Grundelement vieler mikrofluidischer Aufgabenstellungen ist das Vermischen von Fluiden. Das Mischen von Fluiden in mikrofluidischen Bauteilen birgt Schwierigkeiten, da Strömungen in solch kleinen Abmessungen meist laminarer Natur sind. Turbulenzen treten nicht auf und nur die Konvektion und die Diffusion zwischen zwei Fluiden bleibt.

3.3.2.1 Konvektion

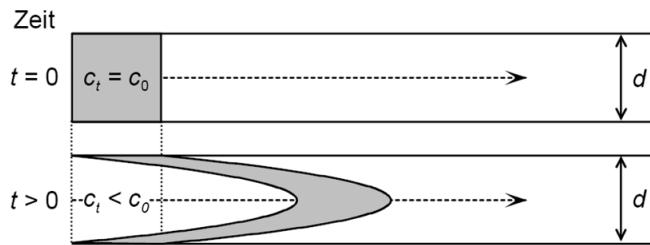


Abbildung 3.3: Verteilung eines Probenpropfens im laminaren Trägerstrom aus LÄNGE [2000]

Die Konvektion ist die Verteilung der Probe einzig durch die Fließbewegung des Trägerstroms.

In Abbildung 3.3 ist die axialsymmetrische Verteilung der Probe aufgrund des parabolischen Geschwindigkeitsprofils innerhalb einer Kapillaren dargestellt. Zum Zeitpunkt $t=0$ ist der Probenpropfen als Zylinder dargestellt. Innerhalb weniger Millisekunden nach der Injektion verteilt sich die Probe entlang des parabolischen Profils aufgrund der unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten über dem Kapillarquerschnitt (vgl. Gleichung 3.12).

Die Verdünnung der Probe aufgrund von Konvektion kann berechnet werden. Es wird angenommen, dass am Anfang der Kapillaren zum Zeitpunkt $t=0$ die Probe in einem Zylinder mit einem Volumen V_{Prob} vorliegt (vgl. Abb. 3.4). Nach einer Zeit t hat sich der vordere Rand der Probe bei einem Volumenstrom Q um $s_1(t)$ in der Kapillaren mit dem Querschnitt A fortbewegt. Es hat sich aufgrund des vorliegenden Geschwindigkeitsprofils nach Stokes (vgl. Gl. 3.10) ein Probenparaboloid ausgebildet. Der hintere Rand der Probe s_2 formt sich gleichermaßen. Dieser Ansatz gilt näherungsweise, wenn beide Fluide etwa

die gleiche Viskosität besitzen.

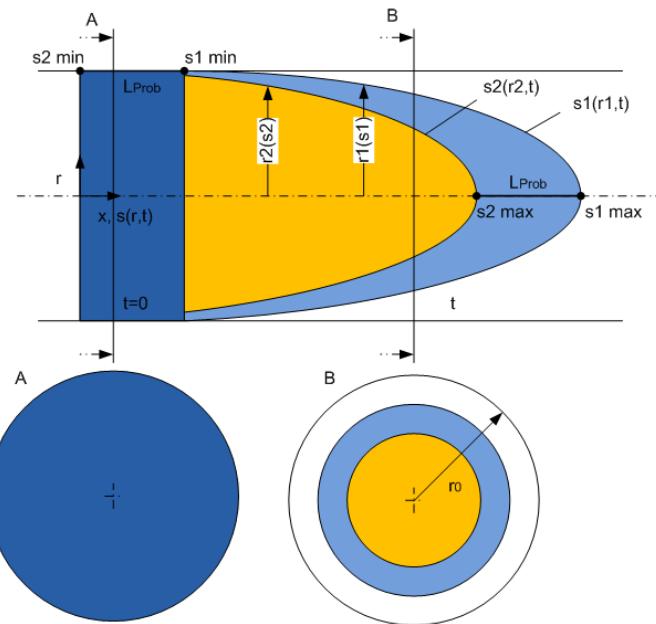


Abbildung 3.4: Probenverdünnung aufgrund der Konvektion

Das Volumen eines Paraboloiden ergibt sich aus der Rotation der Funktion $r(x)$ um die x Achse in dem Bereich von s_{min} bis s_{max} .

$$V_{Paraboloid} = \pi \int_{s_{min}}^{s_{max}} (r(x))^2 dx \quad (3.16)$$

Zieht man vom Volumen des vorderen Paraboloiden s_1 das Volumen des hinteren ab, erhalten wir das Probenvolumen, welches mit dem Ausgangsvolumen übereinstimmt.

Betrachten wir in Abbildung 3.4 den Probenstrom am Querschnitt A, füllt die Probe (blau) den gesamten Querschnitt aus. Die Konzentration der Probe $c = \frac{V_{ProbeA}}{V_{Kapillare}}$ mit $dx \rightarrow 0$ beträgt 1, bzw. 100%. Am Querschnitt B durchdringen sich die Volumina des Proben- und des LSM-Paraboloiden. Der äußere Ring und der innere Kreis sind Lösungsmittel, der dazwischen (blau) ist unsere Probe. Hier beträgt die Konzentration $c = \frac{V_{ProbeB}}{V_{Kapillare}}$.

Das Gesetz nach Hagen Poiseuilles (Gl. 3.14) beschreibt den Zusammenhang zwischen dem Druckverlust und dem Volumenstrom in Abhängigkeit von der Kapillargeometrie

und von der Viskosität. Die Stokes'sche Gleichung (Gl. 3.10) zeigt die Verteilung der Geschwindigkeit in der Kapillaren abhängig vom Radius. Setzt man das Gesetz nach Hagen-Poiseuilles in die Stokes'sche Gleichung ein, ergibt sich für die Geschwindigkeitsverteilung $v(r)$ über dem Radius r , wobei Q der Durchfluss und A der durchströmte Querschnitt ist:

$$v(r) = \frac{2Q}{A} \frac{r_0^2 - r^2}{r_0^2} \quad (3.17)$$

Unter Voraussetzung einer konstanten Fließgeschwindigkeit folgt mit $v = \frac{s}{t}$:

$$s(r,t) = \frac{2Q}{A} \frac{r_0^2 - r^2}{r_0^2} \cdot t = s_2(r,t) \quad (3.18)$$

Die 1te Phasengrenze s_1 ergibt sich durch Addition der Länge der Probe l_{Prob} in der Kapillaren.

$$s_1(r,t) = \frac{2Q}{A} \frac{r_0^2 - r^2}{r_0^2} \cdot t + \underbrace{\frac{V_{Prob}}{\pi r_0^2}}_{l_{Prob}} \quad (3.19)$$

Beide Gleichungen werden nach r umgestellt.

$$r_2(s_2, t) = r_0 \cdot \sqrt{1 - \frac{s_2 A}{2Qt}} \quad (3.20)$$

$$r_1(s_1, t) = r_0 \cdot \sqrt{1 + \frac{A}{2Qt} \left(\frac{V_{Prob}}{A} - s_1 \right)} \quad (3.21)$$

Da die Messung der Probe an einer konstanten Probennahmestelle stattfindet, muss der Konzentrationsverlauf $c(t)$ bestimmt werden. Da wir die durch die Schleife verursachte Verdünnung der Probe ermitteln wollen, wird der Konzentrationsverlauf $c(t)$ am Ende der Schleife $l_{Schleife}$ berechnet. Dazu wird in den Gleichungen 3.21 und 3.20 für s_1 und s_2 die Konstante $l_{Schleife}$ eingesetzt.

$$r_1(t) = r_0 \cdot \sqrt{1 + \frac{A}{2Qt} \left(\frac{V_{Prob}}{A} - l_{Schleife} \right)} \quad (3.22)$$

$$r_2(t) = r_0 \cdot \sqrt{1 - \frac{Al_{Schleife}}{2Qt}} \quad (3.23)$$

Die Konzentration berechnet sich aus dem Verhältnis des Probenvolumens zum Kapil-

larvolumen.

$$c = \frac{V_{Probe}}{V_{Kapillare}} = \frac{A_{Probe} \cdot dx}{A_{Kapillare} \cdot dx} \quad (3.24)$$

Aufgrund der Rotationssymmetrie ist dieses Verhältnis gleich dem Verhältnis der Flächen. Somit berechnet sich die Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit t wie folgt:

$$c(t) = \frac{\pi r_1(t)^2 - \pi r_2(t)^2}{\pi r_0^2} \quad (3.25)$$

$$c(t) = \sqrt{\frac{V_{Prob}}{2\pi r_0^4 l_{Schleife}}} \quad (3.26)$$

3.3.2.2 Diffusion

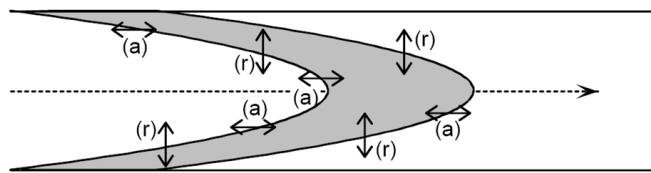


Abbildung 3.5: Konvektion mit axialem (a) und radialem (r) Diffusion im Trägerstrom aus LÄNGE [2000]

Die Diffusion findet aufgrund eines Konzentrationsgradienten statt. Unterschieden wird zwischen axialer und radialem Diffusion (vgl. Abb.3.5). Die axiale Diffusion in Fließrichtung ist vernachlässigbar, da bereits kleine Probenvolumen sich über eine vergleichsweise große Kapillarlänge erstrecken. Eine $5\mu\text{l}$ Probe in einer $0,5\text{mm}$ Kapillaren nimmt bereits eine Länge von knapp 25mm ein.

Die radiale Diffusion, d.h. die Diffusion quer zur Fließrichtung, bewirkt das eigentliche Vermischen. Dabei werden die Probenmoleküle aus dem schneller fließenden Zentrum in die langsameren Randschichten und umgekehrt bewegt. Das 1. Ficksche Gesetz beschreibt die Diffusion im laminaren Fluss:

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad (3.27)$$

Wobei die Teilchenstromdichte J [$\frac{\text{mol}}{\text{m}^2 \cdot \text{s}}$] proportional zum Konzentrationsgradienten $\partial c / \partial x$ [$\frac{\text{mol}}{\text{m}^4}$] entgegen der Diffusionsrichtung ist. Die Proportionalitätskonstante ist der Diffusionskoeffizient D [$\frac{\text{m}^2}{\text{s}}$]. Ist der Konzentrationsgradient konstant, hängt die Geschwindigkeit der Diffusion allein vom Diffusionskoeffizienten ab. Je kleiner D desto schneller

können die Teilchen diffundieren. Methoden zur Bestimmung von Diffusionskoeffizienten sind in Kohlrausch [1996] zusammengefasst.

3.3.2.3 Dispersion

Aufgrund der Wechselwirkung zwischen Konvektion und Diffusion kommt es zu zahllosen Neupositionierungen der Fluidelemente. Die Verteilung oder das Vermischen der Probe wird als Dispersion bezeichnet. Die axiale Dispersion wird nahezu ausschließlich durch die Konvektion verursacht, die axiale Diffusion kann vernachlässigt werden (vgl. Abschnitt 3.3.2.1 und 3.3.2.2). Durch Konvektion alleine kommt es jedoch nicht zur Vermischung, die einzelnen Schichten laufen lediglich entlang der Stromlinien nebeneinander her. Stromlinien sind Kurven, deren Richtung an jeder Stelle der Geschwindigkeitsrichtung der Flüssigkeit entspricht.

Wichtiger ist somit die Dispersion in radialer Richtung, weg von der Stromlinie. Sie kann durch radiale Diffusion (vgl. Abschnitt 3.3.2.2) und/oder durch die Einbringung von Turbulenzen beeinflusst werden, welche im nun folgenden Kapitel näher beschrieben sind.

3.4 Mischmethoden in Mikroreaktionssystemen

Mikromischen kann durch verschiedene Ansätze erreicht werden. Hessel et al. [2005] und Wu und Nguyen [2005] geben einen allgemeinen Überblick.

3.4.1 Aktive Mischmethoden

Aktives Mischen nutzt äußere Energiequellen, um durch z.B. externe Druckgradienten (Dodge et al. [2004]), elektrokinetische Instabilität (Oddy et al. [2001], Sundaram und Tafti [2004]) oder elektroosmotisch getriebene Strömung (Johnson et al. [2002], Lin et al. [2005]) zu verursachen und ein Vermischen zu erzeugen. Kim et al. [2009] entwickelten unter Ausnutzung des elektroosmotischen Effekts ein mikrofluidisches Bauteil, welches simultan mischt und pumpt. Er zeigt experimentelle und numerische Studien über die Abhängigkeit von planar asymmetrischen Mikroelektroden. Eine Studie eines neuartigen Mikromischers mit chaotischem Fluss, welcher die Lorentzkraft zwischen bewegten elektrischen Ladungen in einem magnetischen Feld ausnutzt, führt Lee et al. [2009] an.

3.4.2 Passive Mischmethoden

Das passive Mikromischen basiert hauptsächlich auf geometrischen Effekten oder Oberflächeneffekten (Hardt et al. [2005]). Allgemein besteht dieser Vorgang aus zwei Teilprozessen, und zwar der Vergrößerung der Grenzschicht zwischen den Fluiden und dem Abschluss des Mischvorgangs durch Stoffdiffusion auf molekularer Längenskala (Meisel [2004]).

Zu den passiven Mischern gehört u.a. der Multilamellenmischer (Kamholz et al. [1999]). Parallel Schicht- oder Lamellenmischer basieren auf dem Herabsetzen des Diffusionsabstandes von Molekülen durch Trennen der Ströme in n Teilströme, um sie dann wieder zusammenzuführen als einen Strom mit sich abwechselnden Teilschichten der zu mischenden Komponenten (Hardt et al. [2006]). Erbacher et al. [1999] erreichen mit diesem Prinzip ein vollständiges Mischen nach einigen Sekunden in einem Kanal mit einer Breite von $600\mu m$. Andere Methoden des passiven Mischens sind die chaotische Strömungsgestaltung (Stroock et al. [2002]), das Prinzip der Strömungsrezirkulationen (Mengeaud et al. [2002]) oder die chaotische Advektion, das Erzeugen von Verwirbelungen durch Änderungen der Strömungsrichtung (Song et al. [2006]). Liu et al. [2000] beschreiben das passive Mischen in einem dreidimensional gewundenen („C-shaped“) Mikrokanal (Implementation chaotischer Advektion). Eine andere Methode ist das so genannte geometrische oder hydrodynamische Fokussieren. Dabei wird der Strömungsquerschnitt stromabwärts verengt. Hardt und Schonfeld [2003] entwickelten zwei experimentelle Techniken und wenden sie auf vier verschiedene Mischer-Designs an, mit den Bezeichnungen: rechteckig, dreieckig, „slit-shaped“ und SuperFocus Mischer. Mittels CFD und halbanalytischer Berechnungsmethoden bestimmen sie das Strömungsverhalten und die Eigenschaften der Mikromischer. Ein Vermischen wird nach 10 Millisekunden erreicht. Hessel et al. [2003] liefern die experimentellen Ergebnisse dazu.

In einem Sandwich-Mischer, welcher mit zwei zu mischenden Lösungen gefüttert wird, ist die zentrale laminare Strömung umgeben von zwei äußeren Strömungsschichten. Abonnenc et al. [2009] fanden heraus, dass der Reaktoroutput am Ende des Sandwich-Mischers sich um 60% erhöht hat, wenn die Lösung mit dem kleineren Diffusionskoeffizienten sich in der äußeren Strömungsschicht befand. Dort ist die Geschwindigkeit der Strömung klein, verglichen mit der zentralen Strömungsgeschwindigkeit. Ein noch höherer Anstieg von 300% wird erreicht durch Herabsetzen der äußeren Durchflussrate und gleichzeitiges Erhöhen der lokalen Konzentration, um das Flussverhältnis beizubehalten.

Cieslicki und Piechna [2009] beschäftigen sich mit dem Mischen in Strömungsverzwei-

gungen, welche die Eigenschaften des biologischen Gefäßsystems (biomimetrisch) nachahmen. Basierend auf Murray, der eine Beziehung zwischen dem Durchmesser der aufeinanderfolgenden Abzweige in Gefäßsystemen und unter Einhaltung des Prinzips der minimalen Arbeit ihr optimales Verhältnis fand. Der Widerstand der Strömung erreicht ein Minimum, wenn die dritte Potenz des Durchmessers des Gefäßes gleich der Summe der dritten Potenzen der Durchmesser der danach durchflossenen Gefäße ist (third power law (Hess [1914]/Murray)). In biologischen Gefäßsystemen sind die Gefäße zirkular. Industriell hergestellte Verzweigungen sind rechteckig oder trapezförmig mit einer konstanten Breite durch das gesamte Bauteil, aufgrund des verwendeten Herstellungsprozesses, wie z.B. Photolithographie, „wet dry edging“ oder Oberflächenmikrobearbeitung. Cieslicki und Piechna [2009] erbringen umfangreiche numerische Studien über das Mischen in solchen Geometrien unter Berücksichtigung der biomimetrischen Gesetze bei der Fertigung. Weiterhin geben sie eine analytische Schätzung über die Abhängigkeit des Mischkoeffizienten von der Anzahl der Mischgenerationen und der Reynoldszahl. Der Fokus sitzt auf Strömungen mit einer Reynoldszahl <1 . Das Ziel ist die Entwicklung eines Mixers, welcher fast perfektes Mischen ermöglicht, unabhängig von der Reynoldszahl bei so wenig wie möglich Mischgenerationen. Emerson et al. [2006] entwickelte ebenfalls Strömungsverzweigungen mit biomimetischem Design basierend auf dem Gesetz von Murray unter Beachtung des Prinzips der minimalen Arbeit.

T-Mischer

T-Mischer sind häufig ein Werkzeug für Messungen von Diffusionskonstanten und eine Plattform für chemische Assays. Anhand von instationären Strömungen simuliert N.Kockmann [2007] das Vermischen zweier Fluide in Mikroreaktoren. Er führt Berechnungen des Mischverhaltens im T-Stück an und darüber hinaus in gewundenen Kapillaren. Abb. 3.6 zeigt das Strömen und Vermischen wässriger Lösungen in einem T-Mischer. Der Mischkanal hat eine Höhe $300\mu m$ und Breite von $600\mu m$.

Numerische und experimentelle Untersuchungen in Mikromischern von Engler et al. [2004] zeigen, dass vermehrt Verwirbelungen in T-Mischern mit rechteckigem Strömungsquerschnitt auftreten, sogar bei niedrigen Reynoldszahlen, und dass dieser Effekt genutzt werden kann, um die Qualität des Mikromischens zu verbessern. Yang et al. [2007] charakterisiert T-Mischer mit verschiedenen Konfigurationen und Einlasswinkeln.

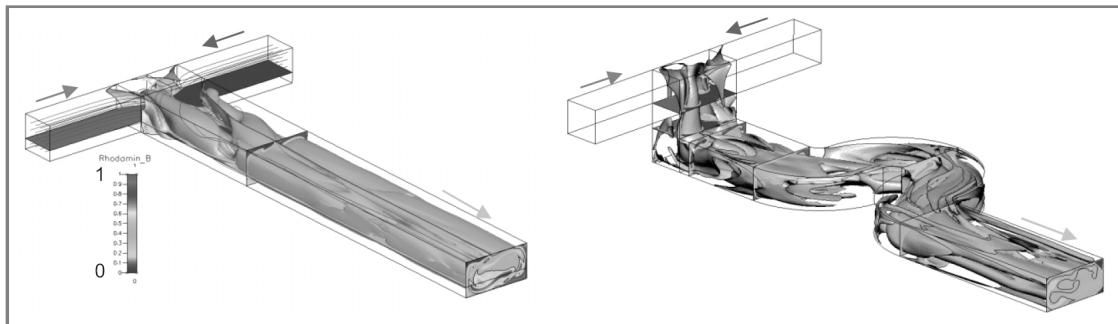


Abbildung 3.6: Simulationsergebnisse der Strömung und Vermischung von wässrigen Lösungen in T-förmigen Mikromischern (Links: Symmetrische 1:1 Mischung mit $Re = 300$ im Mischkanal, periodische Strömungsablösung mit einer weiteren Umlenkung (N.Kockmann [2007]))

3.5 Funktionsweise des ESI-TOF

Die Analyse der gezogenen Probe soll mittels hochauflösender Massenspektrometrie durchgeführt werden und zwar am ESI-TOF Massenspektrometer der Firma Agilent. Im Folgenden wird das Prinzip dieser Methode beschrieben.

Der Begriff der Elektro-Spray-Ionisation (ESI) basiert auf der Arbeit von Dole et al. [1968] und wurde letztlich durch Fenn und Yamashita [1984] etabliert.

Die Funktion eines ESI-TOF (**e**lectro-spray **i**onisation - **t**ime **o**f **flight) lässt sich in drei Bereiche unterteilen. Im ersten wird die Probe ionisiert.**

Die Analytlösung wird durch eine dünne Kapillare (ca. $0,1\text{mm}$ Ø) in die ESI-Quelle geleitet und versprührt. Zwischen der Kapillarspitze und der Gegenelektrode liegt ein starkes elektrisches Feld mit einer Feldstärke von $0,3\text{-}6\text{kV}$ an. Ursache für die Bildung eines Flüssigkeit konus ist die Anreicherung von positiver Ladung auf der Flüssigkeitsoberfläche, da die Kationen zum negativen Pol gezogen werden (Taylor cone, vgl. Abb. 3.7).

Ab einer bestimmten Distanz zum Kapillarenden destabilisiert sich das System und es bilden sich kleine geladenen Tropfen (Primärtropfen) aus dem Elektrolyten. Unter Atmosphärendruck wird das Lösungsmittel verdampft, so dass sich die Tropfengröße verringert und die Ladungsdichte an der Tropfenoberfläche zunimmt. Wird das Rayleigh-Limit erreicht, d.h. das die elektrostatische Abstoßung der Teilchen größer ist als die Oberflächenspannung, kommt es aufgrund der Coulombschen Abstoßungskräfte zu einem fortlaufenden Zerfall der Tröpfchen in immer kleinere Tröpfchen (Coulomb Explosion). Diese

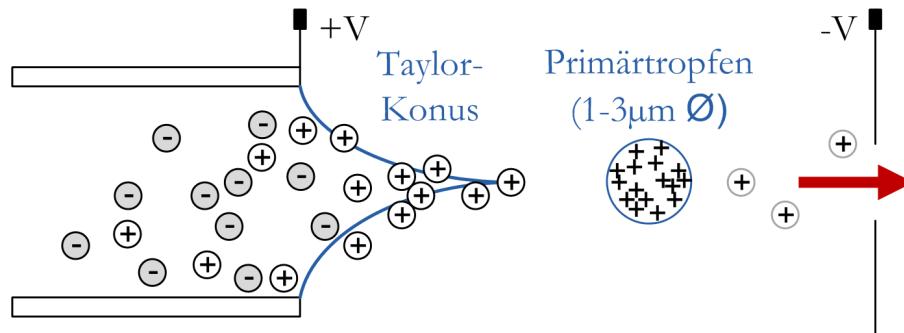


Abbildung 3.7: Taylor-Konus

besitzen 2% der Masse aber 15% der Ladung des Primärtropfens. Die entstandenen Ionen des Analyten werden in die Gasphase transferiert (Desolvatisierung).

Im zweiten Schritt werden die Atome anhand ihres Masse-Ladungsverhältnisses m/z getrennt. In einem elektrischen Feld erfahren die Ionen eine Beschleunigung abhängig von ihrem Masse/Ladungsverhältnis und erreichen somit eine spezifische Geschwindigkeit. Im letzten Schritt wird die Flugzeit der beschleunigten Ionen, welche sie zum Durchlaufen einer konstanten Flugstrecke benötigen, detektiert. Für die Flugzeit t_{TOF} ergibt sich folgende Abhängigkeit zum Masse/Ladungsverhältnis:

$$t_{TOF} \propto \sqrt{\frac{m}{z}}$$

Die Ionisation mittels ESI ist sehr schonend für das Analytmolekül und führt kaum zu Ionen-Fragmenten. Häufig treten mehrfach geladene Ionen auf.

Liegt die molare Masse des Moleküls unter $1000u$ werden in der Regel einfach positiv bzw. negativ geladene Molekülionen beobachtet. Diese entstehen durch Protonierung $[M+H]^+$ oder Kationenanlagerung $[M+Kat]^+$ mit Kat = Na, K bei positiver Ionendetektion (ESI+). Im negativen ESI Modus werden Ionen des Typs $[M-H]^-$ gebildet. Bei der Ionisierung von hochmolekularen Verbindungen bis zu einigen Kilodalton werden vielfach geladene bzw. protonierte Molekülionen gebildet. Fragmentierungen werden wegen der sanften Ionisierung bei ESI nur mit sehr geringen Intensitäten beobachtet.

4 Stand der Technik

4.1 Analytische Messverfahren zur Reaktionsverfolgung

Zu den klassischen Analysenmethoden, die für die Quantifizierung sowie die Strukturaufklärung eingesetzt werden können, zählen u.a. die Gas- und Flüssigchromatographie, die NMR, optische Spektroskopiemethoden und die Massenspektrometrie.

4.1.1 Gas- und Flüssigchromatographie (GC bzw. GLC)

Die Chromatographie ist ein Trennverfahren, welches im Anschluss noch spezifische Analyseverfahren, wie zum Beispiel die ESI-MS benötigt. Das Prinzip der Chromatographie beruht auf der Verteilung des Analyten zwischen zwei nicht mischbaren Phasen. Eine Klassifizierung der Methoden findet nach Art der mobilen und stationären Phase statt. Bei der Gaschromatographie ist die mobile Phase gasförmig, die stationäre kann entweder fest (GSC, Gas-Solid-Chromatography) oder flüssig (GLC, Gas-Liquid-Chromatography) sein. Ist die mobile Phase flüssig, handelt es sich um die Flüssigkeitschromatographie (LC), genauer um die LSC (Liquid-Solid-Chromatography) bei fester stationärer Phase und die LLC (Liquid-Liquid-Chromatography) bei flüssiger stationärer Phase.

Die Effizienz der Trennung von Substanzen wird mit der Van-Deemter-Gleichung (van-Deemter et al. [1956]) beschrieben. Sie setzt sich aus drei Termen zusammen.

$$H = A + \frac{B}{u} + C \cdot u \quad (4.1)$$

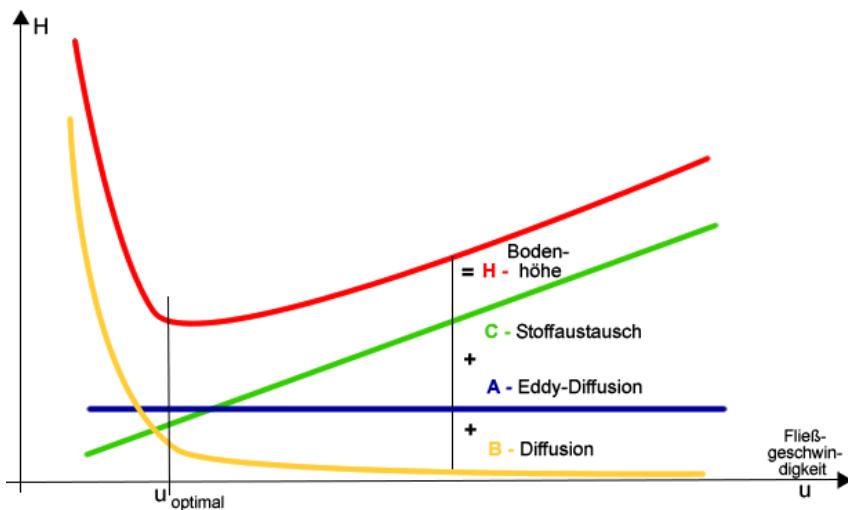


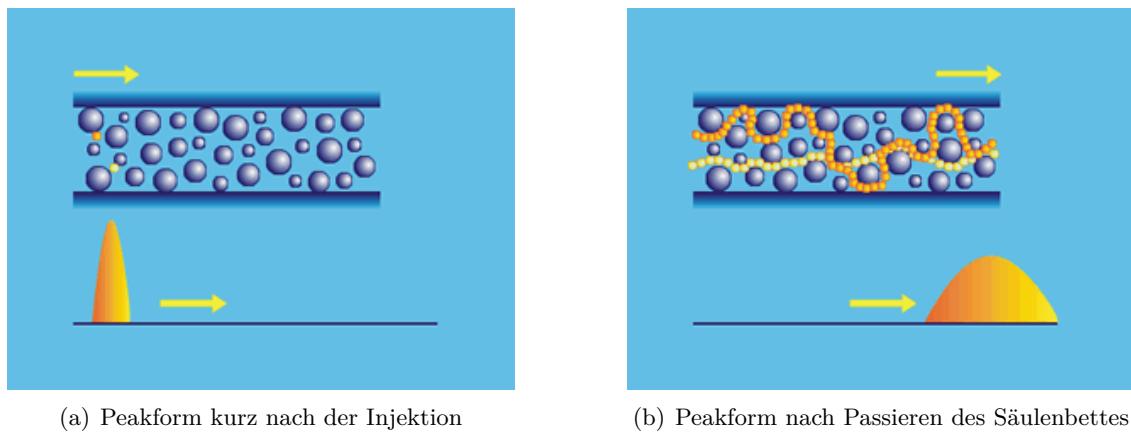
Abbildung 4.1: Terme der Van-Deemter-Gleichung ^b

^b Quelle: "Grundlagen der Chromatographie", <http://www.fiz-chemie.de/>, [09.2010]

Die Abbildung 4.1 zeigt die einzelnen Terme dieser Gleichung. Im Minimum $u_{optimal}$ der dargestellten H-u-Funktion in Diagramm 4.1 besitzt die Säule die größte Trennstärke und es werden die schmalsten Peaks erreicht. Dabei ist die Höhe H der theoretischen Böden am kleinsten und die Anzahl N der Böden in einer stets gleichlangen Säule am größten. Theoretische Böden resultieren aus der theoretischen Zerlegung der Trennstrecke der chromatographischen Säule in Abschnitte (Trennstufen). Die Bodenhöhe H ergibt sich aus dem Quotienten der Säulenlänge und der Bodenzahl.

Eddy-Diffusion A

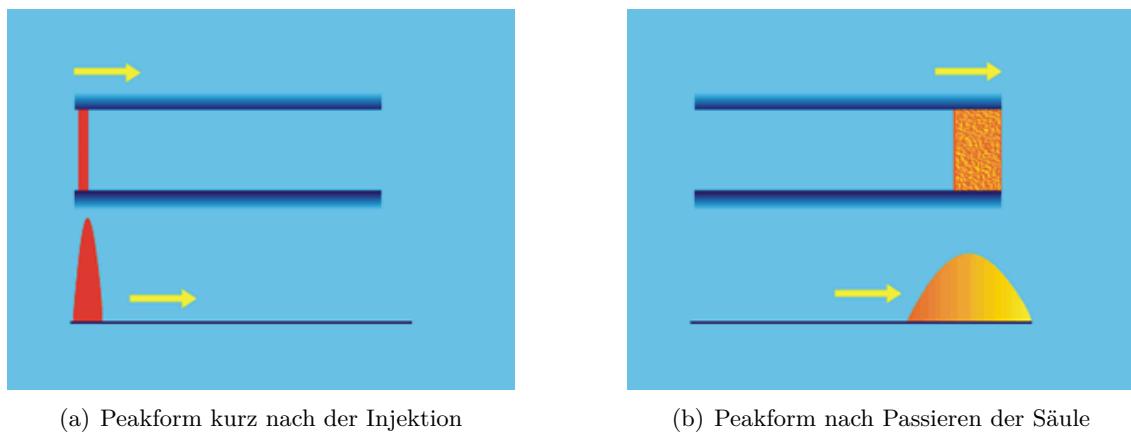
Die Packung der Säule hat Einfluss auf die Trennung der Substanzen und wird durch den Term der Eddy-Diffusion A (vgl. Abb. 4.2) ausgedrückt. Den Analytmolekülen wird durch die Teilchen der mobilen Phase ein mechanischer Widerstand entgegengesetzt. Dadurch legen die Moleküle unterschiedlich lange Wege in der Säule zurück. Das resultiert darin, dass sie zu unterschiedlichen Zeiten die Säule verlassen ohne überhaupt in Wechselwirkung mit der Teilchenoberfläche zu treten. Der sichtbare Effekt ist eine Peakverbreiterung. Die Eddy-Diffusion ist konstant über der Fließgeschwindigkeit.

**Abbildung 4.2:** Eddy-Diffusion A ^a

^a vgl. vorranginge Fußnote

Diffusion B

Die Diffusion beschreibt einen physikalischen Prozess, bei dem eine gleichmäßige Verteilung von Teilchen zu einem vollständigen Durchmischen zweier Stoffe führt. Ausgelöst wird diese Teilchenbewegung durch ein Konzentrationsgefälle. Die Diffusion findet in ge packten und ungepackten Säulen statt und führt zu einer Verbreiterung des Peaks (vgl.

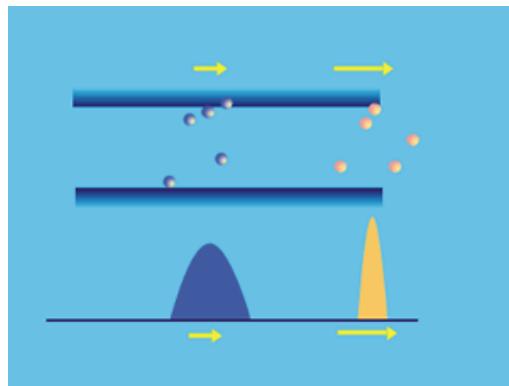
**Abbildung 4.3:** Diffusion B ^a

^a vgl. vorranginge Fußnote

Abb. 4.3). Es handelt sich hierbei um einen zeitabhängigen Prozess. Der Einfluss der Diffusion kann somit über eine Zunahme der Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase verringert werden.

Stoffaustausch C

Der letzte Term der Van-Deemter-Gleichung beschreibt den eigentlichen chromatographischen Effekt, die Wechselwirkung der verschiedenen Probenbestandteile mit der stationären Phase. Je nach Zahl und Intensität wird die Bewegung der Analytmoleküle verzögert. Sind die Verhältnisse günstig gewählt, also die stationäre Phase entsprechend der zu chromatographierenden Substanzen gut gewählt, kann eine vollständige Peak trennung erreicht werden. Diesem Trenneffekt wirken die beiden Diffusionprozesse entgegen und führen zu einer teilweisen Rückvermischung. Dadurch dass der Stoffaustausch eine gewisse Zeit benötigt, wird er durch eine geringe Flussrate der mobilen Phase begünstigt. Dies verstärkt jedoch gleichzeitig den gegenläufigen Prozess der Diffusion.



(a) Veränderung der Peakform durch den Stoffaustausch-Prozess

Abbildung 4.4: Stoffaustausch C ^a

^a vgl. vorrangegangene Fußnote

Der Nachteil chromatographischer Methoden ist, dass Katalysatoren häufig zerstört werden bzw. nicht chromatographierbar sind. Hinzu kommt, dass sich dieses Trennverfahren zur Online-Prozessüberwachung nur bedingt eignet, da der damit verbundene zeitliche Aufwand zu hoch ist.

4.1.2 Molekülspektroskopie

Die Molekülspektroskopie gehört zu den optischen Verfahren zur Bestimmung chemischer und physikalischer Parameter in der Labor- und Prozessanwendung. Die analytischen Methoden der Molekülspektroskopie basieren auf der Wechselwirkung zwischen Molekül und Lichtquant. Bei der Wechselwirkung eines Lichtstrahls mit der zu untersuchenden Probe wird der Strahl aufgrund von Absorption, Reflexion und Streuung geschwächt. Über Oberflächenstreueffekte werden Materialeigenschaften, wie Rauhigkeiten erfasst. Aus den an Grenzflächen erzeugten Interferenzmustern in Spektren können Schichtdickenbestimmungen vorgenommen und somit das Probenvolumen bestimmt werden (physikalische Parameter). Aus den Absorptionsspektren lässt sich die Zusammensetzung des Analyten qualitativ als auch quantitativ bestimmen. Die Auswertung bestimmter Spektralbereiche in den Spektren gibt Aufschluss über die Substanzklasse (gesättigt, ungesättigt und aromatisch). Eine Verfeinerung der Auswertung kann durch die Suche nach Schwingungen von funktionellen Gruppen erfolgen. So kann man z.B. aus einer O-H-Bande auf Alkohole, Phenole oder Carbonsäure schließen.

Die Benennung der Methoden erfolgt nach dem spektralen Bereich der elektromagnetischen Strahlung, welche unterschiedliche Effekte an den Molekülen bewirken. Abhängig vom Energieniveau wird eine Elektronenanregung, eine Molekülschwingung oder eine Molekülrotation hervorrufen. Abbildung 4.5 zeigt diese Aufteilung.

Energieübertragung	Molekül Rotation				Molekül-Schwingung	Elektronenanregung		
Spektroskopische Methode	Mikrowellen Absorption				Infrarot Spektroskopie	UV-VIS Spektroskopie		
Spektralbereich	Radiowellen	Mikrowellen		Infrarot (IR)		Sichtbar	UV	Röntgen
Wellenlänge [m]		10	1	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
$\lambda \odot \frac{c}{v}$			1 m		1 mm		10^{-6}	10^{-7}
						10^{-8}	10^{-9}	
								1 nm
Frequenz [Hz]		10^7		10^9		10^{11}		10^{13}
$v \odot \frac{c}{\lambda}$							10^{15}	10^{17}
Wellenzahl [cm^{-1}]		10^{-3}		10^{-1}		10	10^3	10^5
$\tilde{v} \odot \frac{1}{\lambda}$								10^7

Abbildung 4.5: Einteilung der Molekülspektroskopie, aus Ansyco [2010]

Die Absorption der Strahlungsenergie durch das Molekül erfolgt in diskreten Energieniveaus E_n . Dabei werden die Moleküle von einem energiearmen Grundzustand in einen energiereichen angeregten Zustand überführt. Die Energie, bei der ein Absorptionspeak gemessen wird, entspricht der Veränderung im Molekül.

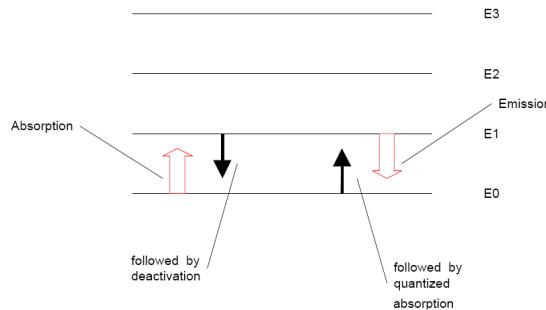


Abbildung 4.6: diskrete Energieniveaus, aus Ansyco [2010]

Für einen Übergang von einem Energieniveau zu einem anderen ergibt sich der Zusammenhang für die Frequenz der Emission bzw. Absorption der Strahlung

$$f = \frac{E_{n+1} - E_n}{h}$$

, wobei h das Planck'sche Wirkungsquantum und f die Frequenz ist. Die absorbierte Frequenz gibt Aufschluss über die Molekülstruktur.

VIS und UV

Bei der Absorption von sichtbaren (VIS) und UV-Strahlung werden hauptsächlich die Übergänge von Valenzelektronen freier Atome angeregt. Die sichtbare Region (VIS) liegt zwischen 800 und 400nm und das Ultraviolett (UV) erstreckt sich von 400 bis 200 bzw. 100nm.

IR-Strahlung

Die IR-Strahlung verursacht Rotationen und Schwingungen im Molekül. Der Infrarobereich teilt sich in das ferne ($500\text{-}50\mu\text{m}$), mittlere ($50\text{-}2,5\mu\text{m}$) und nahe Infrarot ($2,5\text{-}0,75\mu\text{m}$).

Der Vorteil dieser Methoden ist, dass die Prüfung berührungs- und zerstörungsfrei ist. Weiterhin erreicht das Verfahren eine hohe Messgeschwindigkeit bei genauen und repro-

duzierbaren Messwerten. Sie kann flexibel in bestehende Prozesse integriert werden. Auch der Punkt, dass außer der Auftrennung in Reinsubstanzen keine Probenvorbereitung notwendig ist, macht sie zu einem geeigneten Verfahren zur automatisierten Prozessüberwachung. Die Grenzen der IR-Spektroskopie liegen darin, dass eine Analyse nur von Reinstoffen sinnvoll ist. Andernfalls ist eine Zuordnung der Bande nicht möglich. Somit eignet sich die IR für komplexe Gemische oder bei Vorhandensein großer Mengen Lösungsmittel nicht.

4.1.3 MS - Massenspektrometrie

In der Massenspektrometrie werden die zu analysierenden Stoffe in Ionen überführt und an Hand ihres Masse-Ladungsverhältnisses detektiert. Dazu wird das Verhalten von geladenen Teilchen in elektrischen und magnetischen Feldern ausgenutzt. Ausgewertet wird die Intensität, als Maß für die Häufigkeit, über dem Masse-Ladungsverhältnisses m/z . Die mit dem Massenspektrometer bestimmte Messgröße (Masse-Ladungsverhältnis) ermöglicht die Berechnung von Molekülmassen. Wird die Masse ausreichend genau ermittelt, kann aus ihr die Summenformel der gesuchten Substanz berechnet werden. Dies ist aufgrund der hohen Selektivität der Massenspektrometer möglich. Massenspektrometer erreichen eine hohe Auflösung und Massengenauigkeit. Hoch- bis höchstauflösende Massenspektrometer können Massen bis zu einer Auflösung von 1.000.000 unterscheiden. Für die Auflösung gilt $R = \frac{m}{\Delta m}$, d.h. die Masseladungsverhältnisse $m/z=100$ und $m/z=10,0001$ oder 2000 und $2000,002$ können gerade noch unterschieden werden. Eine chromatographische Auftrennung ist somit in vielen Fällen nicht nötig, auch komplexe Gemische können analysiert werden. Ein weiterer großer Vorteil ist die hohe Empfindlichkeit des Verfahrens. Dadurch sind nur geringe Probemengen von einigen ng notwendig.

4.1.4 NMR - Kernspinresonanzspektroskopie

Bei der Kernspinresonanzspektroskopie (engl. nuclear magnetic resonance) werden Atomkerne, die einen Eigendrehimpuls besitzen, den so genannten Spin, einem statischen Magnetfeld ausgesetzt und gleichzeitig mit einem zweiten oszillierenden angeregt. Dabei treten die Atomkerne in Resonanz und wechseln den Drehsinn, was zu einer Energieentnahme aus dem Wechselfeld führt. Diese Dämpfung des Wechselfeldes wird als Absorptionssignal nachgewiesen.

Atomkerne verhalten sich so, als würden sie sich um ihre eigene Achse drehen. Sie haben

einen Kernspin (Drehimpuls).

$$P = \frac{h}{2\pi} \cdot \sqrt{I(I+1)}$$

h: Planck'sches Wirkungsquantum, I: Kernspinquantenzahl

Ist der Atomkern positiv geladen, entsteht durch die Rotation ein magnetisches Moment μ .

$$\mu = y \cdot P$$

y: Gyromagnetisches Verhältnis (charakteristisch für eine Kernsorte)

Wie Stabmagneten in einem magnetischen Feld können die Kerne zwei Orientierungen annehmen, parallel zum Magnetfeld oder antiparallel. Diese zwei Orientierungen entsprechen unterschiedlichen Energieniveaus.

Für den Übergang vom energieärmeren in den energiereicheren Zustand muss dem Kern exakt die Energiedifferenz zwischen den Energiezuständen zugeführt werden. Dazu muss der Kern mit Strahlung einer ganz bestimmten Frequenz bestrahlt werden. Diese Frequenz wird Präzessionsfrequenz f genannt und wird mit Hilfe der Larmor-Gleichung berechnet:

$$f = y \frac{B_0}{2\pi}$$

B_0 Magnetfeldstärke des Gerätes.

Wird mit der entsprechenden Frequenz eingestrahlt, kommt es zur Spinumkehr. Dabei wird der entsprechende Energiebetrag absorbiert und die Absorption gemessen. Die Größe der zur Kernresonanz benötigten Energie ist abhängig von der elektronischen Umgebung der Kerne und spiegelt sich in der chemischen Verschiebung wieder.

Mit dem NMR wird die Strukturaufklärung von Analyten betrieben. Der Nachteil dieses Messverfahrens ist, dass mit der NMR geringe Mengen der gesuchten Komponente von < 5%, wie dies bei Katalysatoren i.A. der Fall ist, nicht nachgewiesen werden können. In einer Reaktionslösung ist der Anteil des Lösungsmittels sehr hoch und würde die Signale der zu untersuchenden Komponenten überdecken. Dazu wäre ein Austausch des Lösungsmittels mit einem nicht NMR-anregbaren Lösungsmittel über Säulen notwendig (Festphasenextraktion). Bei diesem Verfahren werden Katalysatoren in der Regel zerstört.

Ein weiterer Nachteil ist, dass in der Regel deuterierte Lösungsmittel eingesetzt werden müssen.

4.2 Prozesskopplungen - Massenspektrometrie

Für die Überwachung und Verfolgung unterschiedlichster Prozesse werden online- Kopp lungen von Prozessen und Analysensystemen eingesetzt.

4.2.1 Online-MS-Kopplungen – Gasphase

Es gibt verschiedene Anwendungen des MS zur online-Prozessüberwachung. Am häufigsten ist die Verwendung des MS zur Untersuchung von Gasen (z. B. von Reaktions- oder Abgasen).

Die Firma IONICON stellt mit dem hochsensitiven PTR-MS (Protone Transfer Reaction - Mass Spectrometry) eine online-Prozessüberwachung zu Verfügung [Ionicon [2007]]. Es lassen sich kleinste Konzentrationen von gasförmigen Stoffen im ppt-Bereich in Echtzeit ermitteln. Fest angebunden sind wahlweise ein TOF mit einem Auflösungsvermögen von $R = 5.000$ oder ein Quadrupol mit einer Auflösung von weniger als 1amu, welches also nur ganzzahlige Massen auflösen kann. Anwendung findet dieses System in der Abgasuntersuchung von Flugzeugturbinen bei der Untersuchung von flüchtigen organischen Gasen (VOC - volatile organic compound) wie Benzene und Toluene.

Das Fraunhofer Institut Chemische Technologie hat eine Membran entwickelt, welche es ermöglicht, eine Probe mit flüssiger und gasförmiger Phase zu trennen und die gasförmige Phase direkt in das MS zu leiten [Joos [2009]]. Genutzt wird das Messsystem z.B. in der Entwicklung eines neuen TOC-Verfahrens als Nachweseinheit. Der im Wasser organisch gebundene Kohlenstoff wird zu CO₂ oxidiert und online gemessen.

Die Firma In Process kann mit ihrem Gerät den Trocknungsvorgang bei der Herstellung pharmazeutischer Produkte mittels massenspektrometrischer online-Gasanalytik überwachen [H.E.Zimmer und M.Brudel [2007]]. Ein wichtiger Verfahrensschritt bei der Herstellung pharmazeutischer Produkte ist die teilweise oder vollständige Entfernung von Lösungsmitteln. Bei diesem Trocknungsprozess werden dem Substrat Wasser und andere Lösungsmittel entzogen. Dies erfolgt unter kontinuierlicher Überwachung der Gasatmosphäre im Trockner während des gesamten Trocknungsprozesses mit einem Quadrupol-MS. Die direkte massenspektrometrische Analyse eines komplexen Probenstroms in der Acrylnitril-Produktion wurde mit Hilfe des FT-ICR-Massenspektrometers Quantra be-

schrieben. Quantra toleriert hohe Wassergehalte und kann komplexe Probenzusammensetzungen mit Komponenten analysieren, die chromatographisch nicht nachweisbar sind. Darüber hinaus kommt Quantra wesentlich besser mit Masseninterferenzen zurecht als vierpolige Systeme, hat kürzere Zykluszeiten als Gaschromatographen und einen geringen Wartungsaufwand [Siemens [2009]].

Die direkte massenspektrometrische Analyse mittels EESI (Extractive Electrospray Ionisation) ermöglicht es Proben in komplexen Matrizen zu untersuchen [Chen et al. [2006]]. Die Trennung von der Matrix und dem Zuführen von Lösungsmitteln, wie es für ESI notwendig ist, entfällt, aber trotzdem kann die Probe und nicht nur die Matrix analysiert werden (keine Ion Supression). Bei EESI werden zwei separate Sprayer angewendet. Einer zerstäubt die Probenlösung und der zweite produziert geladene Mikrotröpfchen des Lösungsmittels. Aufgrund der Kollision der Mikrotröpfen kommt es bei der Liquid-Liquid-Extraktion zu einem Übergang der Komponenten der Probe in das Lösungsmittel. Die Anbindung erfolgt an ein kommerzielles ESI-MS. Anwendung findet dieses Verfahren u. a. in der Biologie, Lebensmittelindustrie, Medizin, LifeScience, Pharmaindustrie, beispielsweise für die Untersuchung von Urin oder Atem sowie der menschlichen Haut [Chen et al. [2007]]. Bei letztgenanntem wird die Probe am lebenden Objekt mit einer Art „Probenstaubsauger“ abgesaugt. Der Gasstrom wird dem EESI direkt zugeführt und liefert einen chemischen Fingerabdruck von der Haut des Menschen. Zu erkennen ist u. a., ob der Proband Raucher oder Kaffeetrinker ist, oder ob er mit Sprengstoff oder chemischen Kampfstoffen in Berührung gekommen ist.

Ein online GC-MS System zur Überwachung und Prozesskontrolle von potentiell flüchtigen Giftigstoffen und halbflüchtigen organischen Stoffen bei Fermentationprozessen wird von Matz et al. [1998] vorgestellt. Mit einem einfachen Membran-Einlass-Massenspektrometer, an welches eine beheizte GC Säule gekoppelt ist, wird die komplette Probennahme und Analyse in 5 bis 10min durchgeführt. Matz und Liebram [1999] entwickelten ein kompaktes Magnet-MS für eine hoch zeitaufgelöste Analyse von Gasgemischen für schnell veränderliche Prozesse. Das MS ist vom Type Mattauch-Herzog und basiert auf einem Permanentmagneten und einem Detektor. Untersucht wurde die Abgasentwicklung eines Verbrennungsmotors.

4.2.2 Online-MS-Kopplungen – Flüssigphase

Für die Untersuchung von Reaktionsmechanismen in Lösung als auch in Gasphase hat sich Elektrospray Ionisation MS als bedeutendes Werkzeug durchgesetzt. Die Fähigkeit von ESI-MS, verschiedene Compounds zu unterscheiden, ist ihr größter Vorteil gegenüber anderen Analysemethoden. Arakawa et al. [1995] untersuchte Reaktionsprodukte der Photosubstitution von Ruthenium(II) diimine Komplexen mittels online ESI-MS. Das online-Monitoring eines Batchreaktors zur Identifikation von Reaktand, Zwischenprodukt und Produkt wurde von Milagre et al. [2005] entwickelt. Der Aufbau ermöglicht eine kontinuierliche Probenentnahme und Analyse mittels MIMIS (membrane introduction mass spectrometry). Griep-Raming et al. [2002] untersuchte reaktive Zwischenprodukte radikaler Kettenreaktionen mittels ESI-MS. Dazu koppelte er ein Mikroreaktionssystem online an eine ESI-Quelle. Transiente Radikale wurden eindeutig mittels MS/MS detektiert. Fürmeier [2004] zitiert die „Mikroreaktor-gekoppelte Elektrospray Ionisations Massenspektrometrie (ESI-MS)“ als ein „neues Werkzeug zur Untersuchung von reaktiven Zwischenstufen in Lösung“. Er erbringt mit dieser Methode den direkten Nachweis von reaktiven Zwischenstufen bei Reaktionen in Lösung, z.B. anhand von transienten Radikalkationen, Radikalen und Carbonionen.

Mit online-MS verfolgt Eberlin [2007] Reaktionsabläufe als Funktion von sowohl Zeit als auch Reaktionsbedingungen und charakterisiert sogar transiente Reaktionszwischenprodukte.

Viele katalytische Reaktionen benötigen die Zufuhr von Lösungsmitteln und laufen in flüssiger Phase ab. Um solch eine Reaktion zu modellieren, hat Radivojevic et al. [2008] eine Analyse des Reaktoroutputs eines Festbettreaktors in Echtzeit entwickelt. Er koppelt ein ESI-MS an den Auslass eines Reaktors und erreicht somit ein online-Monitoring einer katalytischen Reaktion in flüssiger Phase. Der Aufbau wurde mit zwei Modellreaktionen verifiziert, zum einen an einer Nitrit Reduktion mit Pt/SiO₂ und zum anderen an einer Glukoseoxidation mit Pt/CNF/Ni. Zusammenfassend kann man sagen, dass Radivojevic et al. [2008] eine Methode entwickelt hat, welche das semi-quantitative Monitoring von Reaktionslösungen, Intermediaten und Produkten speziell für die heterogene Katalyse ermöglicht. Sproß und Sinz [2010] untersuchten mit Hilfe eines Kapillarreaktors (IMER - capillary trypsin immobilized monolithic enzyme reactor) die schnelle und effiziente Digestion von Proteinen. Dazu entwickelten sie ein online-Setup des IMER mit nano-HPLC Trennung und nano-ESI-MS/MS sowie MALDI-MS Analyse.

4.2.3 Portable Massenspektrometer

Es gibt mittlerweile auch tragbare Massenspektrometer auf dem Markt. Somit wäre es möglich, nicht den Reaktor tragbar zu gestalten, sondern ihn mit einem entsprechenden Massenspektrometer zu koppeln. Der Kaye Validator ITMS Geipel-Kern [2007] von GE Sensing ist ein solches portables MS. Die Probe wird thermisch in Gasphase gebracht. Dieses Verfahren ist beispielsweise ungeeignet für die Bioanalytik, da Proteine bei hohen Temperaturen zerstört werden. Mit einer radioaktiven Quelle werden positive und negative Ionen erzeugt. Diese werden, um die Sensitivität zu erhöhen, in einer Ionенfalle gesammelt und dann in einem oszillierenden elektrischen Feld beschleunigt. Die Flugzeit wird detektiert und die entstehenden Massenspektren mit einer Substanzdatenbank verglichen. Nachteil und damit Ausschlusskriterium für die Anwendung ist, dass dieses Gerät nur eine Einheitsmassenauflösung mitbringt. Ebenfalls ist der m/z - Bereich mit bis zu 800 Da zu klein. In Tabelle 4.1 ist eine Auswahl der am Markt befindlichen mobilen Massenspektrometer zusammengestellt. Bei den zwei letztgenannten Geräten handelt es sich um TOF, die anderen sind Quads.

Bruker Daltonics, E2M	http://www.bdal.de/products/mobile-detection/chemical-detection/e2m.html
Bruker Daltonics, MM2	http://www.bdal.de/products/mobile-detection/chemical-detection/mm-2.html
Agilent, 5975T Low Thermal Mass (LTM) GC/MSD	http://www.chem.agilent.com/en-us/products/instruments/ms/agilent5975cseriesgcmsd/pages/5975Tgcmsd.aspx
CONSTELLATION TECHNOLOGY	http://www.asapanalytical.com/pdf/constellation_ct1128_ds.pdf
HAPSITE ® Chemical Identification Systems (GC/MS)	http://www.inficonchemicalidentificationsystems.com/de/index.html
Microsaic Systems, Ionchip	http://www.microsaic.com/ionchip.html
European Spectrometry Systems Ltd, ecoSys Man Portable Mass Spectrometers (MPMS)	http://www.essco.com/prodportable.htm
Jet Propulsion Laboratory	http://aemc.jpl.nasa.gov/activities/mms.cfm
Ionwerks, Compact ortho-tof mass spectroscopy system for bio-mass analysis	http://www.ionwerks.com/products/ortho.html
Kore Technology, MS-200 Portable Mass Spectrometer	http://www.kore.co.uk/ms-200.htm

Tabelle 4.1: portable Massenspektrometer von verschiedenen Herstellern [09.2010]

Portable Systeme zur Untersuchung von Substanzen finden in vielen Bereichen Anwendung, u.a. für Boden- und Wasseranalysen vor Ort oder zum Schutz der Bevölkerung und Einsatzkräfte bei z.B. Bränden mit schädlicher Rauchentwicklung. Zur Identifizierung und Quantifizierung entwickelte Matz et al. [2002] neue Techniken für die schnellere Analyse von Gefahrenstoffen in Gasen bei Chemieunfällen oder Bränden.

5 Anforderung und technische Randbedingungen

Dem Mikroreaktor werden kontinuierlich Edukte zugeführt. Am Ausgang des Reaktors verlässt das fertige Produkt den Reaktor, wenn die Durchflusszeit durch den Reaktor größer oder gleich der Reaktionszeit ist. Die Reaktion wurde durch das Zusammenführen der Edukte und/oder Hochheizen des Reaktors auf Betriebstemperatur in Gang gesetzt. In dieser Phase, meist im Bereich weniger Sekunden bis Minuten, finden bereits entscheidende Reaktionsschritte statt, wie zum Beispiel das Auftreten von Intermediaten (Edukt + Katalysator) und die Umwandlung des hinzugegebenen Katalysators in den tatsächlich aktiven Katalysator. Danach wird ein Gleichgewichtszustand erreicht und ein kontinuierlicher Fluss der Reaktanden und Produkte setzt ein.

Angestrebgt ist ein *Monitoring* der Reaktion, um online die Edukte, Produkte, Intermediate und Katalysatoren zu analysieren und direkt in den Prozess eingreifen zu können. Bei der *Protokollierung* einer Reaktion ist es ausreichend im Nachhinein die Reaktionszusammensetzung zu kennen.

Bedingung für die Ankopplung ist, dass die am MS eintreffende Probe der im Reaktor aktiven Reaktionslösung entspricht ('*in situ*' - Probe). Es darf keine vollständige Entgasung der Reaktionslösung oder eine Oxidation der Inhaltsstoffe stattfinden. Der Kontakt mit Sauerstoff kann zu einer unerwünschten Oxidation der Liganden des Katalysators führen. Da die Beschaffenheit der Lösung untersucht werden soll wie sie im Reaktor vorliegt, muss das System von der Probenentnahme bis zum Analysator chemisch inert sein. Es soll keine Probenaufarbeitung oder chromatische Probenauf trennung stattfinden, sondern eine direkte Analyse der '*in situ*' Probe möglich sein. Da die Temperaturen im Reaktor hoch sind, ist es sinnvoll, die langen Kapillarabschnitte zu beheizen, um eine gravierende Veränderung der Probe zu vermeiden. Je nachdem welches Massenspektrometer an den Reaktor gekoppelt wird, ist die Zugabe von Hilfslösungsmitteln (polare Lösungsmittel - ESI), Referenzsubstanzen oder eine die Ionisation verstärkende Lösung notwendig. Dies sollte direkt vor dem MS über einen extra Zugang erfolgen.

Die Probe soll aus einem kontinuierlichen Fluss des Mikroreaktionssystems entnommen werden. Dabei soll die Wahl des Kontireaktors flexibel bleiben. In dieser Arbeit werden zwei Reaktoren vorgestellt, einerseits das Ehrfeld Mikroreaktionssystem mit der LabBox zur Steuerung der einzelnen Reaktionsparameter und andererseits ein Kapillarreaktor ohne jegliches Zubehör. Die Kopplung muss so flexibel gestaltet sein, dass verschiedene Kontireaktoren mit wenigen Handgriffen angeschlossen werden können. Die Steuerung der einzelnen Komponenten muss somit über eine eigens zu entwicklende Software realisiert werden. Ebenfalls darf die Kopplung den Reaktionsablauf im Reaktor nicht stören. Auch darf die Kopplung den Reaktionsbereich (Reaktionszeit, Volumenstrom) nicht einschränken.

Die Probenentnahme und Aufbereitung sowie der Transport zur Analyse sollen durch die zu entwickelnde Kopplung erfolgen. Dazu werden verschiedene Konzepte erarbeitet und auf Funktionalität überprüft. Als Ziel wird ein Prozessmonitoring unter 10 Sekunden angesetzt. Dies umfasst die Probenentnahme, -aufbereitung sowie die Analyse und Auswertung der Probe. Die gezogene Probe soll bei maximal $(5 - 10)\mu\text{l}$ liegen, einerseits um ein für ein Reaktionsstadium repräsentatives Probenvolumen zu haben und andererseits um durch die Entnahme die Reaktion nicht zu stören.

Die Analyse der Probe erfolgt mit dem ESI-TOF der Firma Agilent. Die Datenerfassung erfolgt mit der MassHunter Acquisitionsoftware Software. Nach Eingabe aller Daten und dem Start des Messvorgangs soll die Kommunikation mit der MassHunter Software durch die eigene Software erfolgen und die Messung soll autonom ablaufen bei einer online-Überwachung der Edukte und Produkte. Die Kommunikation mit der Gerätesoftware ist Teil der zu entwickelnden Software.

Das Konzept, welches den Funktionalitätsbeweis (proof of principle) besteht, wird umgesetzt und anhand einer Reaktion überprüft.

6 Konzeptionierung und Umsetzung der online-MS-Kopplung zur Prozessüberwachung

Gekoppelt werden zwei Apparaturen mit unterschiedlichen Anforderungen. Auf der einen Seite ein Mikroreaktionssystem mit variablen Durchflüssen, in welchem Reaktionen in unterschiedlichen Lösungsmitteln und Konzentrationen ablaufen, auf der anderen ein hochauflösendes Massenspektrometer mit ESI-Quelle.

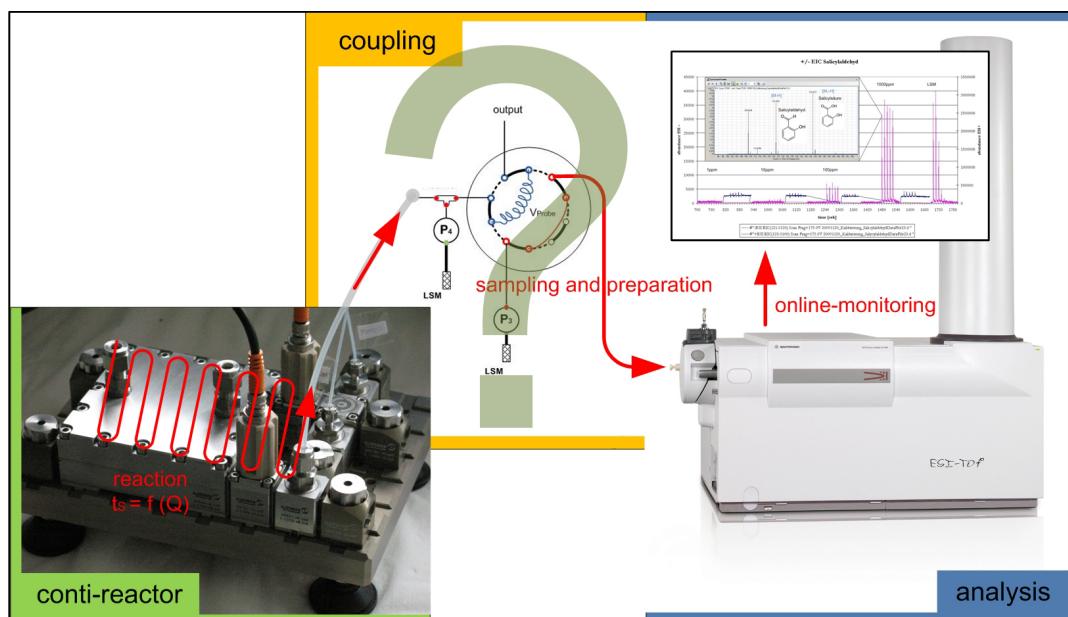


Abbildung 6.1: Reaktorsystem, Kopplung, Analyse

Das System lässt sich in 3 Bereiche unterteilen, in den Reaktor mit dem Reaktionsaufbau und der entsprechenden darin ablaufenden Reaktion, der Probenentnahme und -vorbereitung sowie der Analyse (vgl. Abb. 6.1).

6.1 Reaktor - Mikroreaktionssystem

Vorteile der Mikroreaktionssysteme sind der geringe Substanzverbrauch sowie die durch die große Reaktionsfläche verkürzten Misch- und Reaktionszeiten. Durch das große Oberflächen/ Volumen-Verhältnis lassen sich Wärmetransporte deutlich intensivieren, wodurch sehr schnelle und starke exo- oder endotherme Reaktionen möglich sind. Die geschlossene Anlagenbauweise erleichtert zudem den Umgang mit hochreaktiven Reagenzien und Gefahrenstoffen.

6.1.1 Mikroreaktionssystem von Ehrfeld

Das Mikroreaktionssystem von Ehrfeld Mikrotechnik BTS ist modular aufgebaut. Die Durchflussraten liegen zwischen einigen Millilitern und mehreren Litern pro Stunde bzw. einige tausend Tonnen pro Jahr für die Produktion. Modulabhängig sind Temperaturen von -80°C bis 200°C und Drücke bis zu 100bar möglich.

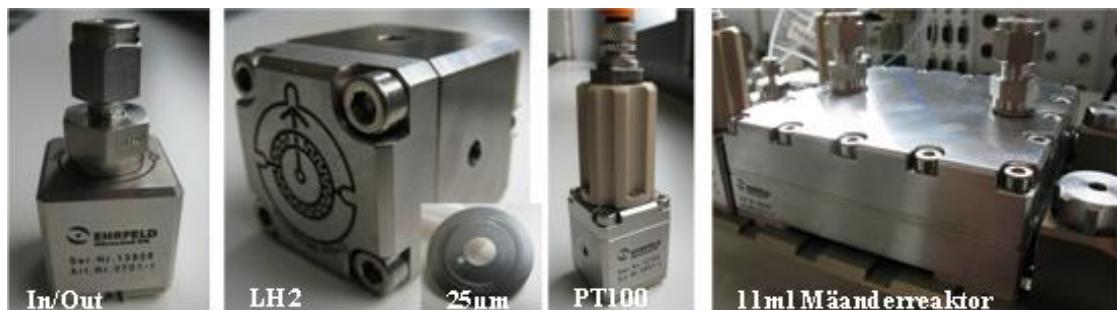


Abbildung 6.2: gewählte Module des Ehrfeldsystems

Das Ehrfeldsystem zeichnet sich durch eine äußerst robuste und totvolumenarme Verbindungstechnik aus. In Abbildung 6.2 ist eine Auswahl der verfügbaren Module des Systems abgebildet, das Ein/Auslass-Modul mit einem 16" Swagelok-Anschluss der LH2 mit einem Nenndurchfluss von 2l/h und der passenden Mischplatte, einem Temperatursensor sowie dem Kernstück, der Mäanderreaktor mit einem Reaktions'weg' von 11ml . Der Reaktor wurde mit 2 Mikrozahnringpumpen der Firma HNPM bzw. 2 HPLC-Pumpen der Firma Knauer sowie einem Heizmodul von Julabo FP50 komplettiert. Vorteil der Mikrozahnringpumpen ist der pulsationsfreie Volumenstrom. Im Gegensatz dazu fördern die Knauerpumpen pulsationsbehaftet aber mit bis zu einem Druck von 400bar und regeln sich selbstständig.

6.1.1.1 Reaktionsaufbau - Mäanderreaktor

Aus den gewählten Komponenten lässt sich der in Abbildung 6.3 dargestellte Aufbau realisieren. Dem Reaktionssystem werden zwei Eduktströme mit je einem Volumenstrom von $0,07\text{ml}/\text{min}$ bis $4\text{ml}/\text{min}$ bzw. $10\text{ml}/\text{min}$ zugeführt. Aus der Summe der Ströme ergibt sich direkt die Aufenthaltsdauer im Reaktor. Mit der vorhandenen Konfiguration der Pumpen ist eine Aufenthaltsdauer und somit Reaktionszeit von mehr als 24h möglich. Die minimale Aufenthaltsdauer im Reaktor beträgt abhängig von der Pumpenkonfiguration $1,4\text{min}$ bzw. $0,5\text{min}$. Die Möglichkeit des Beheizens mit dem an den Reaktor angeschlossenen Heizelement bis 200°C ist gegeben. Über eine Änderung der Hardwarekonfiguration sind auch Druckreaktionen möglich. Dazu muss das am Ausgang des Reaktors angebrachte Rückschlagventil mit einem entsprechenden Ventil mit höherem Öffnungsdruck ersetzt werden. Über das Rückschlagventil wird dann im Reaktor ein Druck erzeugt. Die gewählten HPLC-Pumpen überwinden einen Druck von 400bar . Bisher sind nur Reaktionen ohne Druckbeaufschlagung angestrebt. Da die Edukte durch die Pumpen gefördert werden, sind die medienberührenden Teile der Pumpen aus Keramik bzw. aus demselben Material wie der Reaktor, aus Edelstahl.

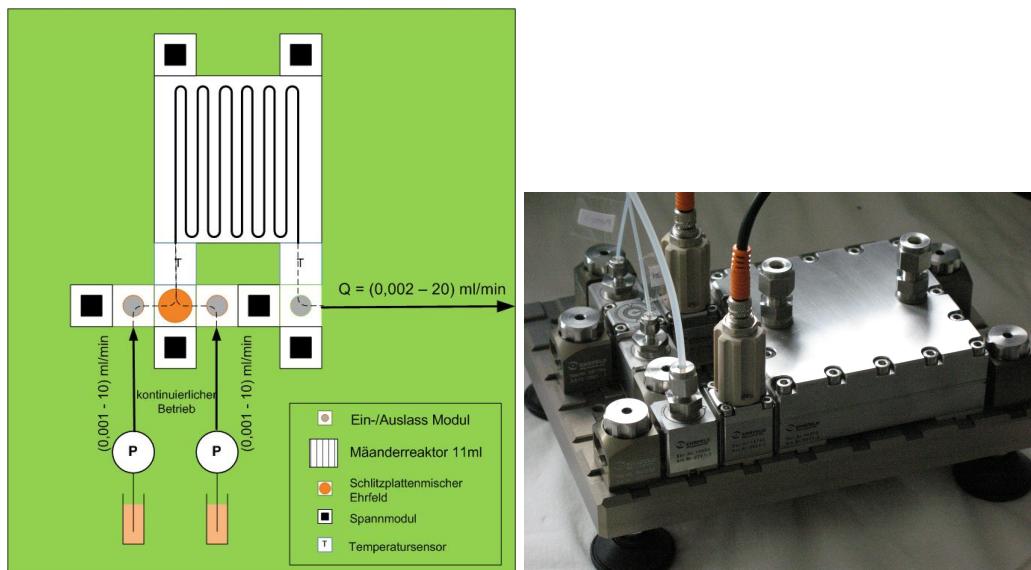


Abbildung 6.3: Reaktionsaufbau für die Modellreaktion

Durchfluss $Q_{Reaktor}$ [ml/min]	Durchlaufzeit t [min] für 11ml Reaktor	Durchlaufzeit t [min] für 1ml Reaktor
0,002 (Knauer min.)	5500	500
0,01	1100	100
0,06	183,3	16,7
0,1	110	10
0,14 (HNPM min.)	79	7
0,2	55	5
0,3	36,7	3,3
0,4	27,5	2,5
0,5	22	2
0,6	18,3	1,7
0,7	15,7	1,4
0,8	13,8	1,3
0,9	12,2	1,1
1	11	1
3	3,67	0,33
5	2,20	0,20
8 (HNPM max.)	1,38	0,13
10	1,10	0,10
15	0,73	0,07
18	0,61	0,06
20 (Knauer max.)	0,55	0,05

Tabelle 6.1: Durchflusszeiten $t = \frac{V}{Q}$ der Reaktoren

6.1.2 Kapillarreaktor

Für schnell ablaufende Reaktionen wurde ein $1ml$ Kapillarreaktor entwickelt. Mit den HPLC-Pumpen von Knauer (vgl. Anhang Tabelle A.2) mit einer Volumenstromspanne von $(0,001-10)ml/min$ ergeben sich Durchflusszeiten von 3 Sekunden bis etwa 8 Stunden. Der Innendurchmesser der Kapillaren beträgt $1,5mm$ bei einer Länge von $56,5cm$. Es besteht derzeit keine Möglichkeit den Reaktor zu beheizen.

6.1.3 Monitoring verschiedener Reaktionsstadien t_s

Der Ort der Probenentnahme s ist konstant (s. Abbildung 6.4). Die Probe zur Untersuchung des Reaktorinhaltes wird dem kontinuierlichen Produktfluss entnommen. Die Aufenthaltsdauer im Reaktor ist antiproportional der Summe des Gesamtvolumenstroms

bei konstantem Reaktorvolumen, $Q_{Reaktor} = \frac{V_{Reaktor}}{T_{Reaktor}}$. Abbildung 6.4 zeigt den Reaktionsverlauf (gelb → orange → rot ≡ Edukte → Intermediate → Produkt) im Reaktor, wobei der Durchfluss so gewählt wurde, dass die Durchflusszeit durch den Reaktor gleich der Reaktionsdauer ist. Die gezogene Probe an der Probenentnahmestelle enthält das fertige Produkt. Wird jetzt der Durchfluss erhöht, verlässt den Reaktor ein unfertiges Produkt, ein so genanntes Intermediat. Der den Reaktor verlassende Inhalt ist somit eine Funktion der Durchlaufzeit bzw. der Flussrate. Somit kann über die Wahl der Flussrate Q der Punkt der Reaktionsüberwachung (=Reaktionsstadium t_s) gewählt werden.

$$t_s = \frac{V_{Reaktor}}{Q_{Reaktor}} \quad (6.1)$$

Die Durchlaufzeiten für verschiedene Volumenströme durch den Reaktor $Q_{Reaktor}$ können der Tabelle 6.1 entnommen werden.

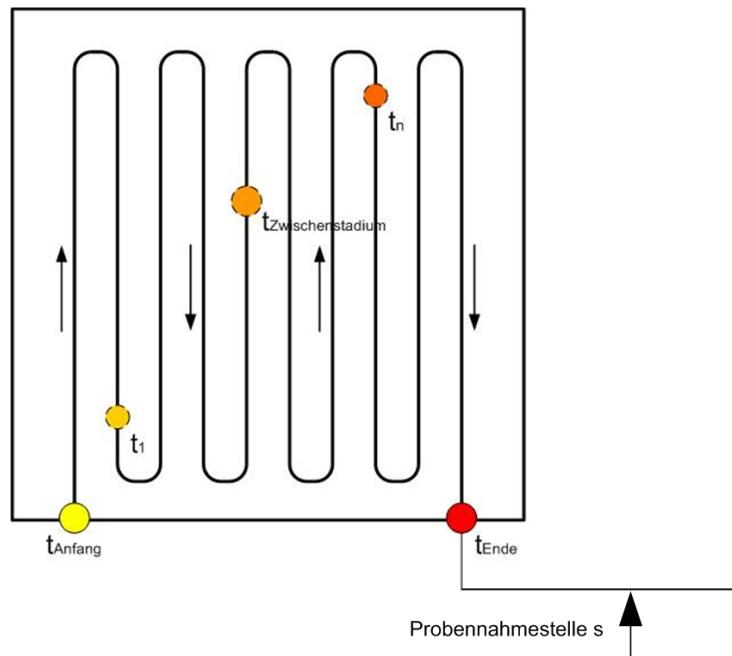


Abbildung 6.4: zeitlicher Reaktionsverlauf und Aufenthaltsdauer im Reaktor

Für die Einstellung der Reaktionsstadien ergeben sich folgende Varianten:

6.1.3.1 Variante 1

Am Reaktor wird das Reaktionsstadium t_{S1} eingestellt. Der dazu einzustellende Volumenstrom wird nach der Formel $Q_n = \frac{V_{Reaktor}}{t_{Sn}}$ berechnet. Nach Ablauf der Reaktionszeit kann an der Probenentnahmestelle die entsprechende Probe entnommen werden. Nach Einstellen des nächsten Reaktionsstadiums über den Volumenstrom wird die Dauer t_{S2} abgewartet und erneut beprobt. Dabei spielt es keine Rolle, ob mit den hohen oder niedrigen Volumenströmen respektive den frühen oder späten Reaktionsstadien begonnen wird. Der Zeitaufwand für die Gesamtmessung entspricht der Summe der Zeiten der einzelnen Reaktionsstadien.

$$t_{Messung} = \sum_{n=1} t_{Sn} \quad (6.2)$$

Der Verbrauch an Edukten ist für jedes Reaktionsstadium gleich dem Reaktorvolumen. Der Gesamtverbrauch für eine Messung ergibt sich aus der Anzahl n der zu messenden Reaktionsstadien:

$$Verbrauch = n \cdot V_{Reaktor} \quad (6.3)$$

6.1.3.2 Variante 2

Zu Beginn der automatisierten Messung wird das maximale Reaktionsstadium, d.h. das t_s , mit der längsten Reaktionsdauer, eingestellt, wobei die Summe der Eduktvolumenströme den geringsten Wert der Messreihe annimmt. Es befinden sich nun alle Reaktionsstadien verteilt über dem Reaktions'weg' bereits im Reaktor. Daraufhin können mit hohem Durchsatz (so dass, $\Delta t \rightarrow 0$) alle Zwischenstadien nacheinander zur Probenentnahmestelle befördert werden. Das Problem: Auch beim höchsten Volumenstrom von $20ml/min$ dauert das Durchströmen des $11ml$ Reaktors etwa $30sek$. Zu jedem Reaktionsstadium addiert sich die Dauer des Einstellens der vorherigen Reaktionsstadien dazu. Somit ist diese Herangehensweise nur akzeptabel für späte Reaktionsstadien und wird nicht weiter Beachtung in dieser Arbeit finden.

6.1.3.3 Variante 3

Als Q'_n werden die einzustellenden Volumenströme bezeichnet. Sie weichen von den Volumenströmen Q_n der Variante 1 ab. Dort entsprach der Volumenstrom $Q = V_{Reaktor}/t_s$ dem Volumenstrom der notwendig ist, um ein Reaktionsstadium t_S bei einem Reaktorvolumen $V_{Reaktor}$ einzustellen, mit dem Unterschied, dass keine Abhängigkeit zum vorherigen

Reaktionsstadium mehr besteht. Dabei wurde der gesamte Reaktor durch Abwarten der Reaktionsdauer des aktuellen Reaktionsstadiums vom Restvolumen des alten Reaktionsstadiums geleert.

Für Variante 3 muss die Randbedingung $t_{S_{n+1}} > t_{S_n}$ gelten. Es werden zuerst die frühen Reaktionsstadien eingestellt, der Durchfluss nimmt während der Messung ab. Man stelle sich vor, dass der Durchfluss für $t_{S_1}=10\text{min}$ eingestellt wurde. Es ergibt sich ein Volumenstrom $Q_1 = \frac{V_{Reaktor}}{t_{S_1}} = 1,1\text{ml/min}$ mit $V_{Reaktor} = 11\text{ml}$. In der Reaktormitte war das Fluidelement bisher 5min im Reaktor, an einem Viertel des Reaktorweges entsprechend $2,5\text{min}$ usw. Nach dem Umschalten auf Q_2 ist dieses Element noch eine weitere Zeit t im Reaktor. Die gesamte Dauer ($5\text{min} + t$) bis zum Verlassen ist definitiv kleiner als die gewünschten 20min des Reaktionsstadiums t_{S_2} . Dies gilt auch für die anderen zum Zeitpunkt des Umschaltens im Reaktor befindlichen Fluidelemente. Je weiter sich das Element am Anfang des Reaktors befindet, desto länger wird die Reaktionsdauer und sie nähert sich dem gewünschten t_{S_2} an. Aber tatsächlich wird erst das Fluidelement am Reaktoreingang t_0 und alle davorliegenden das gewünschte Reaktionsstadium an der Probenentnahmestelle liefern, und zwar nachdem es die komplette Reaktionsdauer t_{S_2} im Reaktor zurückgelegt hat. Dies entspricht der Variante 1.

Ziel ist es nun die Volumenströme so anzupassen, dass die Fluidelemente, welche sich bereits während des vorherigen Reaktionsstadiums im Reaktor befanden, für das aktuelle Reaktionsstadium verwendet werden können. Dies kann dadurch erreicht werden, dass die Volumenströme kleiner gewählt werden als die bisherigen. Somit gilt: $Q' \leq Q$. Für unser Beispiel bedeutet dies, dass das Fluidelement in der Mitte des Reaktors, welches bereits 5min reagiert hat, noch 15min Zeit im Reaktor verweilen muss, um dem gewünschten Reaktionsstadium vom 20min zu entsprechen, bevor es an der Probenentnahmestelle ankommt. Somit ergibt sich für $Q'_2 = \frac{V_{Reaktor}}{15\text{min}} = 0,37\text{ml/min}$. Die Probe für t_{S_2} kann nach nur weiteren 15min statt 20min entnommen werden. Wird ein Fluidelement gewählt, welches näher an der Probenentnahmestelle lag z.B. auf $3/4$ des Reaktors, verkürzt sich die Zeit auf $12,5\text{min}$ bei einem Volumenstrom von $0,66\text{ml/min}$. Der Zusammenhang zwischen Q und t ist antiproportional und nähert sich der Differenz der Reaktionstadien ($t_{S_2} - t_{S_1}$) an, wobei der Volumenstrom Q'_2 gegen Null geht.

$$\Delta t_{x,Q'_2} \rightarrow (t_{S_2} - t_{S_1}) \text{ für } Q'_2 \rightarrow 0 \quad (6.4)$$

Weitaus umfangreicher wird es, wenn die Positionen der Fluidelemente nicht bekannt

sind und bedacht wird, dass jedes Reaktionsstadium von den vor ihm liegenden abhängt ($t_{sn} = f(t_{s(n-1)})$). Dieser Zusammenhang wird im folgenden verdeutlicht.

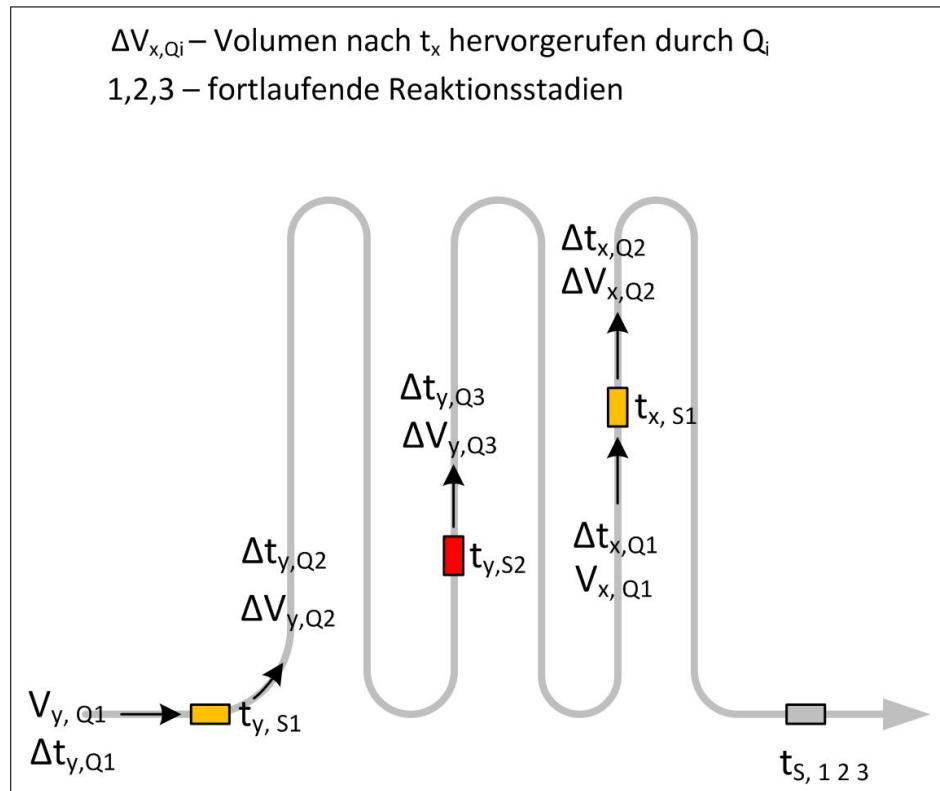


Abbildung 6.5: Reaktionsstadien im kontinuierlichen Reaktor

6.1.3.3.1 Fluidelement x

Während an der Probenentnahmestelle das Reaktionsstadium S1 mit einer Reaktionsdauer t_{S1} und dem entsprechenden Volumenstrom Q'_1 eingestellt ist, befindet sich das Fluidelement x an der Stelle $t_{x,S1}$ im Reaktor. Wird nun der Reaktor von Q'_1 auf Q'_2 also von S1 auf S2 umgestellt, wird sich nach einer Zeit $\Delta t_{x,Q'2}$ abhängig vom Volumenstrom Q'_2 das Reaktionsstadium S2 mit einer Reaktionsdauer t_{S2} einstellen (Gl. 6.6). Hier erfolgt die Probenentnahme für S2.

$$t_{x,S1} = t_{x0} + t_{x,Q'1} \quad (6.5)$$

$$t_{S2} = t_{x,S1} + \Delta t_{x,Q'2} \quad (6.6)$$

Für die Volumenaufteilung im Reaktor ergibt sich nach Gl. 6.7 ein Volumen $V_{x,Q'1}$ vor dem Fluidelement x und $\Delta V_{x,Q'2}$ danach.

$$\overbrace{V_{x,Q'1}}^{f(Q'_1)} + \overbrace{\Delta V_{x,Q'2}}^{f(Q'_2)} = V \quad (6.7)$$

$$\Delta t_{x,Q'2} = \frac{\Delta V_{x,Q'2}}{Q'_2} \quad (6.8)$$

Dabei wurde das vordere Volumen mit dem Volumenstrom Q'_1 für eine Dauer von $t_{x,S1}$ und das danach mit Q'_2 mit $\Delta t_{x,Q'2}$ durchströmt (Gleichungen 6.8 und 6.9).

$$t_{x,Q'1} = \frac{V_{x,Q'1}}{Q'_1} \rightarrow V_{x,Q'1} = Q'_1 \cdot t_{x,Q'1} = \frac{t_{x,S1}}{t_{s1}} \cdot V \quad (6.9)$$

Für das Element x ergibt sich für die Dauer $\Delta t_{x,Q'2}$ vom Umschalten von Q'_1 auf Q'_2 zum Einstellen eines neuen Reaktionstadiums S2, abhängig vom alten Reaktionsstadium S1, mit dem Reaktorvolumen V folgender Zusammenhang:

$$\Delta t_{x,Q'2} = \frac{t_{S2} - t_{S1} - t_{x0}}{(1 - \frac{Q'_2}{Q'_1})} \quad (6.10)$$

6.1.3.3.2 Fluidelement y

Das Fluidelement y befindet sich an der Position $t_{y,S2}$ im Reaktor, während sich das Reaktionsstadium S2 an der Probennamestelle befindet. Diese Position wurde erreicht durch die Fortbewegung des Elementes mit $Q'_1 \Rightarrow t_{y,Q'1}$ und $Q'_2 \Rightarrow \Delta t_{y,Q'2}$ (Gleichung 6.11).

$$t_{y,S2} = t_{y0} + t_{y,Q'1} + \Delta t_{y,Q'2} \quad (6.11)$$

Damit sich an der Probenentnahmestelle das Reaktionstadium S3 befindet, muss sich das Element y noch $\Delta t_{y,Q'3}$ Minuten mit Q'_3 fortbewegen. Das entsprechend durchlaufene Volumen beträgt $\Delta V_{y,Q'3}$ (vlg. Gl. 6.12 und 6.13).

$$t_{S3} = t_{y,S2} + \Delta t_{y,Q'3} \quad (6.12)$$

$$\Delta t_{y,Q'3} = \frac{\Delta V_{y,Q'3}}{Q'_3} \quad (6.13)$$

Für die Volumenaufteilung im Reaktor ergibt sich:

$$\underbrace{V_{y,Q1}}_{f(Q'_1)} + \underbrace{\Delta V_{y,Q2}}_{f(Q'_2)} + \underbrace{\Delta V_{y,Q3}}_{f(Q'_3)} = V \quad (6.14)$$

Die Verschiebungen des Elementes y durch die Volumenströme Q'_1 und Q'_2 während der Probenentnahme von S1 und S2 sind in den Gleichungen 6.15 und 6.16 dargestellt.

$$\Delta t_{y,Q2} = \frac{\Delta V_{y,Q2}}{Q'_2} \quad (6.15)$$

$$t_{y,Q'1} = \frac{V_{y,Q'1}}{Q'_1} \quad (6.16)$$

$$\Delta t_{y,Q'3} = t_{S3} - \frac{t_{S3} \cdot Q'_3 - V - Q'_1 \cdot t_{y0} + \frac{t_{S2}-t_{S1}}{1-\frac{t_{S1}}{t_{S2}}} \cdot Q'_2 - Q'_1}{Q'_3 - Q'_1} \quad (6.17)$$

In Gleichung 6.17 wird die Dauer des Eintreffens des Reaktionsstadiums t_{S3} nach Umstellung vom Stadium t_{S2} in Abhängigkeit aller bekannten Stellgrößen des Systems berechnet. Mit diesen Ansätzen lässt sich die Komplexität des Problems erahnen, da weit mehr als 3 Stadien je Messung analysiert werden sollen. Durch einen kleinen Kunstgriff vereinfacht sich das Ganze jedoch.

Stellen wir uns wieder das vorherige Beispiel vor. An der Probenentnahmestelle befindet sich das Reaktionsstadium $t_{S1} = 10\text{min}$, der Reaktor wird mit dem Volumenstrom $Q'_1 = Q_1$ durchflossen. Nach der Probenentnahme soll das Reaktionsstadium $t_{S2} = 20\text{min}$ eingestellt werden. Die Dauer bis das Reaktionsstadium an der Probenentnahmestelle ankommt, ergab sich aus Gl. 6.10. Wird $Q'_2 = Q_3$ gesetzt, also der Volumenstrom des nächsten Reaktionsstadiums gewählt, wird $\Delta t_{x,Q'2} = 15\text{min}$. Aus diesem Ansatz ergeben sich zwei Vorteile. Erstens ist der Volumenstrom für das folgende Reaktionsstadium t_{S3} bereits eingestellt und befindet sich bereits $\Delta t_{x,Q'2} = t_{y,Q'2} = 15\text{min}$ im Reaktor, wodurch die folgende Probenentnahme von t_{S3} schnell erfolgen kann. Viel wichtiger ist jedoch, dass nach der Probenentnahme von t_{S3} der Reaktorinhalt nur durch den Volumenstrom des letzten Reaktionsstadiums, in diesem Fall t_{S3} beeinflusst wurde. Es herrscht wieder ein Zustand wie bei der Probenentnahme von t_{S1} . Es besteht für das folgende Stadium t_{S4}

nur eine Abhängigkeit zum vorhergehenden Reaktionsstadium t_{S3} , nicht aber zu t_{S2} oder t_{S1} . Verallgemeinert kann man sagen, dass für alle *geraden* Reaktionsstadien n für die Dauer bis zum Eintreffen des Reaktionsstadium an der Probenentnahmestelle gilt:

$$\Delta t_{x,Q' n} = \frac{t_{Sn} - t_{Sn-1}}{\left(1 - \frac{Q'_{n+1}}{Q'_{n-1}}\right)} \text{ bzw.} \quad (6.18)$$

$$\Delta t_{x,Q' n} = \frac{t_{Sn} - t_{Sn-1}}{\left(1 - \frac{t_{Sn-1}}{t_{Sn+1}}\right)} \quad (6.19)$$

$$\text{mit } Q'_{n+1} = Q_{n+1} = \frac{V}{t_{Sn+1}} \text{ und } Q'_n = Q'_{n+1}.$$

Für die *ungeraden* Stadien gilt:

$$\Delta t_{x,Q' n+1} = t_{Sn+1} - t_{x,Q' n} \quad (6.20)$$

Der Verbrauch, bis das Reaktionsstadium t_{S1} eingestellt wurde, entspricht dem Reaktorvolumen. Für die darauf folgenden Reaktionstadien wird für zwei aufeinanderfolgende Reaktionsstadien einmal das Reaktorvolumen verbraucht:

$$\text{Verbrauch} = \left(1 + \frac{1}{2} \cdot (n - 1)\right) \cdot V_{Reaktor} \quad (6.21)$$

Reaktionsstadium $t_{sn} [min]$	$Q_n \text{ [ml/min]}$	Q'_n	$\Delta t'_{Q' n} [min]$
(Variante 1)			(Variante 3)
0			
1	11,0	11,0	1
2	5,5	3,7	1,5
3	3,7	3,7	1,5
6	1,8	1,1	4,3
10	1,1	1,1	5,7
20	0,6	0,4	15
30	0,4	0,4	15
60	0,2	0,1	45
90	0,1	0,1	45
Gesamt T [min]:	222		89 40%

Tabelle 6.2: Reaktionsstadien 11ml Mäanderreaktor

In Tabelle 6.2 wurde das Prinzip für eine Versuchsreihe mit verschiedenen Reaktionsstadien verdeutlicht. Die Variante 1 benötigt 222min (Formel 6.2) bei einem Verbrauch

von etwa $100ml$, um alle Reaktionsstadien zu durchlaufen. Variante 3 benötigt für das gewählte Beispiel nur 40% der Zeit und einen Verbrauch von $55ml$: Dies entspricht etwa 50% des Verbrauchs der Variante 1.

6.2 Probenentnahme und -vorbereitung

Das mittlere Modul der Probenentnahme und -vorbereitung ist das Kernstück dieser Arbeit. Es unterliegt sowohl Randbedingungen von der Reaktorseite als auch vom Analysegerät beispielsweise dem Time-Of-Flight Massenspektrometer (TOF). Den Reaktor verlässt ein kontinuierlicher Fluss des Reaktorinhaltes des eingestellten Reaktionsstadiums.

6.2.1 Anforderungen an das Probenentnahmesystem

Die Durchflüsse im Reaktorkreislauf und somit der Punkt der Reaktionsüberwachung sollen frei eingestellt werden können und keinen Einfluss auf die folgenden Parameter der Probenaufbereitung haben. Dazu ist eine Entkopplung dieser beiden Kreisläufe notwendig, welche über die Art der Probenentnahme erfolgt. In dem Modul der Probenvorbereitung soll die Möglichkeit bestehen, die Probe in einem angemessenen Verhältnis zu verdünnen. Abhängig von der Reaktion liegen diese in hohen Konzentrationen vor, in welchen das TOF sie nicht optimal analysieren kann. Eine Lösung hierfür musste in das Konzept mit einfließen. Andererseits findet ein Großteil der Reaktionen in unpolaren Lösungsmitteln statt. Für die Ionisierung mit einer ESI-Quelle ist die Zugabe von polarem Lösungsmittel notwendig.

Eine weitere Anforderung an das Gesamtkonzept ist, dass die aus dem Reaktor entnommene Probe möglichst klein ist, um eine Störung des Reaktionsablaufes zu vermeiden. Weiterhin kann mit einer kleinen Probe das Reaktionsstadium schärfer eingegrenzt werden, die Probe ist repräsentativ für ein Reaktionsstadium. Eine $5\mu l$ Probe entspricht einem Reaktorinhalt von etwa 0,05% ($11ml$ Reaktor). Ein weiterer Punkt ist die Dauer der Probenentnahme samt ihrer Analyse. Für ein online-Monitoring wird eine Dauer von 5-10sek je zu analysierender Probe angestrebt.

Es wurden vier Konzepte entwickelt und überprüft. Diese sind in den folgenden Abschnitten 6.2.2, 6.2.3, 6.2.4 und 6.2.6 beschrieben. Das Konzept „Multiport-Ventil“ wurde als das vielversprechendste Konzept angesehen und einer umfangreichen Funktionsprüfung unterzogen.

6.2.2 Konzept I - „aktive Probenentnahme“

Abbildung 6.6 zeigt das Konzept „aktive Probenentnahme“. Die verwendeten Komponenten und ihre Spezifikationen sind im Anhang in Tabelle A.1 zusammengefasst.

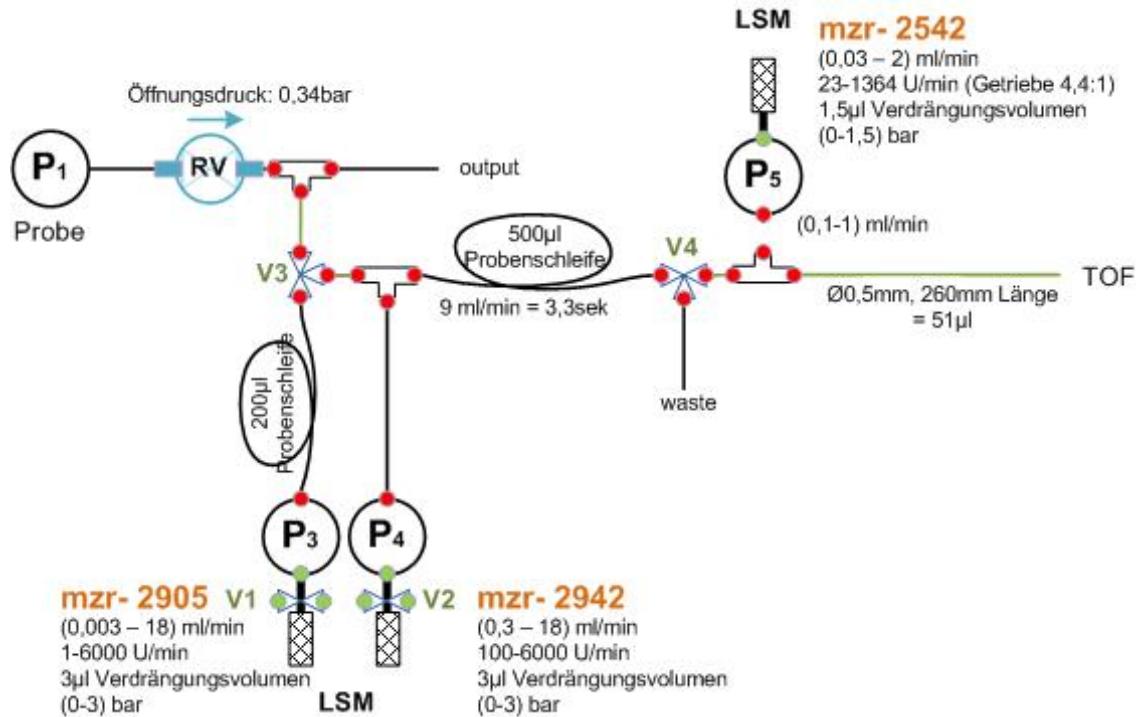


Abbildung 6.6: Aufbau-“aktive Probenentnahme“

6.2.2.1 Ablauf

Pumpe P1 fördert mit einem kontinuierlichen Volumenstrom den reaktoräquivalenten Probenfluss in den 'output'. An den Ausgang des Reaktors ist eine Edelstahlkapillare angeschlossen (vgl. Abb. 6.6). Dort wird an definierter Stelle über ein T-Stück eine Teil des Flusses entnommen. Diese Probe mit einem geringen Volumen von wenigen μl wird als homogen und als repräsentativ für ein Reaktionsstadium angesehen. Zur Entnahme der Probe dreht Pumpe P3 rückwärts und kann eine Probe von $1,5 - 200 \mu\text{l}$ aus dem Reaktorfluss entnehmen. Das Ventil V3 verbindet dabei den Reaktor und die Pumpe P3 (\downarrow). Das Probenvolumen wird über die Anzahl der Umdrehungen entsprechend dem Verdrängungsvolumen der Pumpe realisiert. Da die Entnahme der Probe mit maximal dem selben Volumenstrom wie dem Volumenstrom durch den Reaktor erfolgt, kommt es

nicht zu einer Störung der Reaktion im Inneren des Reaktors. Der Mischvorgang findet im T-Stück statt. Die zwei Eingänge des T-Stücks sind mit jeweils einer der Pumpen P3 und P4 verbunden. Beide Pumpen fördern im Vorwärtsbetrieb Lösungsmittel über einen Filter aus einem Reservoir. V3 verbindet die Pumpe P3 und das TOF (\uparrow). Das Verhältnis der Fördervolumina der zwei Pumpen bestimmt das Mischungsverhältnis zwischen Probe und polarem Lösungsmittel. Fördert P3 mit einem minimal möglichen Volumenstrom von $3\mu\text{l}/\text{min}$ und P4 mit einem maximalen von $18\text{ml}/\text{min}$, beträgt das Mischverhältnis 1:6000. Welches maximale Mischungsverhältnis tatsächlich erreicht werden kann, muss untersucht werden. In der Umsetzung beträgt der Gesamtvolumenstrom der Pumpen P3 und P4 $9\text{ml}/\text{min}$, wodurch die Probenschleife in 3,3sek durchströmt wird. Für ein Mischungsverhältnis von 1:300 läuft Pumpe P3 mit $0,03\text{ml}/\text{min}$ und Pumpe P4 mit $8,97\text{ml}/\text{min}$. Für ein Mischungsverhältnis von 1:100 sind die Volumenströme entsprechend $0,09\text{ml}/\text{min}$ und $8,91\text{ml}/\text{min}$. Ist dieses Mischungsverhältnis nicht ausreichend, wird die Probe zurückgefördert und kommt wiederum vor dem T-Stück zur Ruhe. Der Mischungsprozess kann erneut erfolgen und das Mischungsverhältnis der beiden Stufen multipliziert sich. Da dieser Schritt beliebig oft wiederholt werden kann, ist das Mischungsverhältnis nach oben hin offen. Pumpe P5 versorgt das ESI-TOF mit einem kontinuierlichen Fluss an Lösungsmittel. Die nun vorbereitete Probe wird diesem permanenten Fluss zugeführt. Dabei ist darauf zu achten, dass der Volumenstrom zum ESI-TOF konstant bleibt und zwischen 0,1 und $1\text{ml}/\text{min}$ liegt. Dazu wird ein Durchflussmesser vor das TOF geschaltet. Beim Hinzuschalten der Pumpe P3 wird die Pumpe P5 angepasst, damit der Volumenstrom konstant bleibt. Die Probe gelangt in das ESI-TOF und kann analysiert werden. Die Länge der Probe ist dabei flexibel, demzufolge auch die Messzeit.

6.2.2.2 Ergebnisse - "aktive Probenentnahme"

Als Probenlösung wurde die zu Kalibrierungszwecken genutzte TOF-Referenzlösung (vgl. Anhang Abbildung A.1) verwendet. Die Lösung enthält ausgewählte Stoffe unterschiedlicher Masse/Ladungsverhältnisse. Das Masse/Ladungsverhältnis $\frac{m}{z} = 922$ wurde selektiv beobachtet (vgl. Abb. 6.9).

Für den Aufbau ohne die $500\mu\text{l}$ Probenschleife konnte ab einem gezogenen Probenvolumen von $10\mu\text{l}$ ein Signal mit einer Intensität von 5000 registriert werden. Für $20\mu\text{l}$ stieg das Signal auf 50000. Die Verzögerung, bis die Probe am TOF eintrifft, beträgt 9sek bei einem Volumenstrom von $1\text{ml}/\text{min}$ und 1min bei einem Volumenstrom von $0,1\text{ml}/\text{min}$. Die Peakbreite ist 50sek ($1\text{ml}/\text{min}$) beziehungsweise 2min ($0,1\text{ml}/\text{min}$).

Wird die $500\mu\text{l}$ Probenschleife integriert, kann das erste Signal erst ab einem gezogenen Probenvolumen von $100\mu\text{l}$ detektiert werden. Aufgrund der langen Strecke von Probenentnahme bis zum TOF verdünnt sich die Probe so stark, dass sie erst ab diesem hohen Probenvolumen detektiert werden kann.

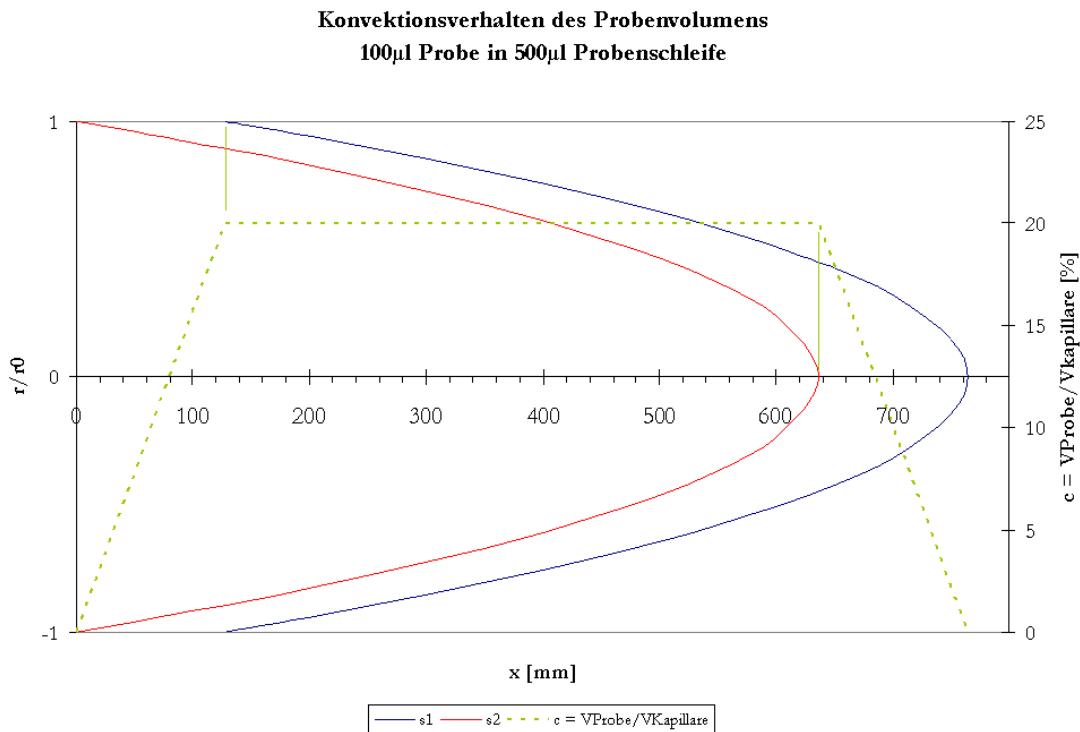


Abbildung 6.7: berechnete Konvektion aufgrund des Geschwindigkeitsprofils, 500 μl Probenschleife

Das Verdünnen der Probe aufgrund von Konvektion kann entsprechend Kapitel 3.3.2.1 ermittelt werden.

Abbildung 6.7 zeigt die berechneten Kurven s_1 und s_2 in der 500 μl Probenschleife mit 1mm Durchmesser für einen Volumenstrom von $Q=1\text{ml}/\text{min}$. Die Berechnung erfolgte nach Gl. 3.19 und 3.18. Der Zeitpunkt t_{gep} ist dabei so gewählt, dass die Spitze des hinteren Paraboloiden das Ende der Probenschleife mit einer Länge von 363mm erreicht hat. Zu dieser Momentaufnahme der Strömung ($t_{gep} = \text{konst}$) liegt in der Schleife ein Konzentrationsverlauf $c(x)$ in Abhängigkeit von x vor. Dieser ist ebenfalls in Abb. 6.7

eingezzeichnet. Das Verhältnis von Probenvolumen zu Kapillarvolumen bleibt im Bereich der Durchdringung beider Paraboloide konstant. Zwar nimmt der Abstand der beiden Kurven in der x-r Ebene mit $x(r)$ zu, jedoch nimmt gleichzeitig der zugehörige Radius r ab.

In Abbildung 6.8 ist der zeitliche Verlauf der Konzentration $c(t)$ (Gl. 3.25) am Ende der Probenschleife dargestellt. Zu Beginn ist die Konzentration Null, da die Spitze des vorderen Paraboloiden s_1 $t_{gep}=15\text{ sek}$ benötigt, um das Probenschleifenende zu erreichen. Danach durchläuft die Kappe des vorderen Paraboloiden das Ende der Schleife. Das Maximum $c_{max}(t)$ tritt bei 18 sek auf. Dies ist der Zeitpunkt, wenn die Spitze des Paraboloiden s_2 das Ende der Kapillaren erreicht. Diese Momentaufnahme der Strömung ist in Abbildung 6.7 dargestellt. Nach Erreichen des Maximums nimmt die Konzentration allmählich ab. Der hintere Paraboloid s_2 mit Lösungsmittel durchdringt den vorderen.

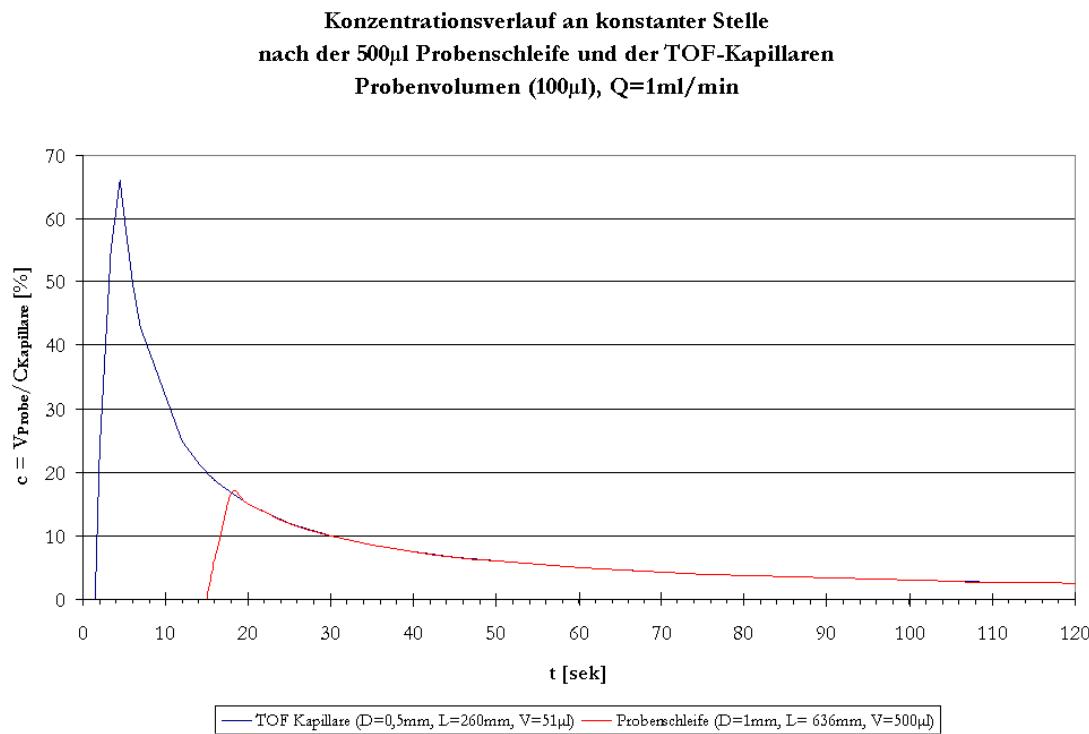


Abbildung 6.8: berechneter Konzentrationsverlauf in %, $500\mu\text{l}$ Schleife und TOF-Kapillare

Der Konzentrationsverlauf $c(t)$ am Ende der $500\mu\text{l}$ Schleife ist in Abbildung 6.8 darge-

stellt.

Die maximale Konzentration für die $100\mu l$ Probe nach der $500\mu l$ Probenschleife beträgt knapp 17%. Die Probe durchläuft noch weitere Kapillare, welche das selbe Phänomen hervorrufen. In Abbildung 6.8 ist weiterhin der Konzentrationverlauf am Ende der TOF-Kapillaren ($D=0,5mm$, $L=260mm$) dargestellt. Diese starke Verdünnung verursacht das Auflösen der Probe von der Probennahme zum TOF.

Auswertung

Abgesehen von der starken Verdünnung ist auch die Verzögerung des Eintreffens der Probe am TOF mit $2,4min$ bei $1ml/min$ und $5,5min$ bei $0,3ml/min$ zu groß. Die Dauer des Probentransports ohne Probenschleife liegt zwischen $9sek$ und $1min$ abhängig vom Volumenstrom ins TOF.

Eine Verkleinerung der Probenschleife hat zur Folge, dass sich der Weg und die Dauer von der Probennahme zur Analyse im TOF verringern. Eine Verringerung des Kapillarvolumens durch Verwendung einer dünneren TOF-Kapillare von beispielsweise $0,25mm$ Durchmesser hat eine etwa 16fache Druckerhöhung zur Folge und liegt dann bei knapp einem bar. Hinzu kommt, dass für den Aufbau mit und ohne $500\mu l$ Probenschleife das Totvolumen beim Ziehen der Probe, bedingt durch T-Stück ($6\mu l$) und Kapillare ($35mm$ lang, $0,7mm$ im Durchmesser), mit knapp $20\mu l$ nicht akzeptabel ist.

Zu dem Zeitpunkt der Konzeptüberprüfung stellte sich heraus, dass diese kleinen Proben von $20\mu l$ nicht zuverlässig entnommen wurden, ohne eine plausible Ursache finden zu können. Daraus resultierte die Entscheidung, dieses Konzept nicht umzusetzen. Die Ursache für die unstete Probennahme zeigte sich erst in einer folgenden Konzeptumsetzung. Grund ist, dass das Volumen des 3/2-Wege-Ventils mit $45\mu l$ weitaus größer ist als angenommen. Dadurch kam es zu einer Überlagerung einzelner Proben.

Eine Probennahme mit dem Konzept „aktive Probennahme“ wird als umsetzbar unter Berücksichtigung der geforderten Bedingungen eingeschätzt. Die Kapillaren sollten auf $0,25mm$ Durchmesser reduziert werden, bei einer baulich minimalen Länge von $35mm$. Der Aufbau muss ebenfalls dichter an das TOF heran, um die Strecke zum TOF zu minimieren. Das 3/2-Wegeventil von Bürckert muss mit einem Ventil mit kleinem Totvolumen ersetzt werden.

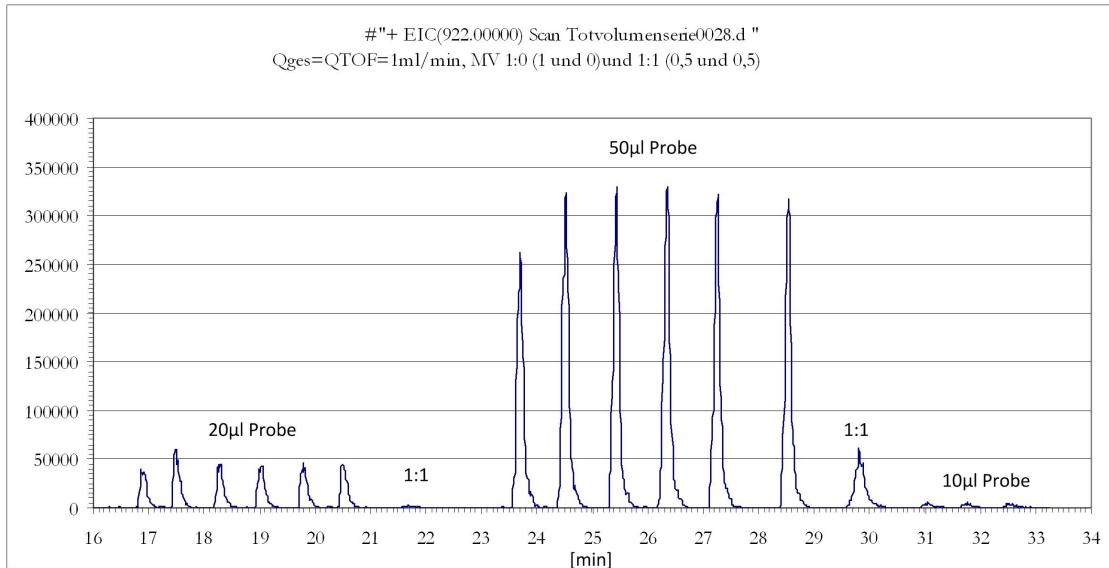


Abbildung 6.9: TIC: Probenentnahme ohne $500\mu\text{l}$ Probenschleife

Verdünnen der Probe

Das Konzept zum Verdünnen der Probe mittels eines T-Stücks und eines zusätzlichen Volumenstroms wurde ansatzweise überprüft. Dazu wurde ein Volumenstromverhältnis von $Q_{P3} : Q_{P4}$ von 1 : 1 gewählt mit einem Gesamtvolumenstrom $Q_{TOF} = 1\text{ml}/\text{min}$. In Abbildung 6.9 ist zu sehen, dass das Mischen zweier Lösungen in einem Volumenstromverhältnis von 1:1 in einem größeren Ausmaß Einfluss hat als angenommen, was dem Konzept sehr entgegenkommt. Hier verringert sich die Peakhöhe der $50\mu\text{l}$ Probe bei Mischen von $3,5 \cdot 10^5$ auf $7 \cdot 10^4$, also auf 1/5tel.

Zusammenfassung

In Bezug auf die oben genannten Anforderungen wurden die bisherigen Messungen ausgewertet. Vergleicht man die Ergebnisse mit den gewünschten Bedingungen einer online-Überwachung (Tab. 6.3), stellt sich heraus, dass diese nicht erfüllt werden.

Aufbau „aktive Probenentnahme“	Anforderung an online Überwachung
⊖ Minimale Probe: mit $500\mu l$ -Schleife: $100\mu l$ ohne $500\mu l$ Schleife: $10\mu l$	$5 - 10\mu l$
⊖ Gesamtstrecke der Probe ist lang Delay: mit $500\mu l$: $2,4min$ bei $1ml/min$, $5,5min$ bei $0,3ml/min$ ohne $500\mu l$: $1min$ bei $0,1ml/min$, $9sek$ bei $1ml/min$	⊕ Bei weitem kürzer -> Dauer $<10sek \downarrow$
⊖ Großes Totvolumen von $10U = 30\mu l$ bei Probenentnahme	⊕ Kein Totvolumen bei Probenentnahme
⊕ Reaktorkreislauf unabhängig von Probenentnahme	

Tabelle 6.3: Konzeptergebnisse

Ziel ist eine minimales Probenvolumen von $5 - 10\mu l$ mit einer Probenvorbereitungszeit sowie einer Analysedauer von insgesamt etwa $10sek$. Aus den gewonnenen Ergebnissen ist abzuleiten, dass das von der Probe durchlaufene Systemvolumen kleiner zu gestalten ist. Ebenfalls darf es bei der Probenentnahme bei diesen geringen Mengen kaum Totvolumen geben.

6.2.3 Konzept II - „kleine Volumina“

Abbildung 6.10 zeigt das Konzept „kleine Volumina“. Die verwendeten Komponenten und ihre Spezifikationen sind im Anhang Tabelle AA.1 aufgeführt.

6.2.3.1 Ablauf

Pumpe P1 repräsentiert den Volumenstrom des Reaktoroutputs und fördert die unverdünnte Probe kontinuierlich mit einem beliebigen Volumenstrom $Q_{Reaktor}$ durch die 3/2-Wegeventile V3, V4 und V5 in den 2ten 'Waste'. Die Probenentnahme erfolgt, indem V3

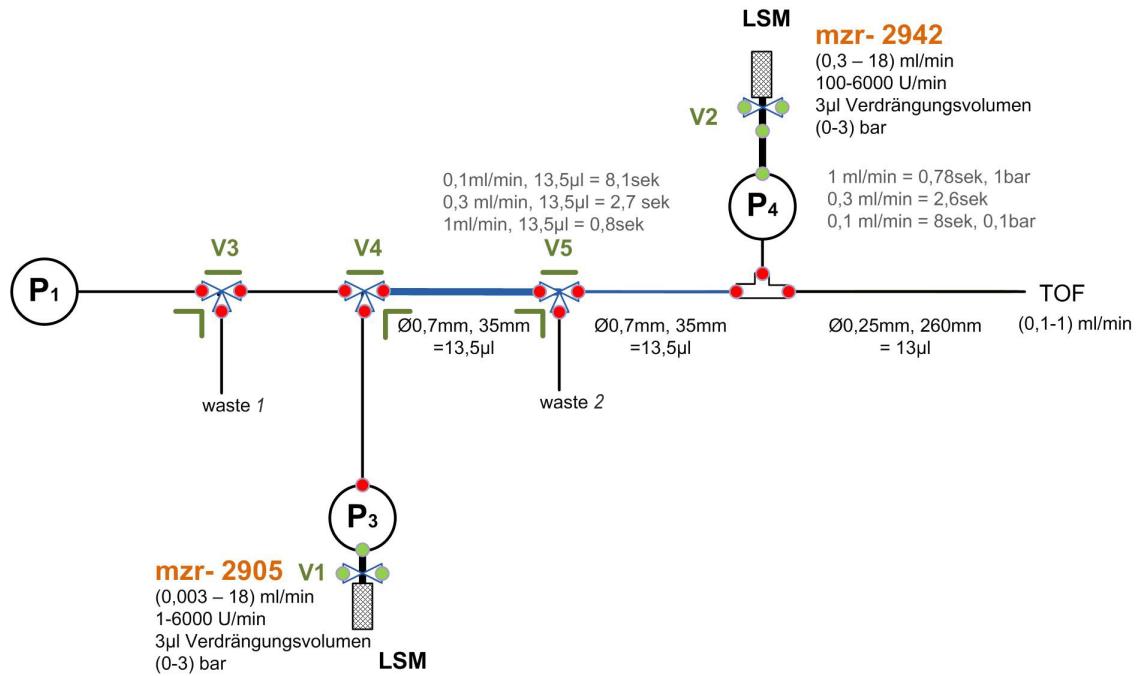


Abbildung 6.10: Aufbau - „kleine Volumina“

auf 'Waste' gestellt wird und der dem Reaktorfluss entsprechenden Probenfluss in den ersten 'Waste' gefördert wird. Gleichzeitig werden **V₄** und **V₅** geschaltet. Die gezogene Probe befindet sich zwischen dem Ventil **V₄** und **V₅** in dem blau markierten Bereich. Sie wurde durch Schalten der Ventile aus dem kontinuierlichen Fluss der Probe herausgetrennt. Die Länge beträgt 35mm , bei einem Durchmesser von $0,5\text{mm}$. Dies entspricht einem Probenvolumen von etwa $7\mu\text{l}$. Die Probe wird nun mit Ingangsetzen der Pumpe **P₃** in das TOF gefördert. Der Volumenstrom ist hierfür begrenzt auf $(0,1-1)\text{ml/min}$ (vgl. Spezifikationen ESI-TOF). Um eine kleinere Probe ins TOF zu fördert, dreht **P₃** die der Probe entsprechenden Umdrehungen und fördert die Teilprobe zwischen das Ventil **V₅** und das T-Stück. Danach schaltet **V₅** auf den 2ten 'Waste' und verwirft den Rest der

Probe. Ein erneutes Schalten von V5 fördert die Probe zur Analyse ins TOF. Auch hier gilt, dass die Probenentnahme die Reaktion im Reaktor nicht beeinflusst, da die Probenentnahme passiv erfolgt. Die Möglichkeit der Verdünnung der Probe ist weiterhin mit dem integrierten T-Stück-Mischer gegeben. Beachtet werden muss, dass der das T-Stück verlassende Gesamtvolumenstrom direkt in das TOF gefördert wird und maximal $1ml/min$ betragen darf. Das maximale Mischverhältnis MV beträgt theoretisch 1:333, wobei P3 mit minimalen Volumenstrom von $3\mu l/min$ und P1 mit $0,997ml/min$ fördert. Aus den Messungen des Aufbaus „aktive Probenentnahme“ lässt sich aber ableiten, dass derartige MV nicht benötigt werden. Hier fand bereits eine Signalverringerung auf 1/5tel der Intensität bei einem Volumenstromverhältnis von 1:1 statt. Ein weiterer Ansatz für die Beeinflussung der Signalintensität ist durch die Probenlänge möglich. Diese wird durch das geförderte Probenvolumen bestimmt und kann wenige μl betragen.

Das Systemvolumen wurde so klein wie möglich gestaltet. Die charakteristischen Probenwege sind die Kapillaren zwischen den zwei Ventilen V4 und V5 sowie zwischen Ventil V5 und T-Stück, welche baulich nicht kürzer als $35mm$ gestaltet werden können. Zum TOF hin muss eine Strecke von $260mm$ (Abstand des Aufbaus zum TOF) überbrückt werden. Je kleiner der Durchmesser der Kapillaren gewählt wird, desto geringer ist das Volumen innerhalb der Kapillaren, desto höher der Druckverlust. Die den Durchflüssen entsprechenden Druckverluste sind in Tabelle 6.4 zusammengefasst. Die Berechnung erfolgte entsprechend dem Gesetz von Hagen-Poiseuilles (vgl. Formel 3.14). Eine Kapillare mit einem Durchmesser von $0,25mm$ wurde als Kapillare zum TOF gewählt.

L [mm] $\eta[mPas]$	260 2,06	D [mm] Volumen [μl]	0,12 2,9	0,25 12,8	0,5 51,1	0,7 100,1		
Q [ml/min]	P [bar]	Dauer [sek]	P [bar]	Dauer [sek]	P [bar]	Dauer [sek]	P [bar]	Dauer [sek]
0,1	1,75	29,41	0,09	127,63	0,006	510,51	0,002	1000,60
0,2	3,51	14,70	0,19	63,81	0,012	255,25	0,003	500,30
0,3	5,26	9,80	0,28	42,54	0,017	170,17	0,005	333,53
0,4	7,02	7,35	0,37	31,91	0,023	127,63	0,006	250,15
0,5	8,77	5,88	0,47	25,53	0,029	102,10	0,008	200,12
0,6	10,52	4,90	0,56	21,27	0,035	85,08	0,009	166,77
0,7	12,28	4,20	0,65	18,23	0,041	72,93	0,011	142,94
0,8	14,03	3,68	0,74	15,95	0,047	63,81	0,012	125,07
0,9	15,79	3,27	0,84	14,18	0,052	56,72	0,014	111,18
1	17,54	2,94	0,93	12,76	0,058	51,05	0,015	100,06

Tabelle 6.4: TOF-Strecke, Druckverlust und Durchströmdauer in Abh. von der Länge und vom Durchmesser

6.2.3.2 Ergebnisse - "kleine Volumina"

6.2.3.2.1 Druckverluste

Pro Umdrehung fördert die Pumpe $3\mu l$, also $V_U = 3\mu l/U$. Dreht die Pumpe mit einer bestimmten Drehzahl n fördert sie einen Volumenstrom entsprechend dem Zusammenhang $Q = n \cdot V_U$.

Aufgrund von Druckverlusten innerhalb des Systems weicht der tatsächliche Volumenstrom der Pumpen vom Sollvolumenstrom ab. Anders ausgedrückt ergeben sich auch bei gleicher Drehzahl der Pumpe unterschiedliche Volumenströme abhängig vom Gegendruck und der Viskosität. Diesen Zusammenhang zeigen die Pumpenkennlinien (vgl. Abb. 6.11).

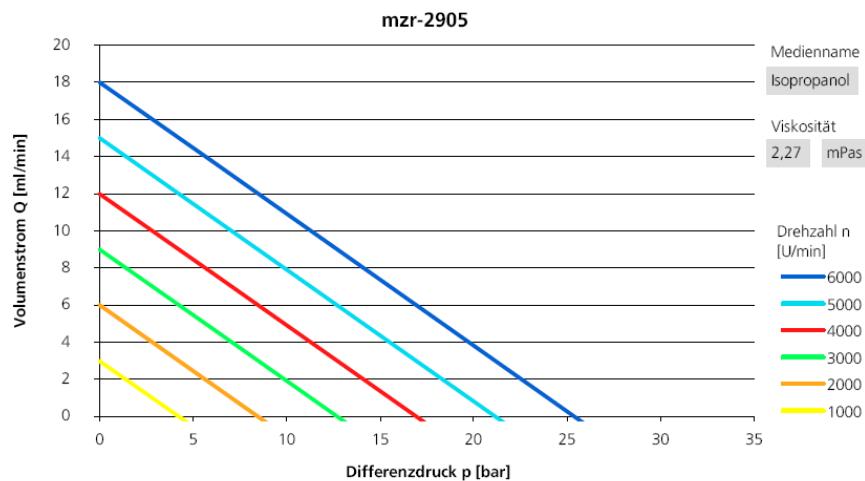


Abbildung 6.11: Pumpenkennlinie, mjr-2905, für Isopropanol

Mit zunehmenden Druck nimmt der Volumenstrom ab, bis dieser zum Stillstand kommt. Für verschiedene Drehzahlen kann anhand der Kennlinie bei Kenntnis des Gegendruckes der ungefähre tatsächliche Volumenstrom abgelesen werden. Die Firma HNP Mikrosysteme GmbH, der Vertreiber der mjr2905 Mikrozahnringpumpe, berechnet bei Kenntnis der vorliegenden Druckverluste im System, sowie der Viskosität der durchströmenden Fluide für die benötigten Volumenströme die unter diesen Bedingungen notwendigen Drehzahlen der Pumpe. Die genutzte Software ist eine firmeninterne Software mit den spezifischen

Parametern der Pumpe.¹

Für die Berechnung der Drehzahlen zu den Volumenströmen wurden die Druckverluste im System spezifiziert und berechnet.

Der Gegendruck setzt sich aus den Druckverlusten der Einzelverluste zusammen und wird im Folgenden beschrieben.

Der Verlust über der Kapillarlänge aufgrund der Reibung berechnet sich aus

$$\Delta p_L = \lambda \frac{L}{d} \frac{\rho}{2} \bar{v}^2 \quad (6.22)$$

mit $\lambda = \frac{64}{Re}$, welche sich über Umformung und unter Beachtung der Kontinuitätsbeziehung $Q = \bar{v} \cdot A$ aus dem Gesetz nach Hagen-Poiseuilles ergibt (vgl. Formel 3.14).

Zusätzlich zum Rohrreibungsanteil summieren sich die Druckverluste durch Umlenkungen, Querschnittsveränderungen, Verteilungen und Ablösungen. Im Aufbau 'kleine Volumina' durchströmt das Fluid angefangen bei P3 zwei Ventile und ein T-Stück. Außerdem findet beim Übergang vom T-Stück eine spontane Querschnittsverringerung von 0,6mm auf 0,25mm statt.

Die allgemeine Formel für die Berechnung der Druckverluste ist folgende:

$$\Delta p_{v,zus} = \zeta \cdot \frac{\rho}{2} \bar{v}^2 \quad (6.23)$$

ζ ist der Widerstandsbeiwert.

Für das 3/2 Wegeventil von Brückert wird ein k_v -Wert von $0,006m^3/h$ bei einer Nennweite des Ventils von 0,6mm angegeben. Mit dem Zusammenhang aus Bohl und Elmendorf [2008](Seite 181)

$$\zeta = \frac{1}{625} \cdot \left(\frac{d^2}{k_v}\right)^2 \quad d \text{ in mm} \quad (6.24)$$

ergibt sich der Widerstandsbeiwert zu $\zeta_{Ventil} = 5,76$ für das 3/2 Wegeventil.

1 Hinweis der Firma HNPM: Die Berechnung beruht auf inneren Leckage und daraus resultierenden Wirkungsgraden, die aus Vermessung einer größeren Anzahl von Pumpen ermittelt sind. Die berechneten Arbeitspunkte dienen zur Auslegung von Pumpen und liegen auf der sicheren Seite. Allgemein ergeben sich bei Versuchen mit einzelnen Pumpen bessere Wirkungsgrade und damit geringere Drehzahlen als berechnet.

Die Widerstandszahl der Rohrverengung kann näherungsweise aus der Kontraktionszahl Φ bestimmt werden. Mit dem Querschnittsverhältnis $A_2/A_1=0,13$ ergibt sich aus dem Diagramm (vgl. Bohl und Elmendorf [2008], S.197) eine Kontraktionszahl von $\Phi = 0,61$ und nach

$$\zeta \approx \left(\frac{1 - \Phi}{\Phi} \right)^2 \quad (6.25)$$

ein Widerstandsbeiwert von $\zeta = 0,61$. Die einzelnen Strömungswiderstände sind in Reihe hintereinander geschaltet. Somit ist der Gesamtdruckverlust Δp_{ges} gleich der Summe der Einzeldruckverluste.

$$\Delta p_{ges} = p_{Kapillare} + p_{Ventil} + \dots + p_{Verengung} \quad (6.26)$$

In Tabelle 6.5 sind für den Volumenstrombereich Q_{TOF} von $0,1ml/min$ bis $1ml/min$ die berechneten Druckverluste aufgezeigt. Betrachtet wurden die Druckverluste der $0,7mm$ Kapillaren (Δp_{L07}), der $0,25mm$ TOF-Kapillaren (Δp_{LTOF}), der zwei $3/2$ -Wegeventile ($2 \cdot \Delta p_{Ventil}$) und der Rohrverengung (Δp_{Vereng}), wobei die zwei letztgenannten vernachlässigbar klein sind.

In Abbildung 6.12 sind abhängig vom ermittelten Druckverlust und dem geforderten Volumenstrom die durch HNPM ermittelten Drehzahlen (Arbeitspunkte) dargestellt. Dem gegenübergestellt sind die experimentellen Ergebnisse. Dazu wurden an der Pumpe verschiedene Drehzahlen eingestellt. Die Messung wurde mit Isopropanol mit der Viskosität $2,3mPas$ durchgeführt. Am Ende der TOF-Kapillaren des Probennahmesystems wurden

Q [ml/min]	Δp_{L07} [bar]	Δp_{LTOF} [bar]	Δp_{Ventil} [bar]	Δp_{Vereng} [bar]	Δp_{ges} [bar]
0,1	0,001	0,104	7,85E-07	2,76E-06	0,11
0,2	0,003	0,208	3,14E-06	1,10E-05	0,21
0,3	0,004	0,312	7,07E-06	2,48E-05	0,32
0,4	0,005	0,416	1,26E-05	4,42E-05	0,42
0,5	0,007	0,520	1,96E-05	6,90E-05	0,53
0,6	0,008	0,624	2,83E-05	9,94E-05	0,63
0,7	0,009	0,728	3,85E-05	1,35E-04	0,74
0,8	0,010	0,832	5,03E-05	1,77E-04	0,84
0,9	0,012	0,936	6,36E-05	2,24E-04	0,95
1	0,013	1,040	7,85E-05	2,76E-04	1,05

Tabelle 6.5: berechnete Druckverluste der $0,7mm$ Kapillaren, der TOF-Kapillaren, der $3/2$ Wegeventile und der Rohrverengung im Konzept „kleine Volumina“, $\eta=2,3mPas$ (Isopropanol)

für eine Dauer t kontinuierlich Proben in ein GC-Vial entnommen. Die Proben wurden gewogen und mit der Dichte das Volumen berechnet. Aus dem Verhältnis vom Volumen zur Dauer t ergibt sich die tatsächliche Durchflussrate.

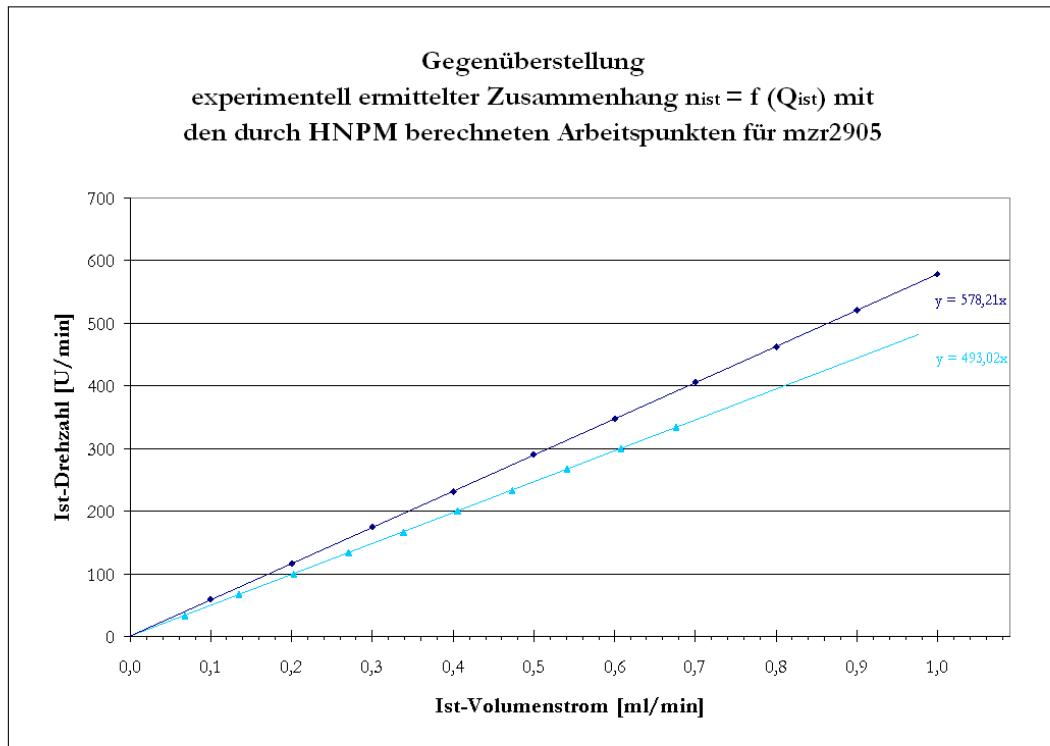


Abbildung 6.12: Gegenüberstellung der durch HNPM berechneten Arbeitspunkte (schwarz) und der experimentell ermittelten Drehzahlen (blau) - Konzept „kleine Volumina“

Es zeigt sich ein linearer Zusammenhang sowohl der berechneten als auch der experimentellen Werte über dem gesamten Bereich. Die experimentell ermittelten Drehzahlen sind kleiner als die von HNPM berechneten. Dies stimmt mit der Aussage von HNPM überein, da die berechneten Drehzahlen zur Auslegung der Pumpen dienen und somit auf der 'sicheren Seite' liegen (vgl. Kap. 6.2.3.2.1).

Weiterhin kommt es zu Ungenauigkeiten in der Berechnung der Druckverluste. Sind mehrere Rohrbauelemente unmittelbar hintereinander geschaltet, dürfen die ζ -Werte nicht einfach addiert werden, da die Zu- und Abströmverhältnisse nicht mehr den Versuchsbedingungen auf einem Prüfstand entsprechen. D.h. die Elemente in Reihe beeinflussen ihr Verhalten gegenseitig und es müssen besondere Versuche zur Ermittlung des Druckver-

lustes durchgeführt werden.

Der Durchfluss wurde in der Software mit $Q = 493 \cdot n \cdot V_U = 1,47 \cdot n$ korrigiert. Dieser Zusammenhang ergab sich aus der linearen Regression.

6.2.3.2.2 Messung

Abbildung 6.13 zeigt den TIC (Totalionenstrom) und das extrahierte Signal (EIC) für das Masse-Ladungsverhältnis $m/z = 922$. Das in das TOF geförderte Probenvolumen liegt zwischen $1\mu\text{l}$ und $10\mu\text{l}$. Der Totalionenstrom (violett) ist für jedes Probenvolumen ähnlich. Die Peaks der Probe (blau) steigen mit zunehmenden Probenvolumen an. Bereits bei einem Probenvolumen von $1\mu\text{l}$ konnte ein Signal detektiert werden mit einer Peakhöhe von 2000.

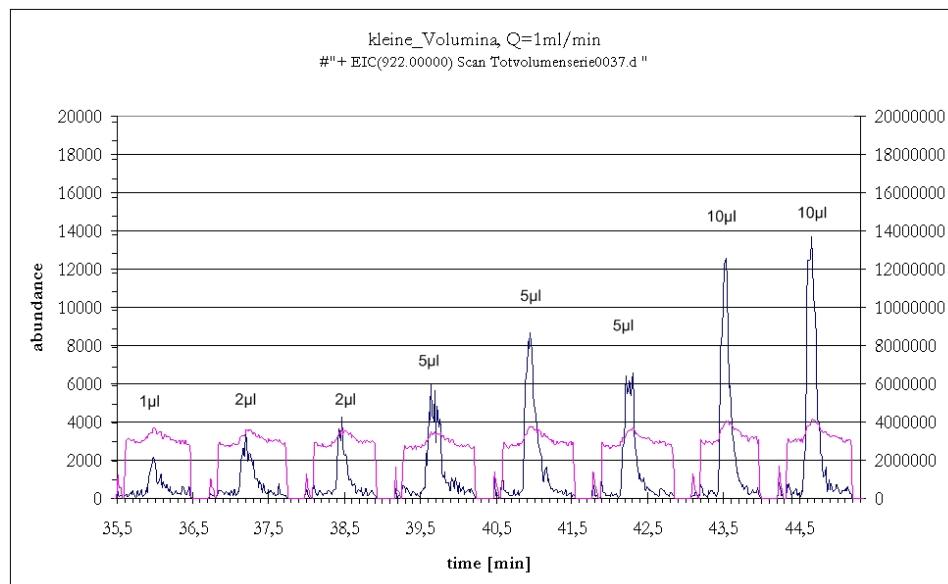


Abbildung 6.13: Signal für verschiedene Probenvolumina

Während der Messungen zeigte sich, dass weitaus mehr Probe in das TOF gefördert werden kann als durch den Probenabschnitt zwischen V3 und V4 entnommen wurde, ursächlich dadurch, dass im System ein größeres Totvolumen vorliegen muss. Nach Rücksprachen mit dem Ventillieferanten ergab sich nach einer vorherigen Fehlinformation, dass

die Totvolumina der verwendeten Ventile von Bürckert im Vergleich zu den zu fördernden Probenvolumina hoch sind. Für das 3/2-Wegeventil ist ein Totvolumen von $45\mu l$ und $35\mu l$ für das 2/2-Wegeventil angegeben. Somit erklärt sich auch, warum bei einem Probenvolumen von $7\mu l$ deutlich mehr Probe ins TOF gefördert werden konnte als entnommen wurde. Auch die 3/2-Wegeventile anderer Hersteller erfüllten dieses Kriterium, Totvolumen $<$ Probenvolumen, nicht. Die 3-Way Solenoid Valves (inert) von Lee (www.theleeco.com) variieren zwischen $130\text{--}150\mu l$ Totvolumen. Alternativ kann ein 2-Positions-Ventil mit 4 Ports von Vici Valco (EDC4UW) verwendet werden mit einem geringen Totvolumen von $7\mu l$. Einer der Ports muss dazu verschlossen werden, die drei anderen entsprechend dem 3/2-Wegeventil verbunden werden. Die Kosten dieses Ventils sind vergleichsmäßig hoch. Im Konzept „kleine Volumina“ hätten drei Ventile ausgetauscht werden müssen. Da jedes dieser Ventile nacheinander von der Probe durchflossen wird, addieren sich die einzelnen Totvolumina auf, so dass das Gesamttotvolumen der Ventile auch dann zu groß ist.

6.2.3.2.3 Auswertung

Bei der Probenentnahme müssen weit mehr als die angestrebten 5 bis $10\mu l$ Probe entnommen werden, da sonst nicht sichergestellt werden kann, dass sich tatsächlich die Probe des aktuellen Reaktionsstadiums in der Probenschleife und den Ventilen befindet. Eine somit zu ziehende Probe von $100\mu l$ entspricht $< 1\%$ des Reaktorinhaltens. Um im TOF ein Signal mit schmaler Peakbreite zu erhalten, darf die Probe nicht zu groß sein. Mit den Pumpen können sehr exakte kleine Probenmengen gefördert werden. Dabei entspricht eine Umdrehung der Pumpe einer Probe von $3\mu l$. Die minimale Probenmenge entspricht einer halben Umdrehung. Wenn das Ventil V4 vollständig mit Probe gefüllt ist, kann die Pumpe ein exaktes Volumen von wenigen μl in Richtung des TOFs fördern. In dem Moment spielt das Totvolumen des Ventils keine Rolle. Der Rest der Probe sowohl im Ventil als auch in der Kapillaren wird verworfen. Die zu ziehende Probe muss aber mehr als $100\mu l$ betragen, um das Ventil V3 vollständig füllen zu können. Die Dauer, bis die gezogene Probe ins TOF zur Analyse gelangt, beträgt bei einem Volumenstrom $Q_{TOF} = 1ml/min$ 16sek und erfüllt somit die gestellte Anforderung nicht. Die Umsetzung dieses Konzeptes wurde nicht weiter verfolgt.

In Tabelle 6.14 sind die Ergebnisse der Konzepte I und II noch einmal zusammengefasst.

Aufbau	minimale Probe	Totvolumen	Dauer	Signalstärke height
aktive Probenahme mit 500µl	100µl	20µl	2,4min (1ml/min) 5,5min (0,3ml/min)	
ohne 500µl	10µl	20µl	9sek (1ml/min) 1min (0,1ml/min)	10µl: 5000 20µl: 50000 darunter kein Signal
kleine Volumina	<5µl		16sek (1ml/min)	1µl:1500 5µl:4000-10000 10µl:10000-15000

Abbildung 6.14: Gegenüberstellung der Aufbauten: Konzept I - „aktive Probenentnahme“ und Konzept II - „kleine Volumina“

6.2.4 Konzept III - „Strömungsphysik“

Die Grundidee des Konzepts ist, den austretenden Volumenstrom aus dem Reaktor direkt ins TOF zu geben. Dies ermöglicht eine ständige Überwachung der Reaktion. In Abbildung 6.15 ist der prinzipielle Aufbau dargestellt.

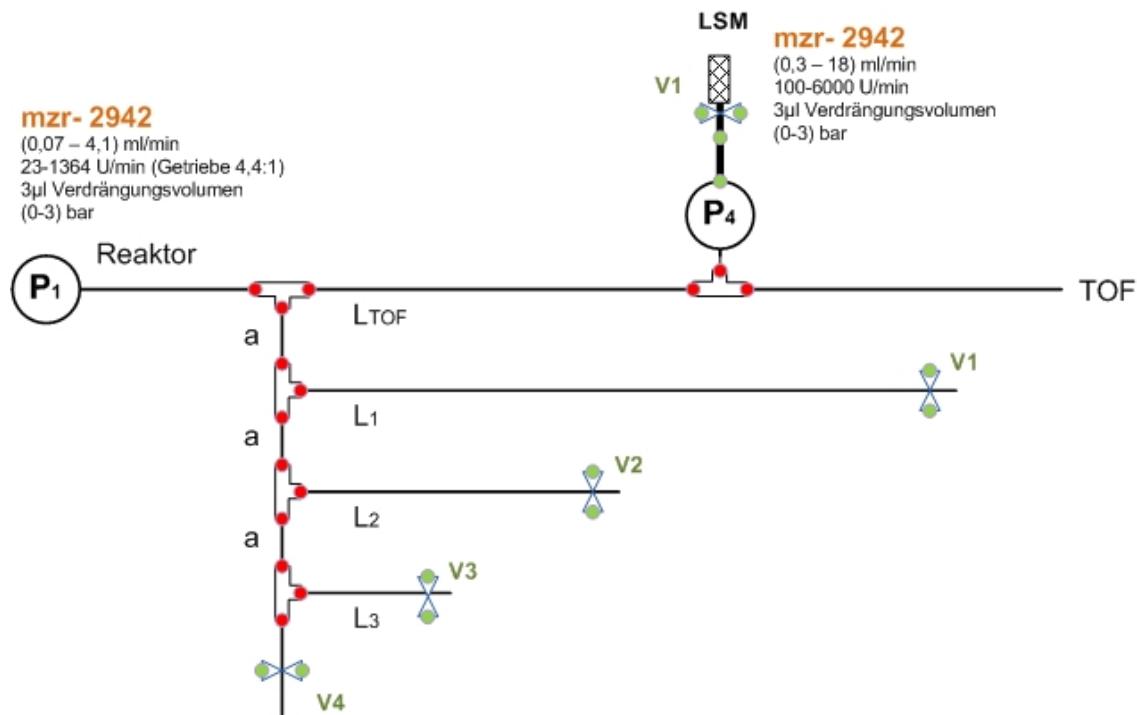


Abbildung 6.15: Aufbau - „Strömungsphysik“

6.2.4.1 Ablauf

Pumpe P1 repräsentiert wiederum den Reaktoroutput. Mit den integrierten Ventilen V1 bis V4 können Abzweige verschlossen werden. Der Volumenstrom teilt sich entsprechend den geltenden strömungsphysikalischen Gesetzen auf die offenen Abzweige auf. Die Probe wird direkt ins TOF geleitet und durchfließt kein Ventil und somit auch kein zusätzliches Totvolumen. Da die Volumenstromspanne des Reaktors höher ist als der maximal zugelassene Volumenstrom ins TOF, muss der kontinuierlich austretende Volumenstrom so geteilt werden, dass maximal ein Volumenstrom von $1ml/min$ ins TOF gelangt. Dazu kann das Prinzip der Strömungsphysik genutzt werden, das besagt, dass mit Zunahme des Strömungswiderstandes in einem Rohr bzw. einer Kapillaren bei gleich bleibendem Druckverlust sich der Durchfluss verringert.

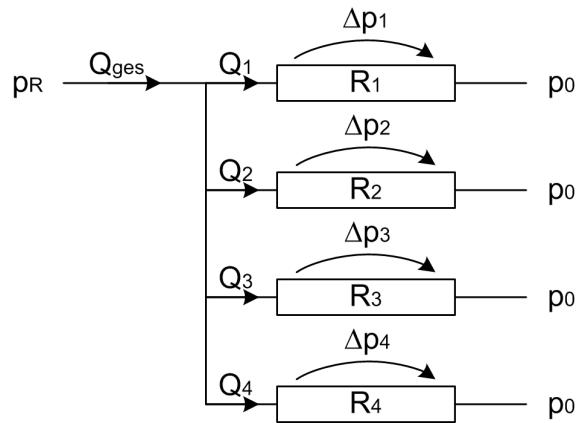


Abbildung 6.16: URI

6.2.4.2 Prinzip des Konzepts

Aquivalent zu dem Ohmschen Gesetz aus der Elektrotechnik gilt $I = \frac{U}{R} \rightarrow Q = \frac{\Delta p}{R}$. Mit $R = \frac{8\eta l r_0^4}{\pi}$ ergibt sich das Gesetz von Hagen-Poiseuilles (vgl. 3.14). Bei einer Parallelschaltung der Widerstände ergibt sich der Gesamtwiderstand aus dem Reziproko der Summe der Einzelwiderstände:

$$\frac{1}{R_{ges}} = \sum \frac{1}{R_n} \quad (6.27)$$

Das Fluid strömt an den Enden der Kapillaren frei in einen Umgebungsdruck von p_0 aus. Dies wird ebenfalls für die in das TOF führende Kapillare angenommen, da in der

ESI-Quelle kein Vakuum sondern Atmosphärendruck herrscht. Da vor der Verzweigung der Kapillaren der gleiche Druck herrscht, muss der Druckverlust Δp über jedem Abzweig gleich sein. Aus diesem Zusammenhang und dem Gesetz von Hagen-Poiseuilles ergibt sich ein direkter Zusammenhang zwischen den Durchflüssen durch die einzelnen Kapillaren und ihrer Geometrie.

$$Q_n = \frac{\Delta p}{R_n} = \frac{Q_{Reaktor} R_{Ges}}{R_n} = Q_{Reaktor} l_n \left(\frac{l_1 l_2 l_3 l_4}{l_2 l_3 l_4 + l_1 l_3 l_4 + l_1 l_2 l_4 + l_1 l_2 l_3} \right) \quad (6.28)$$

Dieses Prinzip der Regelung des Durchflusses über die Widerstände in den verzweigten Kapillaren, speziell über die Länge der Kapillaren, findet hier Anwendung.

Das Verhältnis der Durchflüsse in den einzelnen Fluidsträngen ist unabhängig von der Dichte und Viskosität des durchströmenden Fluides. Da der Durchfluss des Reaktoroutputs zwischen $0,14 ml/min$ und $8 ml/min$ variiert, muss das Aufteilen des kontinuierlichen Volumenstroms flexibel gestaltet werden. Um den Volumenstrom ins TOF für jeden ganzzahligen Volumenstrom des Rektors auf $1 ml/min$ reduzieren zu können, sind drei Abzweige zusätzlich zur TOF-Kapillaren notwendig.

Aus den Berechnungen nach Formel 6.28 ergeben sich die Längen der Kapillaren und somit ihr Widerstand bei gleichem Durchmesser in einem Verhältnis von 4:4:2:1 (LTOF:L1:L2:L3). Setzt man die ermittelten Längenverhältnisse der Kapillaren in 6.28 ein, ergibt sich für die Durchflüsse durch die einzelnen Kapillaren der folgende vereinfachte Zusammenhang.

$$Q_n = Q_{TOF} = \frac{1}{8} \frac{l_1}{l_n} Q_{Reaktor} \quad (6.29)$$

Dieser gilt, wenn alle Ventile offen sind und die vier Kapillaren durchströmt werden. In Tabelle 6.6 entspricht dies der letzten Spalte für einen Reaktorvolumenstrom von $Q_{Reaktor} = 8 ml/min$.

Werden ein oder mehrere Ventile geschlossen, verändert sich der Gesamtwiderstand R_{Ges} . Zum Beispiel für V3 geschlossen ergibt sich für die Durchflüsse:

$$Q_n = Q_{TOF} = \frac{1}{6} \frac{l_1}{l_n} Q_{Reaktor} \quad (6.30)$$

Dies entspricht der Spalte 6 der Tabelle 6.6.

Dabei ist die in Klammern gesetzte Angabe hinter der Ventilstellung der theoretische Volumenstrom durch die entsprechenden Abzweige L1, L2 und L3.

Bei einem Durchfluss von $Q_{Reaktor} \leq 1$ wird dieser nicht geteilt und direkt ins TOF geleitet. In dem Aufbau 6.15 entspricht dies dem Fall, dass die Ventile V1, V2 und V3 geschlossen ($V1=V2=V3=0$) sind. Dabei ist:

$$Q_1 = Q_{TOF} = \frac{l_1}{l_1} Q_{Reaktor} \quad (6.31)$$

Beträgt der Volumenstrom z.B. $2ml/min$, wird das Ventil V1 geöffnet ($V1=1$) und der Volumenstrom teilt sich im Verhältnis der Kapillarwiderstände in zwei gleich große Volumenströme von $1ml/min$. Beträgt er $3ml/min$, wird das Ventil V2 geschlossen und V3 geöffnet und Q_{TOF} beträgt wiederum $1ml/min$. Die Ventilpositionen und die daraus folgenden theoretischen Volumenströme der einzelnen Stränge sind für die Durchflussspanne des Reaktors in Tabelle 6.6 angegeben.

Volumenstrom [ml/min]	≤ 1	≤ 2	≤ 3	≤ 4	≤ 5	≤ 6	≤ 7	≤ 8
(TOF [ml/min])	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
V1 (L1 [ml/min])	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
V2 (L2 [ml/min])	0 (0)	0 (0)	1 (2)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	1 (2)
V3 (L3 [ml/min])	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4)	1 (4)	1 (4)	1 (4)

Tabelle 6.6: Schaltvorschrift der Ventile und resultierende theoretische Volumenströme in Klammern, 0=zu, 1=auf

Für dazwischenliegende Durchflüsse wird die Ventilposition des jeweils höheren Volumenstroms gewählt. Dadurch ist der ins TOF gelangende Volumenstrom geringer als $1ml/min$.

Ist es nötig die Probe zu verdünnen beziehungsweise ihr polares Lösungsmittel hinzuzufügen, wird dem Fluss ins TOF über ein T-Stück Lösungsmittel durch Pumpe P4 hinzugefügt. Da der Durchfluss ins TOF maximal $1ml/min$ betragen darf und ein Mischungsverhältnis von 1:1 angestrebt wird, müssen die Einzelvolumenströme der Kapillaren halbiert werden. Dies erreicht man durch einen weiteren Abzweig der Länge L4 mit dem Ventil V4. Das Verhältnis der Längen bei gleichen Durchmesser beträgt 8:8:4:2:1 (LTOF:L1:L2:L3:L4). Die Schaltpositionen (1=auf, 0=zu) und Durchflüsse sind ebenfalls in Tab. 6.7 zusammengefasst.

Nun stellt sich noch die Frage der Kapillardurchmesser und -längen. Ziel dabei sind kleinstmögliche Wege und ein geringer Durchmesser um ein möglichst präzises Signal

$Q_{Reaktor}$ [ml/min]	$\leq 0,5$	≤ 1	≤ 2	≤ 3	≤ 4	≤ 5	≤ 6	≤ 7	$\leq 7,5$	≤ 8
TOF	(0,5)	(0,5)	(0,5)	(0,5)	(0,5)	(0,5)	(0,5)	(0,5)	(0,5)	(0,5)
V1	0 (0)	1(0,5)	1(0,5)	1 (0,5)	1 (0,5)	1 (0,5)	1 (0,5)	1 (0,5)	0 (0)	1 (0,5)
V2	0 (0)	0 (0)	1(1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
V3	0 (0)	0(0)	0 (0)	1 (2)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	1 (2)	1 (2)
V4	0 (0)	0(0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4)	1 (4)	1 (4)	1 (4)	1 (4)

Tabelle 6.7: Schaltvorschrift der Ventile und resultierende theoretische Volumenströme in Klammern, 0=zu, 1=auf, halbiert

zu erhalten. In Tab.6.8 ist für eine Länge der Kapillaren von $200mm$ für zwei Durchflüsse der Druckverlust für verschiedene Kapillardurchmesser angegeben. Mit Abnahme des Durchmessers nimmt der Druckverlust quadratisch zu. Die Entscheidung fiel auf den Durchmesser von $0,5mm$, da hier der Druckverlust durch die HNPM-Pumpen noch leicht zu bewerkstelligen ist, bei möglichst geringem Volumen der Kapillaren. Die Längen der Kapillaren wurden wie folgt gewählt, vgl. Abb.6.16:

$(LTOF:L1:L2:L3:L4) = (280:280:140:70:35)mm$. Die Verbindungsstücke a hätten bei gleichem Durchmesser der Kapillaren einen beachtlichen Einfluss. Um dies zu umgehen, wurden Kapillaren mit einem Innendurchmeser von $1mm$ bei einer kleinstmöglichen Länge von $35mm$ gewählt. Dadurch liegt die Summe der Druckverluste über allen Verbindungsstücken a mit einem 150tel deutlich unter dem beispielsweise letzten Kapillarabschnitt L4 und kann somit vernachlässigt werden. Sobald durch die Verbindungsstücke ein vergleichbarer Druckverlust wie in den Kapillaren hervorgerufen würde, funktioniert die Aufteilung des Volumenstroms in den gewünschten Verhältnissen nicht mehr.

$L = 200mm$
$\eta = 2,4mPas$
Kapillardurchmesser [mm]
0,15 0,25 0,5 0,7 1,0
Volumen [μl]
2,2 9 39 77 157
Druck [bar] für $Q = 1ml/min$
16 0,83 0,052 0,014 0,003
Druck [bar] für $Q_{max} = 4ml/min$
62 3,3 0,21 0,05 0,013

Tabelle 6.8: berechnete Druckverluste einer $200mm$ Kapillare in Abhängigkeit vom Durchmesser und Volumenstrom

Der Druckverlust über der Länge ist jedoch nicht der einzige Verlust. Er setzt sich weiterhin zusammen aus den Ein- und Ausgangsverlusten, Verlusten durch Änderungen der Fließrichtung und Verlusten durch Ventile und T-Stücke. Diese werden nach der Formel

vgl. Gl.3.15 berechnet.

$$dp = \zeta \frac{\rho}{2} \bar{v}^2 \quad (6.32)$$

Werte für die Verluste durch Rohrverzweigungen sind in Abb. 6.17 für verschiedene Volumenstromverhältnisse und Winkel der Abzweigung angegeben. Da die integrierten Abzweigungen allesamt T-Stücke sind, sind die Kurven mit den Werten für $\varphi = 90^\circ$ von Interesse.

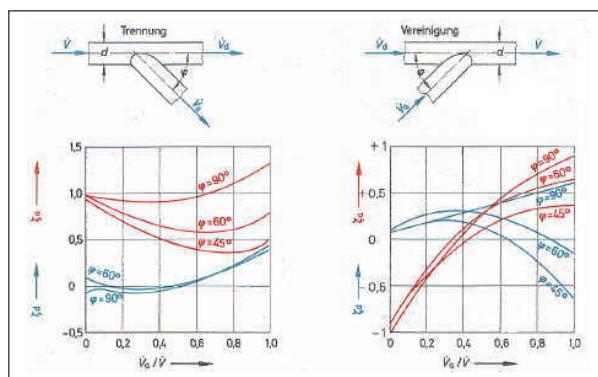


Abbildung 6.17: Widerstandsbeiwerte von Abzweigstücken (Quelle: Bohl und Elmendorf [2008])

Das Verhältnis der Durchflüsse variiert von 0,125 bis 1,2 abhängig vom Reaktordurchfluss und den Ventilpositionen. Auch mit einem maximal angenommenen Widerstandsbeiwert von $\zeta = 1,3$ liegt der Druckverlust, verursacht durch ein T-Stück, bei einer Größenordnung von $10^{-1} mbar$. Für Verluste durch Ventile wird ein Widerstandsbeiwert von $\zeta = 10$ (hoher angenommener Wert) angegeben. Die Größenordnung des Druckverlustes liegt bei $10^{-1} mbar$. Der Reibungsverlust über der Länge liegt bei etwa $10^2 mbar$ und ist somit zwei Zehnerpotenzen größer als die Ventil- und Verzweigungsverluste. Somit sind auch diese Verluste vernachlässigbar.

6.2.4.3 Ergebnisse - „Strömungsphysik“

Basierend auf der ersten Pumpenkonfiguration mit den HNPM Mikrozahnringpumpen liegt der Volumenstrom im Reaktor zwischen $(0,14-8) ml/min$. Daraus ergibt sich bei einem Reaktorvolumen von $11ml$ ein Reaktionszeitraum von $1,3min$ bis $1h$. Für einen $4ml$ Reaktor verringert sich der Reaktionszeitraum auf $30sek$ bis $30min$.

Der Nachteil dieses Konzeptes ist, dass der Reaktor und die Probenvorbereitung gekop-

pelt sind und das Konzept somit an diese Volumenstromspanne gebunden ist.

Es wurde eine Messreihe mit den berechneten Kapillarlängen aufgenommen. Dabei wurde zu verschiedenen Durchflussraten und Ventilstellungen entsprechend der Schaltvorschrift 2 (vgl. Tabelle 6.7) der am TOF-Kapillarenden ankommende Volumenstrom gemessen und mit den theoretischen Werten verglichen. Die Bestimmung des Volumenstroms erfolgte durch das Auffangen und Wägen der geförderten Menge in ein GC-Vial. Aus dem bestimmten Volumen lässt sich mit der Auffangzeit der tatsächliche Volumenstrom bestimmen. Danach wurden die Kapillarlängen solange angepasst und erneut gemessen, bis der Volumenstrom am TOF etwa bei $0,5\text{ml}/\text{min}$ lag. Daraus ergaben sich die Kapillarlängen (TOF:L1:L2:L3:L4) zu 385:280:180:70, mit $D = 1\text{mm}$ der T-Stücke und 1mm Durchmesser und 35mm Länge der Verbindungsstücke. Für die eingehenden Volumenströme $Q_{Reaktor}$ sind die mit den entsprechenden Ventilschaltungen ins TOF Volumenströme in Tabelle 6.9 dargestellt.

	8	7,5	7	6,5	6	5,5	5	4,5
$Q_{Reaktor}$ ml/min								
Q_{TOFexp} ml/min	0,56	0,54	0,53	0,53	0,50	0,47	0,50	0,48
$Q_{Reaktor}$ ml/min	4	3,5	3	2,5	2	1,5	1	0,5
Q_{TOFexp} ml/min	0,40	0,39	0,39	0,37	0,41	0,38	0,50	0,47

Tabelle 6.9: experimentell bestimmter Volumenstrom ins TOF

Der durchschnittliche Volumenstrom ins TOF beträgt für diese Konfiguration $0,46\text{ml}/\text{min} \pm 0,09\text{ml}/\text{min}$. Die Werte der anderen Kapillarströme sind nicht von Interesse, da sie in den 'Waste' gefördert werden. Die Anpassung der Kapillarlängen ist aufwendig. Wird eine Kapillare verändert, zieht dies immer eine Veränderung aller Kapillarvolumenströme über der gesamten Volumenstromspanne des Reaktors nach sich. Dies macht die Anpassung der Kapillarlängen, um einen konstanten Volumenstrom von $0,5\text{ml}/\text{min}$ ins TOF zu erhalten, schwierig. Prinzipiell ist aber eine Verbesserung in der Konstanz des TOF Volumenstroms möglich.

Daraufhin wurde der Aufbau an das TOF gekoppelt. Es konnte kein Signal am TOF detektiert werden. Die Diagnose ergab, dass die Probe nicht ins TOF gelangt. Grund dafür

musste ein höherer Gegendruck sein. Daraufhin wurde der Druckverlust am TOF-Eingang bestimmt. Die Ergebnisse sind im folgenden Absatz 6.2.5 nachzulesen.

Abschließend kann man sagen, dass für die Umsetzung leistungsstärkere Pumpen als die Mikrozahnringpumpen für den Reaktorkreislauf benötigt werden. Die prinzipielle Funktion der Aufteilung der Volumenströme wie berechnet wurde bestätigt, eine Anpassung der Kapillarlängen an den höheren Druckverlust am TOF muss erfolgen. Ob eine kontinuierliche Probenzufuhr zum TOF günstig ist, konnte noch nicht untersucht werden, da dieses Konzept nicht weiter verfolgt wurde.

6.2.5 Ermittlung der Druckverluste

Abbildung 6.18 zeigt die Druckverluste des Ventils über dem eingebauten Kurzschluss, über der $5\mu l$ Probenschleife und am Einlass des TOFs. Variiert wurde der Durchfluss. Da die Pumpen auch bei Gegendruck selbstständig den eingestellten Volumenstrom halten, konnten die Drücke, mit Hilfe der in den Pumpen integrierten Drucksensoren, protokolliert werden.

Allgemein gilt, dass der Druckverlust linear mit dem Volumenstrom zunimmt. Für das VICI-Ventil mit $5\mu l$ Schleife ergibt sich die lineare Regressionsformel zu $\Delta p[bar] = 2,15 \cdot Q[ml/min]$. Der Druckverlust des TOF-Einlasses beträgt $\Delta p[bar] = 3,84 \cdot Q[ml/min]$. Somit ergibt sich aus deren Summe bei $1ml/min$ ein aufzubringender Druck von knapp $6bar$, um die Probe durch das Ventil mit Probenschleife in das TOF zu fördern.

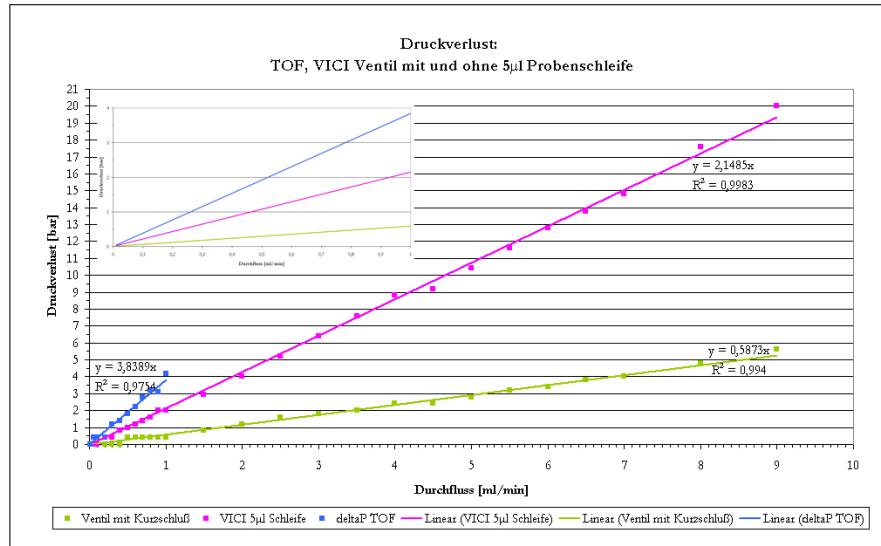


Abbildung 6.18: Druckverluste VICI-Ventil und TOF

6.2.6 Konzept IV - „Multiport-Ventil“

6.2.6.1 Aufbau

Abbildung 6.19 zeigt das Konzept „Multiport-Ventil“. Dieses Konzept wurde umgesetzt und in Kap. 7 validiert. Das Multiportventil C10W von VICI-VALCO ist ein 10-Port-Ventil mit 2 Schaltpositionen (PosA und PosB).

Das 10-Port-Ventil hat 1/16" Anschlüsse mit einem Portinnendurchmesser von 0,75mm. Aus der Ventilgeometrie ($D_v=18mm$, $d_{Port} = 0,75mm$) ergibt sich bei der Probenschleifenbefüllung mit $V_{tot} = \frac{\pi^2}{20} \cdot d_{Port}^2 \cdot D_v$ ein berechnetes Totvolumen von 5µl je Probe. Als Pumpen für den Reaktorkreislauf wurden die in Tabelle A.2 im Anhang vorgestellten HPLC Pumpen von Knauer verwendet.

Sowohl die Pumpen, die beide Ventile (VICI und 2/2 Wegeventil) als auch der Druchflussmesser von Bronkhorst benötigen eine 24V Stromversorgung. Mit einem 5V Netzteil wurden die zwei Serial2USB Hubs (COM Hub) sowie der USB Hub versorgt. Die Kommunikation der Pumpen, des VICI-Ventils und des Durchflussmessers erfolgt über die COM-Hubs (RS232) mit dem PC. Das 2/2 Wegeventil wird über das USB-Relais geschaltet. Der Aufbau ist in den Abbildungen 6.20 bis 6.22 dokumentiert.

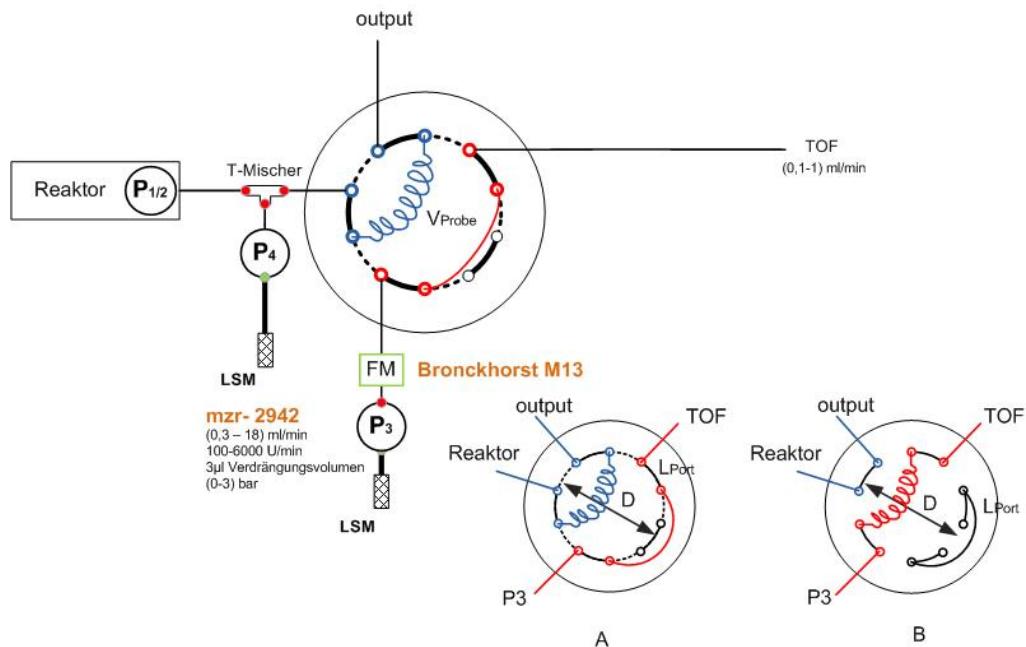


Abbildung 6.19: Aufbau - „Multiport-Ventil“

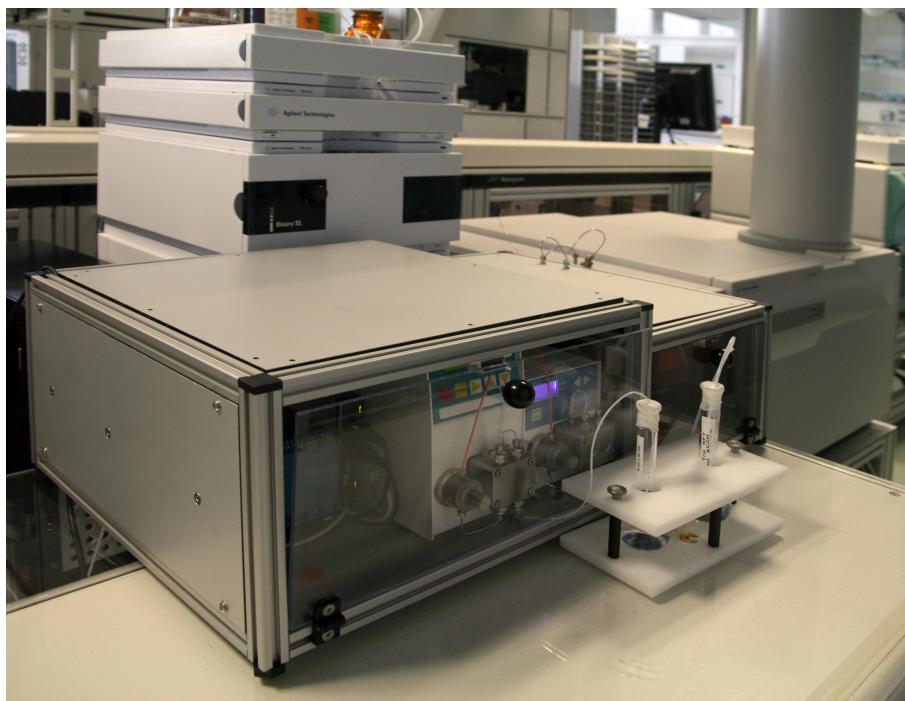


Abbildung 6.20: Foto Probenahmesystem



Abbildung 6.21: Foto Probenentnahmesystem - Einblick

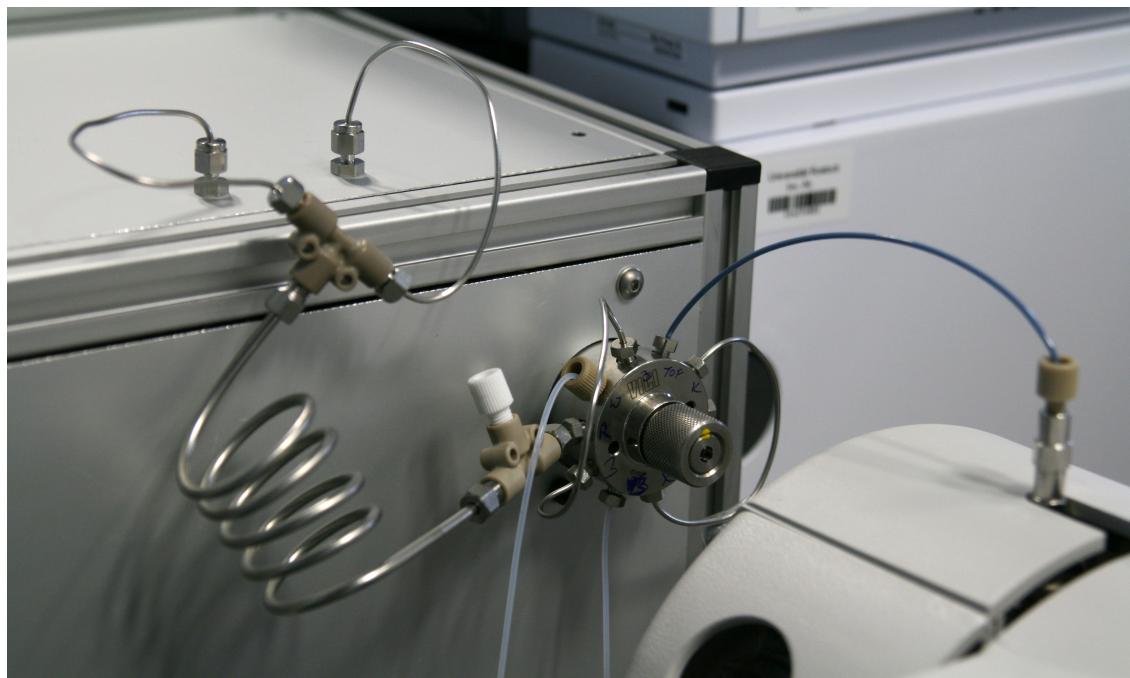


Abbildung 6.22: Foto Probenentnahmesystem - Anschluss ans TOF

6.2.6.2 Ablauf

Die Pumpen $P_{1/2}$ fördern in Schaltposition A des VICI-Ventils kontinuierlich Reaktorinhalt durch die Probenschleife des Ventils. Der Durchfluss ist so eingestellt, dass sich das gewünschte Reaktionsstadium an dieser Probenentnahmestelle befindet. Über ein T-Stück ist die Möglichkeit gegeben, der Probe Lösungsmittel hinzuzugeben. Sie kann abhängig vom Volumenstrom des Reaktors und der Pumpe P4 verdünnt werden. Zur Entnahme der Probe wird das Ventil für eine Dauer t_V , dies entspricht der Probenlänge, in Schaltposition B gesetzt. Pumpe P3 mit einem Volumenstrom zwischen $0,1ml/min$ und $1ml/min$ fördert die Probe ins TOF.

Das Spülen des Probenweges durch die Schleife bis ins TOF erfolgt kontinuierlich durch den permanenten Volumenstrom Q_{TOF} der Pumpe P3. Der Reaktor wird mit Hilfe des Volumenstroms der Pumpe P4 gespült, alternativ mit einem der Eduktströme (P1). Bei einem Volumenstrom von $1ml/min$ wird der Reaktor in $1min$ durchflossen, dazu kommen die Wege zum Reaktor und vom Reaktor in die Probenschleife. Tatsächlich wird bei einem Volumenstrom von $2ml/min$ der Reaktor als auch die Schleife nach $2min$ vollständig von der Probe befreit.

T-Mischer

Über den Mischer wird die Möglichkeit gegeben, der Probe polares Lösungsmittel hinzuzuführen, falls die Reaktion in unpolarem Lösungsmittel stattfindet beziehungsweise um die Konzentration der Probe durch Verdünnen zu senken. Grundsätzlich ist wegen der Art der Ionisierung kein vollständiges Vermischen der Probe mit Lösungsmittel notwendig, da die Probe in der ESI-Quelle zerstäubt wird. Das Erreichen eines homogenen Gemisches ist somit zweitrangig. Im schlimmsten Fall lägen die Probe und das LSM in 2 Schichten in der Kapillare vor. Durch den Zerstäubungsvorgang während der Ionisierung hebt sich dieses Manko wieder auf. Eine Möglichkeit zum Vermischen zweier Fluide bietet der Lamellenmischer LH2 des Ehrfeld Mikroreaktionssystems. Ein großer Nachteil dieses Mischers ist das im Vergleich zu den angestrebten Probenvolumina hohe Totvolumen des Mischers. Somit kommt ein Einsatz dieses Mischers nicht in Frage. Das Zusammenführen der zwei Volumenströme wird durch ein T-Stück realisiert. Das Mischverhalten wurde in Kap. 3.4.2 beschrieben.

Über das T-Stück wird Lösungsmittel mit der Pumpe P4 dem Probenstrom in einem bestimmten Mischungsverhältnis MV hinzugeführt. Ein Mischungsverhältnis von 1:1 ergibt

sich beispielsweise für $Q_{1/2} = Q_4$.

In Abbildung 6.23 ist für einen konstanten Volumenstrom des Reaktors von $1ml/min$ die Peakfläche über dem Mischungsverhältnis, genauer dem Verhältnis der Volumenströme P1 und P4, von 1:1 bis 1:10 dargestellt. Die Peakfläche sinkt mit Zunahme von MV. Die schwarze Kurve zeigt die erwartete Signalstärke für die eingestellten Volumenstromverhältnisse P4:P1 unter der Annahme, dass durch eine 1:1 Verdünnung die Peakfläche der Probe halbiert wird. Dabei ist der Volumenstrom der Probe $Q_{P1} = 0,5ml/min$ (rot) bzw. $1ml/min$ (blau), der Volumenstrom der Pumpe P4 wurde entsprechend dem Mischverhältnis angepasst. Das tatsächliche Mischvermögen liegt über dem angenommen, d.h. ein Volumenstromverhältnis von 1:4 ergibt eine Probenverdünnung von 1:8. es können somit höhere Verdünnungsstufen mit der Pumpenkonfiguration erreicht werden, als angenommen.

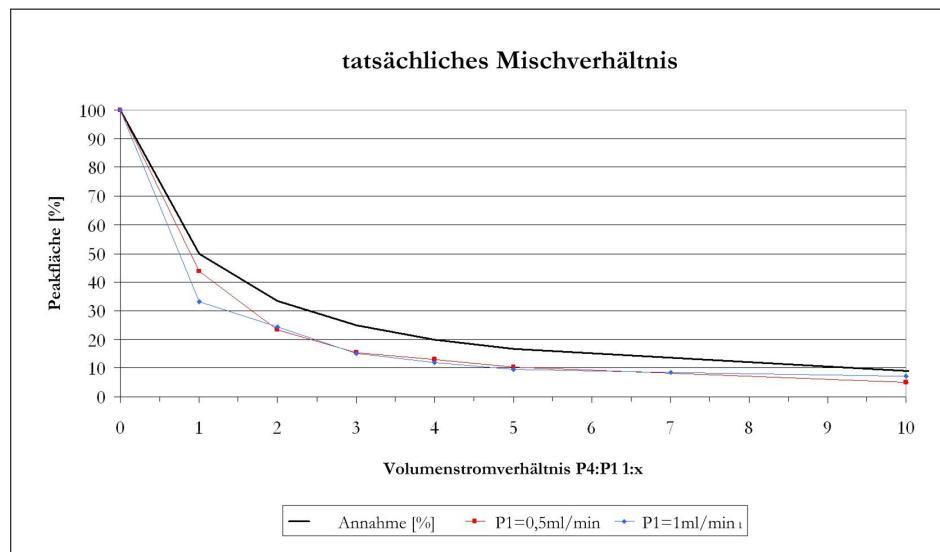


Abbildung 6.23: Verdünnen der Probe und tatsächliches Mischverhältnis

6.2.6.3 Ergebnisse - „Multiport-Ventil“

Die Messungen zeigten, dass die an die Kopplung gestellten Anforderungen (vgl. Kap. 5) durch das Konzept „Multiport-Ventil“ erfüllt werden können. Dazu wurden weitere Untersuchungen durchgeführt infolgedessen das Konzept „Multiport-Ventil“ konfiguriert und einer Funktionsüberprüfung (proof of principle) unterzogen wurde. Die Ergebnisse sind in dem Kapitel 7 dargestellt.

6.3 Ansteuerung und Softwareimplementierung

Im Reaktionsaufbau und der Probenentnahme müssen verschiedene Pumpen, ein Durchflussmesser und mehrere Ventile sowie ein Heizelement angesteuert werden (vgl. Tabelle 6.10).

	Bezeichnung	Versorgung	Schnittstelle
HNPM Pumpe	mzr-xxxx	externes Netzteil	RS232
Knauer Pumpe		internes Netzteil	RS232
Heizmodul	Julabo FP50	externes Netzteil	RS232
Multiport-Ventil	VICI C10W	externes Netzteil	RS232
3/2 Wegeventil	24 V DC	Elektr. Anschluss: Leistungsaufnahme: 1,5 W	plug 5,08 mm, 2-polig
2/2 Wegeventil	24 V DC	Elektr. Anschluss: Leistungsaufnahme: 1,5 W	plug 5,08 mm, 2-polig
Durchflussregler	Bronkhorst M13		RS232
Temperatursensor	PT100	an Heizmodul	

Tabelle 6.10: elektrische Spezifikationen

6.3.1 Steuerung mit LabVision und LabBox

Mit dem Ehrfeldsystem wurde ein Steuermodul mitgeliefert, die so genannte LabBox mit der Software LabVision von HiTec Zang. Zur Ausstattung siehe Anhang Tabelle A.

Mit der LabBox ist es möglich über die mitgelieferte Software unter anderem verschiedene Pumpen, Ventile, Sensoren und Heizmodule anzusteuern. Weiterhin bietet die Software die Möglichkeit der Überwachung von Prozessen und der Ausgabe von Warnmeldungen an den Nutzer. Die Benutzeroberfläche ist objektorientiert und nutzerfreundlich. Der Ablauf einer chemischen Reaktion wird dort zusammengestellt und läuft dann autonom ab.

In Abbildung 6.24 ist ein Screenshot der Steuerung äquivalent zum aufgebauten Reaktionsmodul des Ehrfeldsystems dargestellt. Die Treiber für die HNPM-Mikrozahnringpumpen sind in der Software nicht enthalten und können vom Hersteller gegen einen Aufpreis erstellt werden.

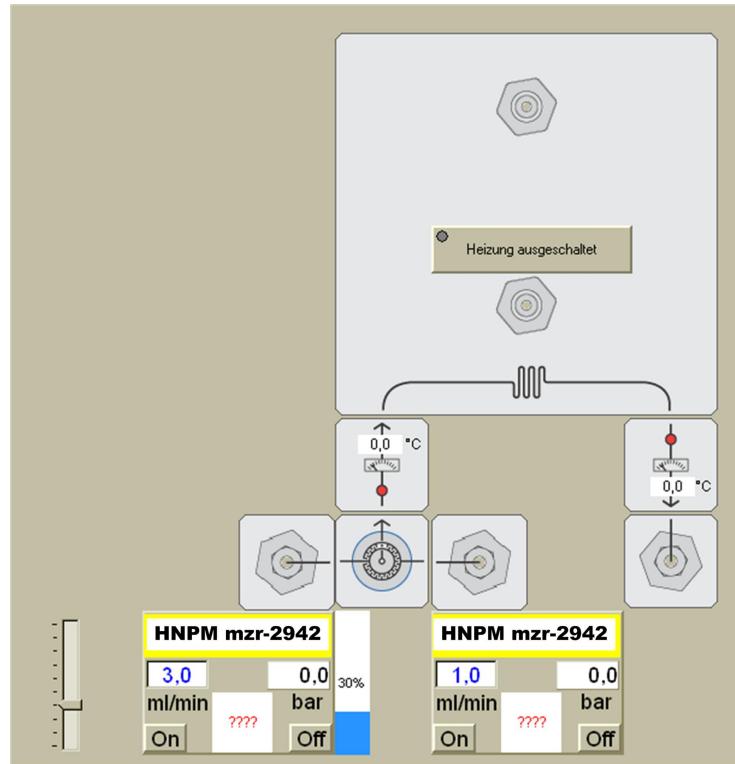


Abbildung 6.24: Screenshot LabVision, Steuerung Reaktorkreislauf

6.3.2 Steuerung mit eigener Software

Parallel soll dem Anwender die Möglichkeit gegeben werden, die online-Kopplung von Reaktor und Massenspektrometer unabhängig von der LabBox und der LabVision Software nutzen zu können, da ein System entwickelt werden soll, das auch an andere Reaktoren gekoppelt werden kann. Da die LabBox zu dem Mikroreaktionssystem von Ehrfeld gehört, musste sich von diesem gelöst werden.

Dazu wurde eine weitere Steuerung der oben genannten Komponenten entworfen. Die Pumpen, das Heizmodul und der Durchflussmesser werden mit einer ClassicBoard Multiport Serial Card mit dem Rechner verbunden. Die Ventile werden mit digitalen Ausgängen, welche durch ein USB-Relais zur Verfügung gestellt werden, gesteuert. Die Stromversorgung erfolgt über ein externes Netzteil. Die Nutzung der LabBox ohne die Software LabVision von HiTec Zang ist laut Hersteller nicht möglich. Um die Schnittstellen der LabBox ansprechen zu können, sind Protokolle notwendig, welche HiTec Zang nicht offenlegte. Somit erfolgt die Ansteuerung der einzelnen Komponenten direkt ohne LabBox.

Software-Implementierung am Beispiel „Konzept IV - Multiport-Ventil“

Windowsbasierend wird in C++ mit MFC eine Anwendersoftware entwickelt. Die Software ist in verschiedene Bereiche unterteilt (vgl. Abb. 6.25).

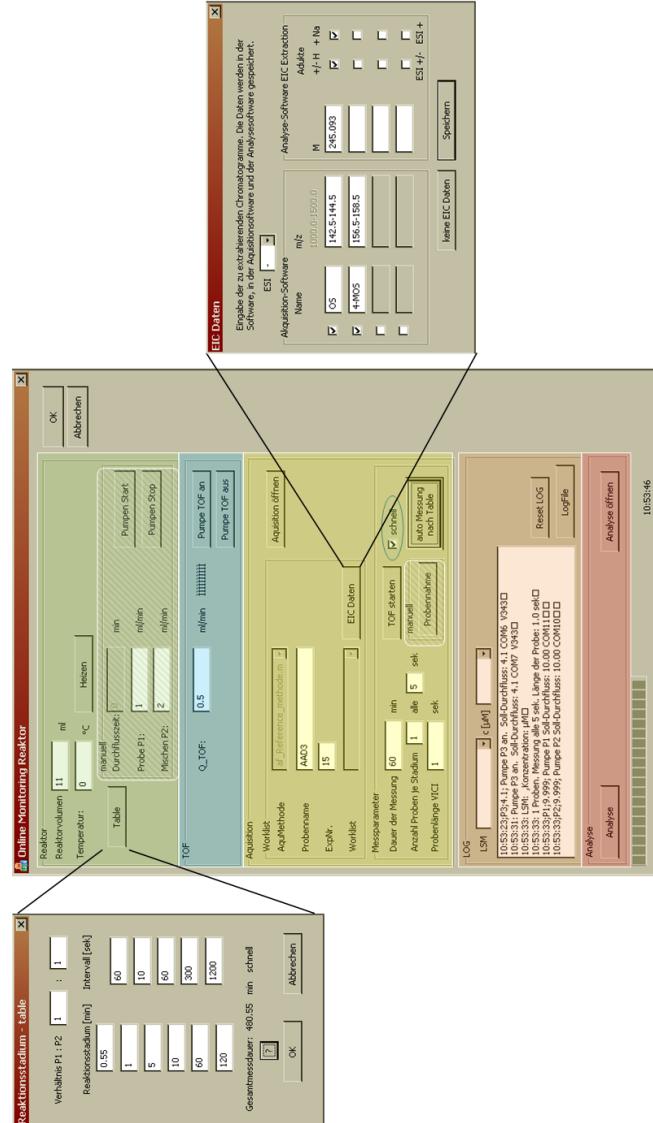


Abbildung 6.25: Screenshot des GUI

6.3.2.1 Kommunikation der Software mit Agilent MassHunter

Um beispielsweise den aus dem Probenname, Experimentnummer und Datum generierten Dateinamen und Pfad für das DataFile an die MassHunter Software zu übergeben, werden diese Daten von der eigenen Software in eine 'default.xml' Datenbank geschrieben, welche von MassHunter geöffnet und verarbeitet wird. Xml bedeutet 'Extensible Markup Language' und beschreibt eine Methode zur Strukturierung von Daten. Der Zugriff erfolgt hier sequentiell, d.h. zum Abrufen oder Schreiben von Daten muss das Programm am Anfang des Speicherraums beginnen und ihn so lange durchlaufen, bis er den Speicherort der betreffenden Daten erreicht hat.

Eine weitere angewandte Form der Kommunikation ist das Senden von Windowsnachrichten an die Fenster der MassHunter Software. Die Software gliedert sich in eine Hierarchie von Fenstern, seien es Buttons, Menüleisten, Tabs. Ordnet man Fenstern ein 'handle' zu, ist man in der Lage, diesen Fenstern Nachrichten zu übermitteln. Übermittelt man beispielsweise dem Menü 'File' die Tastenkombination „Strg+O“ öffnet sich im Programm der 'File Open' Dialog. In Abbildung A.10 im Anhang ist beispielhaft ein Ausschnitt der Fensterhierarchie für die MassHunter Acquisition Software aufgefächert dargestellt, welche dem Fenster-Tab Chromatogramm des Screenshots aus Abb. 6.27 entspricht.

Da auch mit diesen zwei genannten Möglichkeiten nicht alle Daten an die MassHunter Software übergeben werden konnten, wurde als dritte Möglichkeit das Senden von Maus- und Tastaturbefehlen an bestimmte Bildschirmkoordinaten verwendet. Dies war notwendig, wenn dem anzusprechenden Fenster kein 'handle' zugeordnet werden konnte. Vorgekommen ist dies beispielsweise bei der Eingabe der EIC Daten in das Drop-Down Menü des Tabs 'Chromatogramm'.

6.3.2.2 Softwarebeschreibung

6.3.2.2.1 Reaktoreinstellungen

Der obere grüne Teil dient der Einstellung der Reaktion am kontinuierlichen Reaktor von Ehrfeld. Hier können sämtliche den Reaktor betreffenden Parameter, wie Temperatur und Volumenströme der Edukte bzw. das Reaktionsstadium sowie Reaktorvolumen eingestellt werden. Dadurch ist die Austauschbarkeit des Reaktors gewährleistet. Es erfolgt eine automatische Anpassung der Volumenströme für die verschiedenen Reaktionsstadien. $Q=f(V_{Reaktor}, t_s)$. Diese Option ist bereits in der Software implementiert. Hinter der

Funktion 'Table' verbirgt sich die Möglichkeit der Eingabe eines vollständigen Messablaufes. In dem Beispiel in Abb. 6.25 werden die Eduktströme in einem Verhältnis von 1:1 dem auf 180°C erhitzten 11ml Reaktor zugeführt. Das aus diesen Parametern frühstmögliche Stadium beträgt 0,55min und wird automatisch ergänzt. Der Nutzer kann nun die zu messenden Reaktionsstadien angeben. Hier wird beispielsweise zwischen dem Reaktionsstadium von einer bis 5min alle 10 Sekunden eine Probe entnommen, danach nur noch jede Minute bis 10min usw.. Ein vollständiges Messprofil kann erstellt werden und somit eine automatische Beobachtung des Reaktionszeitraums stattfinden. Mit Klick auf '?' wird die für die Abarbeitung des eingegebenen 'Tables' benötigte Messdauer angezeigt. Die Volumenströme und Wartezeiten für die Pumpenregelung und Probenentnahme werden entsprechend der entwickelten Algorithmen der Varianten 1 und 3 in Kap. 6.1.3.3 berechnet.

6.3.2.2 Volumenstromregelung ins ESI-TOF

Der zweite Abschnitt (blau) regelt den permanenten Zustrom ins TOF, welchem die Probe zugeführt wird. Entsprechend der TOF Spezifikation wird der Volumenstrom der Pumpe P3 auf ein Intervall von 0,1ml/min bis 1ml/min festgelegt. Um eine Probe ins TOF zu fördern, muss ein bestimmter Eingangsdruck abhängig vom Volumenstrom Q_{TOF} überwunden werden (vgl. Kapitel 6.2.5). Der Wertebereich des Durchflussmessers liegt zwischen 0 und 32000. Die Einstellung wurde so gewählt, dass 32000 100g/h entsprechen. Für das Lösungsmittel 40/60 ACN/H2O+0,1% HCOOH ergibt sich mit einer Dichte von 0,87g/cm³ ein entsprechender Volumenstrom von 1,9ml/min für den maximalen Wert des Durchflussmessers von 32000. Diagramm 6.26 zeigt den Zusammenhang zwischen dem eingestellten Volumenstrom (Q_{Einst}) und dem tatsächlichen Volumenstrom (Q_{TOF} Ist-Wert) beziehungsweise dem zugehörigen Wert des Durchflussmessers.

Mit Hilfe der Regressionsformel der Kurve $Q_{TOF} = \frac{Q_{Einst}}{0,1216}$ lässt sich für den Volumenstrombereich von Q_{TOF} der einzustellende Volumenstrom berechnen. Die Werte sind in Tabelle 6.11 dargestellt.

Die Kontrolle des Volumenstroms ins ESI-TOF erfolgt mit dem Durchflussmesser M13 von Bronkhorst. Wird der Volumenstrom von 1ml/min überschritten, wird das Ventil für den Zufluss ins TOF geschlossen.

Wenn mit einem von der Dichte $\rho = 0,87g/cm^3$ stark abweichenden Fluid als Transportlösungsmittel gearbeitet werden soll, muss ein erneuter Kalibriervorgang durchgeführt werden. Diese Kurven könnten in der Software hinterlegt und durch den Anwender aus-

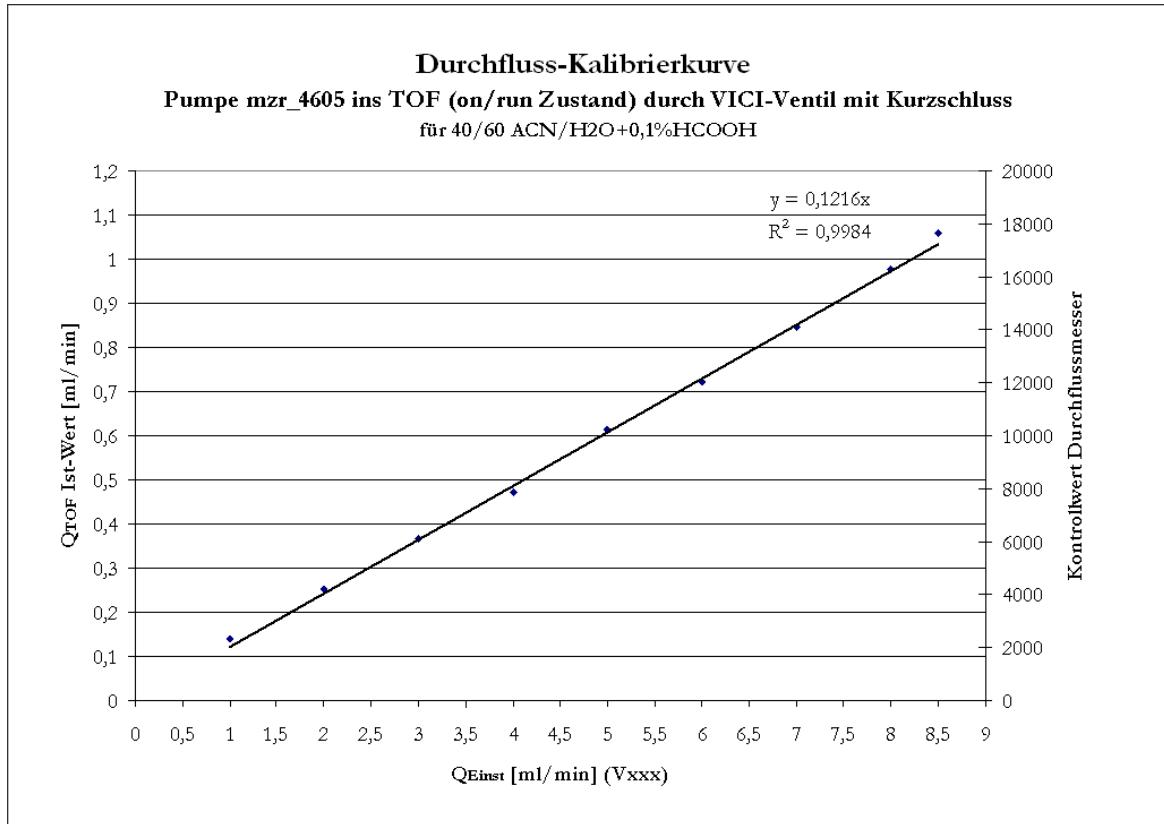


Abbildung 6.26: Durchfluss-Kalibrierkurve mzr4605

Q_{Soll} [ml/min]	Q_{Einst} [ml/min]	FM_{Wert}
0,1	0,8	1674
0,2	1,6	3348
0,3	2,5	5023
0,4	3,3	6697
0,5	4,1	8371
0,6	4,9	10045
0,7	5,8	11720
0,8	6,6	13394
0,9	7,4	15068
1	8,2	16742

Tabelle 6.11: tatsächlicher und eingestellter Volumenstrom ins TOF, sowie Kontrollwert des Durchflussmessers, Fluid: 40/60 ACN/H₂O+0,1HCOOH

gewählt werden. Auch wenn es sich hierbei um ein durchaus übliches Verfahren handelt, gibt es noch eine elegantere Lösung. Der Durchflussmesser M13 von Bronkhorst bietet die Möglichkeit einer PID-Regelung der HNPM Pumpen, und somit der verwendeten Pumpe mrz4605 an. Dazu muss für jedes der verwendeten Lösungsmittel vom Lieferanten eine entsprechende Kurve für die unterschiedlichen Viskositäten berechnet und hinterlegt werden. Dadurch wird das System Pumpe-Durchflussmesser auf bestimmte Fluide kalibriert. Da es sich hier um eine Systementwicklung handelt, wurde die Auswahl der verwendeten Lösungsmittel im voraus nicht begrenzt und die Kalibrierung wie oben beschrieben per Hand durchgeführt. Zur späteren Optimierung des Systems für einen speziellen Anwendungsfall sollte dies jedoch in Betracht gezogen werden.

6.3.2.2.3 Dateneingabe für die Akquisition mit MassHunter sowie Messstart

Im nun folgenden Teil der Software, der Akquisition (gelb), erfolgt die Vorbereitung der MassHunter Acquisition Software für die Messung. Die Akquisition Methode ist die zur Erfassung der Messdaten von MassHunter verwendete Methode.

Der Anwender hat die Möglichkeit Probenname und Experimentnummer einzugeben. Aus diesen und dem aktuellen Datum wird das „Data File“ entsprechend dem Format (YYMMDD) _ (ProbennameDataFile) (ExpNr).d im Ordner /Data/microreactor angelegt. Weiterhin kann das verwendete Lösungsmittel sowie die aktuell gemessene Konzentration der Probe ausgewählt werden. Mit dem Start der Messung werden diese im Log-Fenster ausgegeben und später mit den Pumpenwerten, den Start- und Stoppzeiten, Schaltzeiten und -positionen des Ventils zur Datenauswertung im Log-file ((YYMMDD) _ (ProbennameDataFile) (ExpNr).txt) gespeichert.

Von der Software aus ist es möglich die Akquisitions- und Analysesoftware Agilent MassHunter zu starten. Mit der Option „TOF Starten“ übernimmt die Software die Kommunikation mit der Akquisitionssoftware, fängt sämtliche Dialoge ab und bereitet das TOF auf die folgende Messung vor. Dazu wird eine schreibgeschützte Akquisitionsmethode geladen (default_afReferencemethod.m), in welcher einige Einstellungen vordefiniert sind (u.a. eine Akquisitionsrate von 5 Peaks/sek, ESI-Mode: ESI-). Der Methode werden zusätzlich die vom Nutzer eingegebenen Parameter, wie die zu beobachtenden Masse-Ladungsverhältnisse (EIC) und die Messdauer, angefügt.

Danach wird die Methode unter methode/microreactor/afreferencemethod.m gespeichert, welche identisch mit der Methode zur Analyse ist. Diese Gleichbenennung ist eine Voraus-

setzung für das automatische Starten der Auswertung direkt im Anschluss an die Messung. Das TOF steht nun im 'RUN Modus' und ist bereit zur Akquirierung von Daten.

Weiterhin wird eine default.xml eingelesen. In diese Datei werden u.a. die in der Software vordefinierten Pfade, der vollständige Dateiname und die zu verwendenden Methoden geschrieben. Die Speicherung erfolgt im Verzeichnis worklist/microreactor/. Diese Datei wird zur automatischen Erstellung der Worklist als worklist.wkl von der Akquisitionssoftware geladen. Abbildung 6.27 zeigt die Worklist mit den vom Anwender gemachten Eingaben.

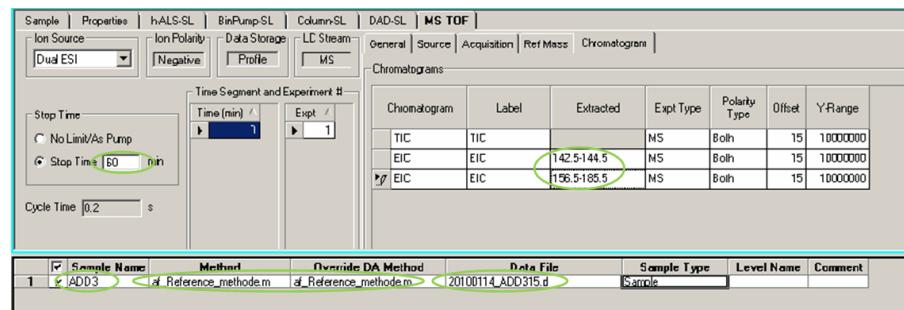


Abbildung 6.27: Screenshot MassHunter Acquisition - Ausschnitt

Im Dialog 'EIC-Daten' kann die Eingabe der zu extrahierenden Chromatogramme erfolgen, ebenso die Auswahl ob im positiven oder negativen ESI-Mode gemessen und später ausgewertet werden soll. Die Daten werden direkt an die Akquisitionssoftware weitergeleitet und auch in einem xml Datenfile für die Analysesoftware aufbereitet.

Nach Start der Messung mit dem Button 'Auto-Messung nach Table' wird mit einem Volumenstrom von $2ml/min$ 2min lang das Edukt 2 (hier Trp, NFT in ACOH) bis in die Probenschleife gefördert, danach in der selben Weise das Edukt 1 (hier Ac_2O). Dabei wird sicher gestellt, dass sich beide Edukte am Reaktoreingang befinden und die Probenschleife produktfrei ist. Die Dauer für diesen Spülvorgang bei genanntem Volumenstrom ergab sich aus der Beobachtung der Signale während der manuellen Spülvorgänge. Nach 2 Minuten waren im ersten Fall die Peaks des internen Standards vollständig ausgeprägt, im zweiten Fall waren diese vollständig verschwunden (vgl. Abb. 6.28).

Mit Beginn der Messung wird ein Programmablauf (thread) gestartet, welcher das Multiportventil sowie die Pumpen P1 und P2 entsprechend der laut Messplan vorgegebene

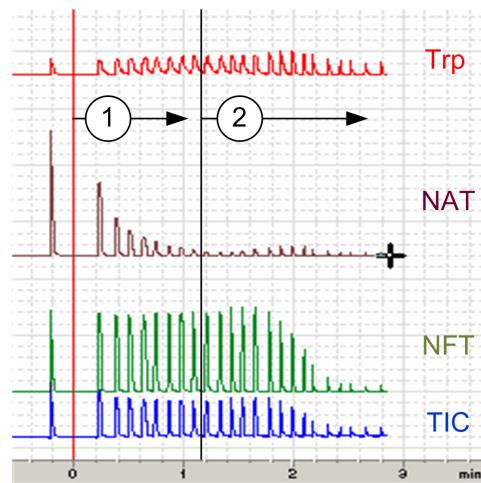


Abbildung 6.28: Screenshot der Signalabnahme während des Spülvorgangs des Systems „Multiport-Ventil“

nen Zeitintervalle schaltet. Die Messung erfolgt entweder nach der Variante 3 (default-Einstellung) oder durch Wegnahme des Häckchens 'schnell' nach Variante 1. Es ist ebenfalls möglich, manuell verschiedene Reaktionsstadien bzw. Edukt-Volumenströme einzustellen und manuell eine Probe zu entnehmen.

6.3.2.2.4 Mitloggen der Daten

Im LOG-Bereich (orange) werden alle Schaltzeiten der Pumpen und Ventile sowie die zugehörigen Volumenströme bzw. Ventilpositionen aufgezeichnet. Diese Daten dienen später der Gegenüberstellung der Eingangsparameter mit den Ergebnissen. Im Anhang A.9 ist ein Auszug des generierten Logfiles zu sehen.

6.3.2.2.5 Messende

Nach Beendigung der Messung werden die Messdaten automatisch in die Analysesoftware geladen und die im Dialog 'EIC-Daten' angegebenen Massen (m/z) sowie die gewählten Adukte (+H, +Na, -H) extrahiert. Es erfolgt eine automatische Ausgabe als Excel-Datei sowie als Analysebericht.

In Excel entstand ein Makro, welches die Logfiles automatisch einliest, sie sortiert und

als Diagramm ausgibt. In diesem Diagramm sind über der Messzeit die Volumenströme aller Pumpen sowie die Probenentnahme am entsprechenden Reaktionsstadium dargestellt. Das Diagramm in Abb. 6.29 demonstriert eine Möglichkeit der Gegenüberstellung der Messdaten mit den Einstellungen am Reaktor, hier am Beispiel des extrahierten Chromatogramms des Produktes NAT bei Variation des Reaktorvolumenstroms.

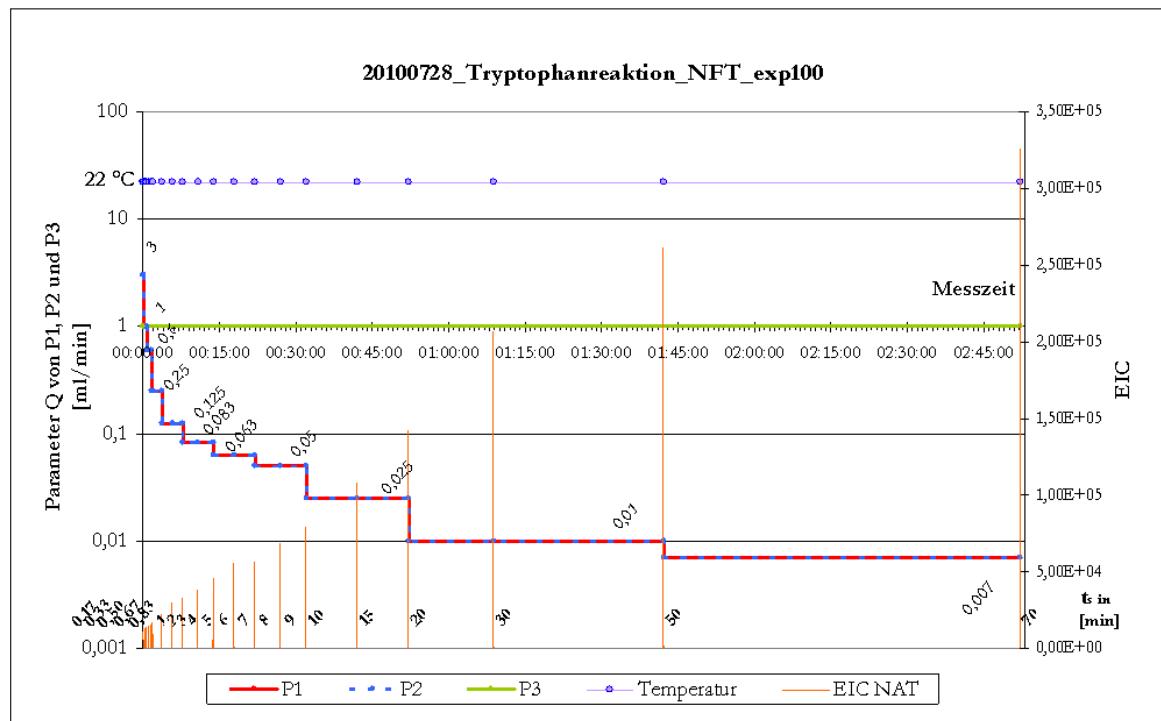


Abbildung 6.29: Auswertung in Excel

6.4 Analyse - TOF Spezifikationen

Die Kopplung erfolgt an ein ESI-TOF der Firma Agilent Technologies mit der Bezeichnung: 6500 Series Accurate-Mass Quadrupole Time-of-Flight (Q-TOF) LC/MS¹. Es sind Massenbestimmungen mit einer Genauigkeit von etwa 2ppm möglich. Der zugelassene, einströmende Volumenstrom für das verwendete ESI-TOF liegt zwischen 0,1ml/min und

¹ (<http://www.chem.agilent.com/en-us/products/instruments/ms/6520accurate-massq-toflcms/pages/default.aspx> [05.2009])

$1\text{ml}/\text{min}$. Die Probe muss ionisierbar sein und in einer analysierbaren Konzentration vorliegen.

Die Messungen am TOF wurden mit den im Anhang A aufgelisteten Einstellungen durchgeführt.

Ausnahme Konzept - „Multiport-Ventil“

Bei der Methode wurden die Voreinstellungen des TOFs für die Datenakquisition für alle Konzepte außer für das „Multiport-Ventil“ beibehalten. Hier wurde lediglich die Abtastrate verändert.

- Acquisition rate/time (Abtastrate): 5spectra/sec bzw. 200ms

Bei den ersten Messungen stellte sich heraus, dass die Peakbreite der Signale sehr gering ist. Trotz gleicher Konzentration der Probe wurden unterschiedliche Signale (height, area) gemessen. In den vorherigen Konzepten waren die Peakbreiten deutlich breiter als die Abtastrate (>8 fach). Die Peakbreite in Abbildung 6.30 beträgt etwa vier Sekunden (FWHM=1-2sek). Die unterschiedlichen Peakhöhen lassen sich mit der zu geringen Abtastrate von $1,03\text{spectra/sec}$ erklären.

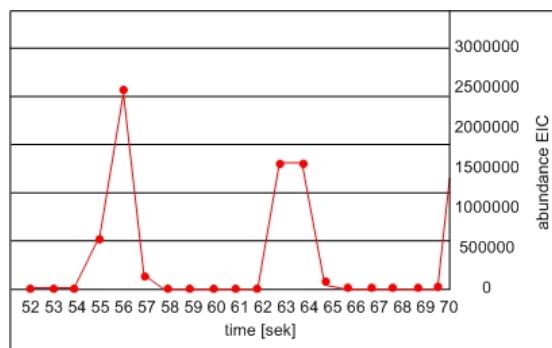


Abbildung 6.30: Abtastrate: $1,03$ Spektren/sek

Das Nyquist Abtasttheorem besagt, dass ein kontinuierliches Signal mit einer Frequenz doppelt so groß wie die Maximalfrequenz abgetastet werden muss, damit man aus dem so erhaltenen zeitdiskreten Signal das Ursprungssignal ohne Informationsverlust beliebig genau approximieren kann.

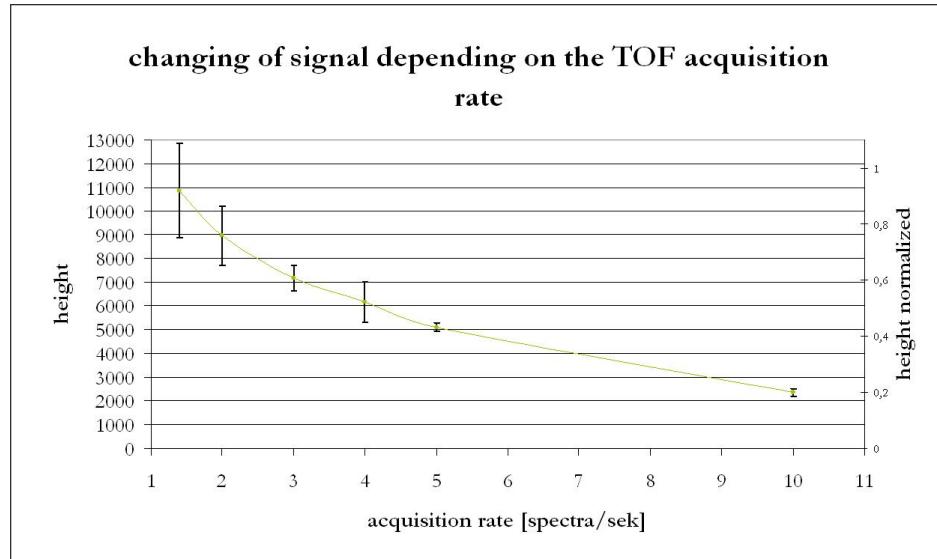


Abbildung 6.31: Abhängigkeit der Peakhöhe von der Abtastrate

Um eine optimale Abtastrate zu bestimmen, wurde während der Messung die Abtastrate variiert und die Peakhöhe, sowie die Standardabweichung in Diagramm Abbildung 6.31 aufgetragen. Mit Zunahme der Rate sinkt die Stärke des Signals, hier aufgezeigt an der Peakhöhe. Zu jedem Wert wurde aus den Mehrfachmessungen die Standardabweichung berechnet. Mit Zunahme der Akquisitionsrate nimmt diese ab, ab 5 Spektren je Sekunde liegt sie unter 4%. Bei einer Peakdauer von (1,5-2)sek werden mindestens 8 Messpunkten je Peak aufgenommen (vgl. Abbildung 6.32). Dies deckt sich mit der vom Hersteller empfohlenen Anzahl an Messpunkten je Peak. Hinter jedem Messpunkt im TIC verbirgt sich ein Spektrum.

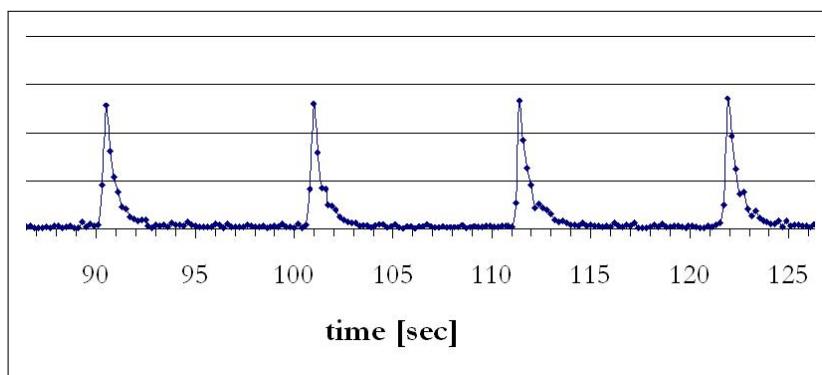


Abbildung 6.32: Abtastrate: 5 Spektren/sek

Die Abtastrate wurde für Messungen des Konzepts „Multiport-Ventil“ auf 5 Spektren je Sekunde hochgesetzt und dieses Phänomen trat nicht mehr auf.

6.5 Datenauswertung

Es gibt verschiedene Möglichkeiten für die Auswertung der akquirierten Daten. Die Datenakquisition liefert innerhalb einer Messung Peaks für die verschiedenen Reaktionsstadien und/oder andere Parametereinstellungen. Um eine Reaktion online zu überwachen, muss der Peak zeitnah zur Entstehung ausgewertet werden. Dazu gibt es verschiedene Herangehensweisen.

Die Akquisition Software von Agilent MassHunter bietet die Möglichkeit eine Methode festzulegen, welche alle Parameter für die Auswertung der Daten speichert. Diese Methode kann manuell nach einer Messung gestartet werden oder automatisch nach Beendigung einer Messung. Somit ist es nahe liegend jeden Peak in eine separate Messung einer 'worklist' aufzunehmen und nach jedem Peak die Auswertung in Gang zu setzen. Dabei ist zu bedenken, dass das TOF etwa 30 Sekunden bis 1min benötigt, um vom standby-Modus in den run-Modus zu wechseln. Weiterhin beträgt die Messdauer für 102 Proben eine Stunde und 17 Minuten, mit der Einstellung einer minimalen reinen Messzeit 'as pump' gleich 0,1sek. Daraus ergibt sich eine Messdauer von 45sek je Probe für die Probennahme und Messung ohne Analyse. Die im Hintergrund laufende Auswertung nimmt etwa 10 Sekunden in Anspruch.

Ein anderer Ansatz ist, innerhalb der Software ein Skript mittels VBA (Visual Basic for Applications) zu implementieren, welches die Auswertung portionsweise während der laufenden Messung startet um somit die Dauer für den Wechsel von einer Messung der 'worklist' zur nächsten zu umgehen. Die Dauer von 10sek für die Auswertung ist dennoch notwendig. Die Ergebnisse mit der vordefinierten Auswertung erscheinen dann in der MassHunter Analysis Software. Eigene definierte Makros tauchten jedoch nicht in der Aquisition Software auf, da dazu ein spezieller verschlüsselter Header notwendig ist, damit die MassHunter Software diese als Makros erkennt. Weiterhin war es nicht möglich eine Funktionsbeschreibung der VBA-Objekte zu erhalten, aus dem Grund, dass es diese laut Hersteller nicht gibt. Ohne Kenntnis der VBA-Objekte und ihrer Beschreibung ist das Erstellen von Makros nicht möglich.

Eine weitere Möglichkeit ist das Öffnen des „Data Files“ mit der Analysesoftware von MassHunter während der Messung. Damit ist die Auswertung der zum dem Zeitpunkt bereits gespeicherten Daten möglich. Die Aktualisierung des „Data Files“ erfolgt jedoch unregelmäßig im Sekunden- und auch Minutentakt. Weiterhin ist in der Analysesoftware keine „Refresh-Button-Funktion“ integriert. Somit muss die laufende Messung jedes Mal geschlossen und wieder neu geöffnet werden. Zusammenfassend kann, nach Rücksprache mit dem Softwarehersteller, gesagt werden, dass es bisher keine Möglichkeit zur online-Auswertung durch die Software gibt. Dies soll sich aber mit einer Folgeversion der MassHunter Software ändern.

Ein anderer Gedanke befasste sich damit, die binäre Datenbank, in welche die Daten während der Messung kontinuierlich hineingeschrieben werden, mit einer eigens implementierten Anwendung auszulesen. Dies scheiterte an der Verschlüsselung dieser Datenbank. Die binäre Datei lässt sich ohne Entschlüsselung nur mit der MassHunter Software einsehen.

Als Kompromiss werden die Peaks der verschiedenen Reaktionsstadien bzw. Parameterstellungen in einer Messung aufgenommen und erst nach Beendigung der Messung automatisch in der Analyse Software von MassHunter ausgewertet. Dazu erfolgt die online Beobachtung der Edukte und Produkte innerhalb der Akquisition Software (vgl. Abb. 6.33). Nach Eingabe der Masse-Ladungsverhältnisse der Edukte und Produkte werden in einem Fenster der Akquisitionssoftware der Totalionenstrom und die extrahierten Ionenströme zeitgleich mit der laufenden Messung angezeigt. Eine numerische Auswertung der Ergebnisse ist an dieser Stelle leider nicht möglich.

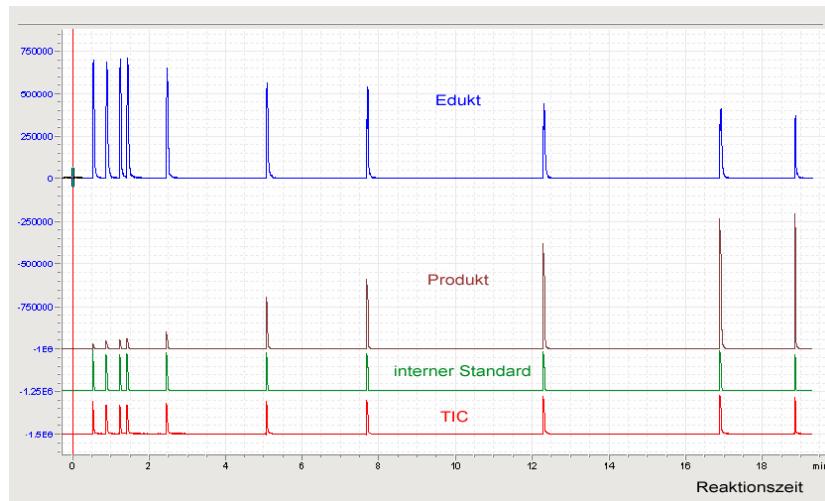


Abbildung 6.33: Online-Monitoring mit der Akquisitionsssoftware MassHunter

Es ist somit eine online-Datenakquirierung der eingehenden Proben aus einem kontinuierlichen LSM-Probe-LSM-Strom sowie die online-Beobachtung der EIC-Signale der zur Überwachung angegebenen Masse/Ladungsverhältnisse möglich. Die Datenauswertung (Peakspektren etc. der akquirierten Daten) erfolgt im Anschluss der Messung, also offline.

7 Validierung des entwickelten Probenentnahmesystems „Multiport-Ventil“

7.1 Qualität der Messwerte: Autosampler und ESI-TOF

Um eine Aussage über das entwickelte Probenentnahmesystem „Multiport-Ventil“ treffen zu können, musste im ersten Schritt das Probenentnahme- und Transportverhalten, sowie die Konstanz des vorhandenen Analysegerätes, in diesem Fall der Autosampler mit dem angebundenem ESI-TOF, untersucht werden.

Die Nachweisgrenzen wurde für die Kombination des Probenentnahmesystems und dem Analysegerät, das TOF-Masesnspektrometer ermittelt. Die Nachweisgrenze sagt etwas über die Anzahl der minimal detektierbaren Moleküle, die ionisiert werden, aus. Sind die am TOF eintreffenden Proben von der Konzentration und dem Volumen her gleich, und ändern sich die Messbedingungen am Massenspektrometer nicht, dann ist auch die Nachweisgrenze der Proben gleich. Durch das Anschließen verschiedener Probennahmestysteme ändert sich die Zusammensetzung der Probe durch u.a. Ventile, Lauflängen, Umlenkungen und Pumpen. Dadurch kommt es zu unterschiedlichen Nachweisgrenzen der Gesamtsysteme. Aufgrund des Transportes der Probe durch ein Probennahmesystem kommt es zu einer quantitativen Veränderung der Probe bis zum Eingang am Analysesystem (TOF) und somit zu einem Absenken der Nachweisgrenze des Gesamtsystems. In dieser Arbeit wurden Proben mit dem Hersteller eigenen Probenentnahmesystem, also dem Autosampler, und dem entwickelten Probennahmesystem „Multiport-Ventil“ entnommen.

7.1.1 Autosampler - Kalibrierung mit Oktansäure

Oktansäure wurde in den verschiedenen Konzentrationen von $0,1\mu M$, $1\mu M$, $10\mu M$, $100\mu M$ und $1000\mu M$ auf $25ml$ MeOH angesetzt und mit jeweils der gleichen Menge von $4,34\mu l$ internen Standard (4-MOS) versetzt. Im Massenspektrum sind diese mit dem Masse-Ladungsverhältnis von $m/z_{(OS)} = 143,14$ und $m/z_{(4-MOS)} = 157,17$ im negativen ESI-

Modus zu sehen. Die Probenentnahme erfolgte aus GC-Vials mit dem Autosampler, die Analyse mit dem ESI-TOF. Das Lösungsmittel zur Ionisierung der Probe ist 40% ACN+60% H_2O +0,1% HCOOH.

Abbildung 7.1 (links) zeigt die Kalibrierkurve für Oktansäure. Die minimale Nachweisgrenze für Oktansäure liegt bei der Probennahme durch den Autosampler bei $10\mu M$ mit einer Signalstärke (height) von $2 \cdot 10^3$. Für $100\mu M$ beträgt sie $2 \cdot 10^4$ und für $1000\mu M$ $2 \cdot 10^5$.

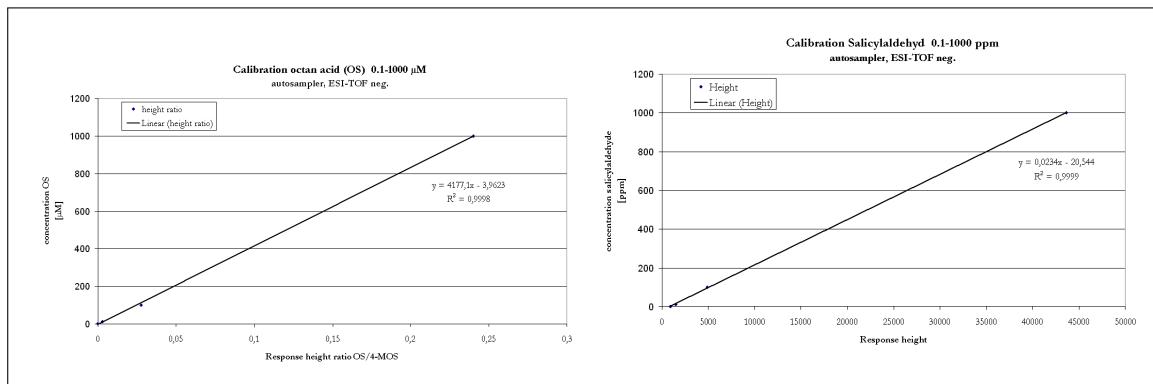


Abbildung 7.1: Kalibrierkurve Salicylaldehyd 1-1000ppm und Oktansäure 0,1-1000 μM

7.1.2 Autosampler - Kalibrierung mit Salicylaldehyd

In den GC-Vials befindet sich Salicylaldehyd in MeOH in den Konzentration 1 bis 1000ppm. Es findet keine Reaktion statt. Die Probenentnahme erfolgte mit dem Autosampler, die Analyse mit dem ESI-TOF. Das Masse-Ladungsverhältnis von Salicylaldehyd im negativen ESI-Modus beträgt $m/z = 121,02$. Das Lösungsmittel zur Ionisierung der Probe ist 40% ACN+60% H_2O +0,1% HCOOH.

Abbildung 7.1 (rechts) zeigt die Kalibrierkurve für Salicylaldehyd. Die Konzentration von 1ppm Salicylaldehyd mit einer Signalstärke von $1 \cdot 10^3$ (height) ist nachweisbar. Für 10ppm lag die Signalstärke bei 1300, für 100ppm bei 3800 und für 1000ppm bei 22000.

7.1.3 Autosampler - Konstanz der Messung - Trp + ASS, OS

In ein 1ml GC-Vial wurden 1000ppm Tryptophan und 1000ppm interner Standard (ASS) gegeben. Mit dem Autosampler wurden 100 Proben mit einem Volumen von $3\mu l$ nacheinander entnommen und gemessen. Der Volumenstrom Q_{TOF} betrug 1ml/min. Das Lö-

sungsmittel zur Ionisierung der Probe ist $40/60\text{ ACN}/\text{H}_2\text{O} + 0,1\%\text{ HCOOH}$. Die Peakhöhe für Tryptophan beträgt $9,3 \cdot 10^5$ mit einer Abweichung vom Mittelwert von 3,1%, für den internen Standard $9,3 \cdot 10^4$ mit 3,4% Abweichung.

Eine weitere Messung mit $1000\mu\text{M}$ Oktansäure in MeOH mit $4,34\mu\text{l}$ 4-MOS auf 25ml Lösungsansatz ergab bei gleicher Probenentnahme eine Signalstärke (height) von $1,87 \cdot 10^5$ für Oktansäure bei einer Abweichung von 6,4%, und $7,8 \cdot 10^5$ für 4-MOS mit einer Abweichung von 7%. Die Signalstärke (area) beträgt $5,05 \cdot 10^5$ für Oktansäure bei einer Abweichung von 11%, und $2,3 \cdot 10^6$ für 4-MOS mit einer Abweichung von 12%.

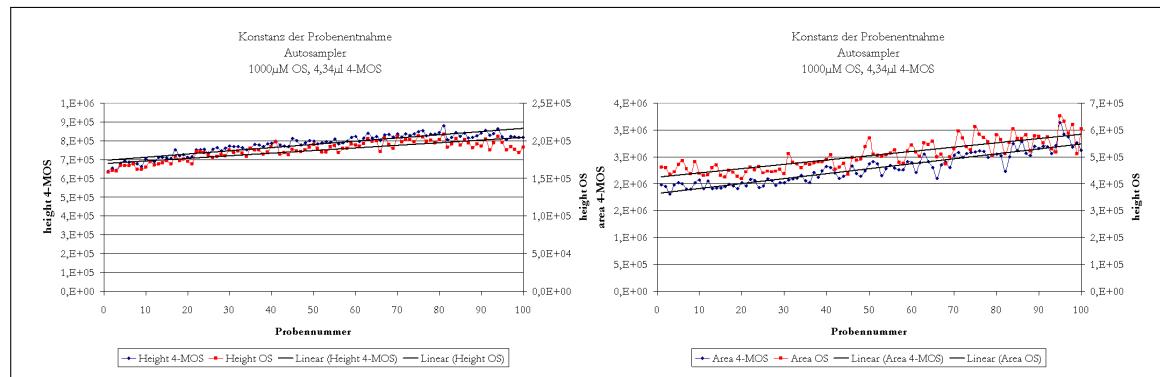


Abbildung 7.2: Autosampler, $1000\mu\text{l}$ OS mit IS, Signalstärke height und area

Die Peakhöhen und -flächen sind für die aufeinanderfolgenden 100 Proben in Diagramm 7.2 dargestellt. Das Ansteigen der Signale mit dem Fortschreiten der Probennummer deutet auf ein Verschleppen der Probe im Autosampler hin, dies kann aber nicht der Grund für die hohe Abweichung der Signale vom Mittelwert (Standardabweichung) sein. Die Signalstärke ist direkt abhängig von der Probenbeschaffenheit und ihrem Volumen und resultiert somit aus einem Fehler in der Probenzufuhr durch den Autosampler.

Betrachtet man die Verhältnisse der Peakhöhen und -flächen von OS zu 4-MOS (IS), zeigt sich der in Diagramm 7.3 dargestellte Zusammenhang. Für das Verhältnis der Peakhöhen von OS und 4-MOS (=height ratio) ergibt sich ein Wert von 0,24 bei einer Abweichung von 2,4%. Für den area ratio, dem Verhältnis des entsprechenden Peakflächen, beträgt der Wert 0,22 mit einer Abweichung von 5,6%.

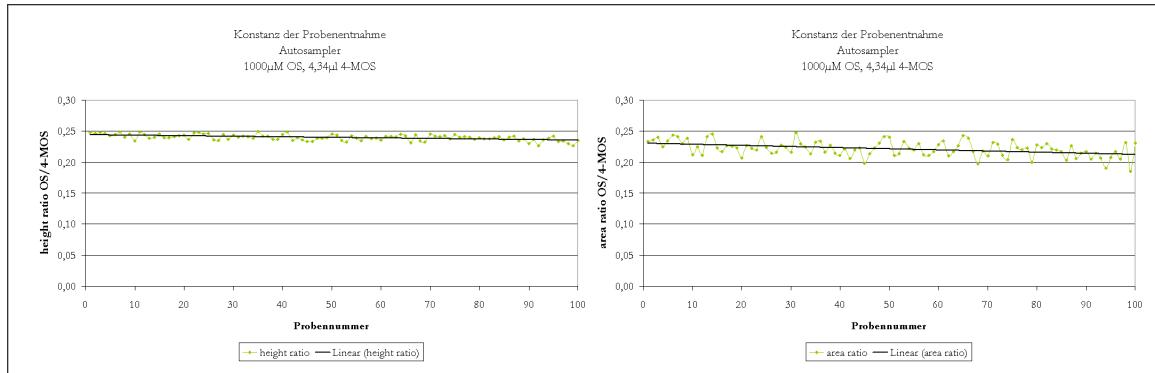


Abbildung 7.3: Autosampler, $1000\mu\text{L}$ OS mit IS, height ratio, area ratio

7.1.4 Autosampler - Einfluss des Volumenstroms ins ESI-TOF (Q_{TOF})

Zur Untersuchung der Abhängigkeit der Signalstärke vom Volumenstrom ins ESI-TOF wurden jeweils 10 Proben je Volumenstrom mit einem Volumen von $3\mu\text{l}$ mit dem Autosampler entnommen. Die Probe bestand aus $1000\mu\text{M}$ OS mit 4-MOS ($4,34\mu\text{l}$ auf 25ml) als interner Standard in MeOH.

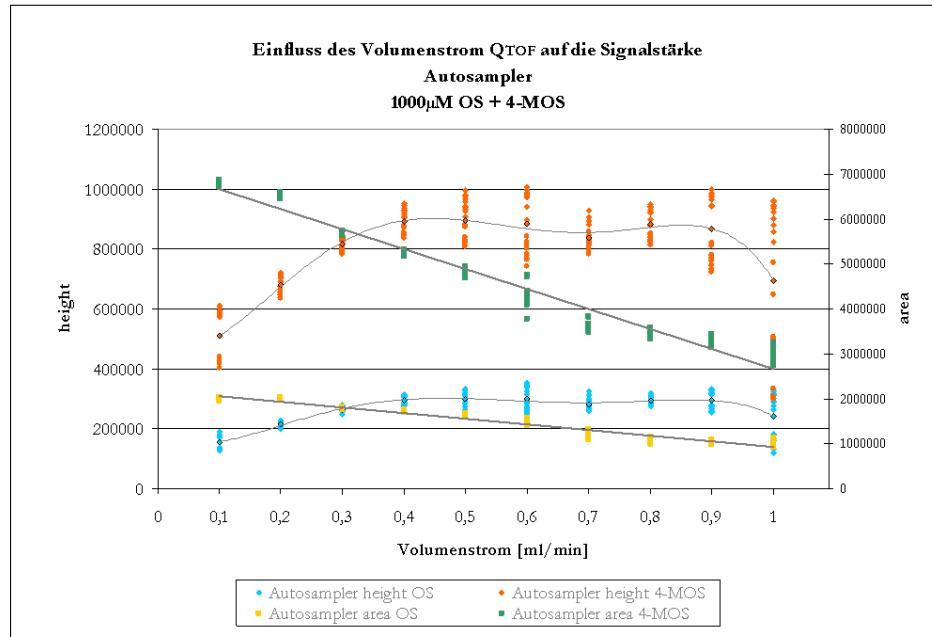


Abbildung 7.4: Einfluss des Volumenstroms Q_{TOF} auf die Signalstärke, Autosampler

In Diagramm 7.4 sind die Peakhöhe sowie die Peakfläche in Abhängigkeit vom Volumenstrom dargestellt.

menstrom dargestellt. Zwischen Volumenstrom und Signalhöhe zeigt sich kein eindeutiger Zusammenhang. Der Einfluss des Fehlers des Volumens der durch den Autosampler entnommenen Probe ist stärker als der Einfluss durch den varierten Volumenstrom. Der Zusammenhang zwischen Volumenstrom und Peakfläche zeigt sich linear. Als Verhältnis zwischen den Peakflächen der Volumenströme 0,1ml/min und 1ml/min ergibt sich ein Wert von 2,3. Um quantitativen Fehlern durch die Probenentnahme des Autosamplers entgegenzuwirken, werden Messungen mit internem Standard (IS) durchgeführt. Betrachtet man die Verhältnisse der Peakhöhen und -flächen zwischen OS und 4-MOS (IS) zeigt sich erwartungsgemäß eine Unabhängigkeit vom Volumenstrom (Abb. 7.5).

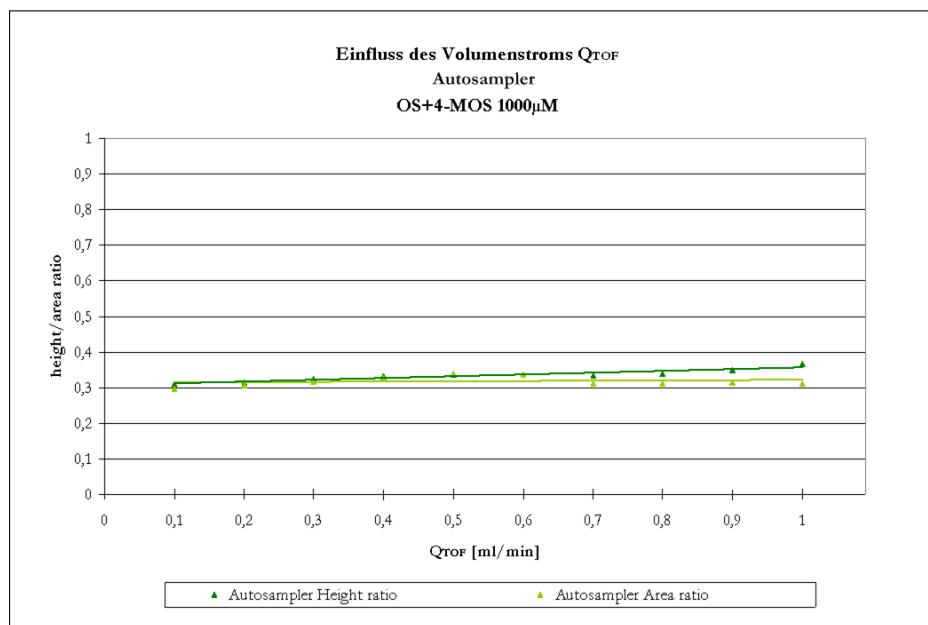


Abbildung 7.5: Einfluss des Volumenstroms Q_{TOF} auf die Signalstärke, Autosampler

Da in diesem Fall bewusst das Probenvolumen in Abhängigkeit von der Zeit (ml/min) variiert wird, und eine Abnahme der Peakhöhe bei gleichzeitiger Zunahme der Peakbreite vermutet wird, ist die Auswertung der Peakflächen interessant. Bei gleichem Probenvolumen liegt die Vermutung nahe, dass unabhängig vom Volumenstrom die Fläche konstant bleibt und somit die Peakfläche dem Probenvolumen entspricht. Interessanterweise nimmt die Peakfläche mit Zunahme des Volumenstroms linear ab (vgl. Abb. 7.4). Mit Zunahme des Volumenstroms sinkt die Peakbreite, und da die Peakhöhe nur schwach mit zunehmendem Volumenstrom steigt, sinkt vermutlich demzufolge die Peakfläche.

7.2 Qualität der Messwerte: „Multiport-Ventil“ und ESI-TOF

7.2.1 System „Multiport-Ventil“

Das System „Multiport-Ventil“ wurde entsprechend dem Kap.6.2.6 aufgebaut und an das Analysegerät, das ESI-TOF, gekoppelt.

7.2.1.1 „Multiport-Ventil“ Konfiguration I - Kalibrierung mit Oktansäure

Es fand eine Qualifizierung der Kopplung ohne Reaktor statt, da das Verhalten der entwickelten Reaktorkopplung untersucht werden sollte. Dazu wurde die Pumpe P1 direkt an das Multiport-Ventil angeschlossen und eine Lösung mit einer unveränderlichen Substanz, also ohne ablaufende Reaktion, gefördert. Zur Qualifizierung des Systems „Multiport-Ventil“ mit TOF wird die Nachweisgrenze bestimmt. Dazu wurde Oktansäure in verschiedenen Konzentrationen $0,1\mu M$, $1\mu M$, $10\mu M$, $100\mu M$ und $1000\mu M$ mit der gleichen Menge von $4,34\mu l$ internen Standard (4-MOS) auf $25ml$ MeOH versetzt. Im Massenspektrum sind diese mit dem Masse-Ladungsverhältnis von $m/z_{(OS)} = 143,14$ und $m/z_{(4-MOS)} = 157,17$ im negativen ESI-Modus zu sehen.

Abbildung 7.6 zeigt eine Kalibermessung mit 20 Proben alle 10 Sekunden von einer Konzentration beginnend mit $0,1\mu M$, $1\mu M$, $10\mu M$ dann $100\mu M$ und $1000\mu M$. Das Volumen der Probenschleife beträgt $5\mu l$ bei einer Probenlänge von $0,5sek$.

Das Rauschniveau (=Grundrauschen) liegt bei $1 \cdot 10^6$. Die erste detektierbare Konzentration ist $10\mu M$ mit einer Signalstärke von etwa $2 \cdot 10^6$, das entsprechende Signal-Rauschniveau ist somit 2:1. Für $100\mu M$ beträgt sie $5 \cdot 10^6$ und für $1000\mu M$ $4,5 \cdot 10^7$. Der Kalibrierkurve kann ein linearer Zusammenhang zwischen Konzentration und Signalstärke entnommen werden.

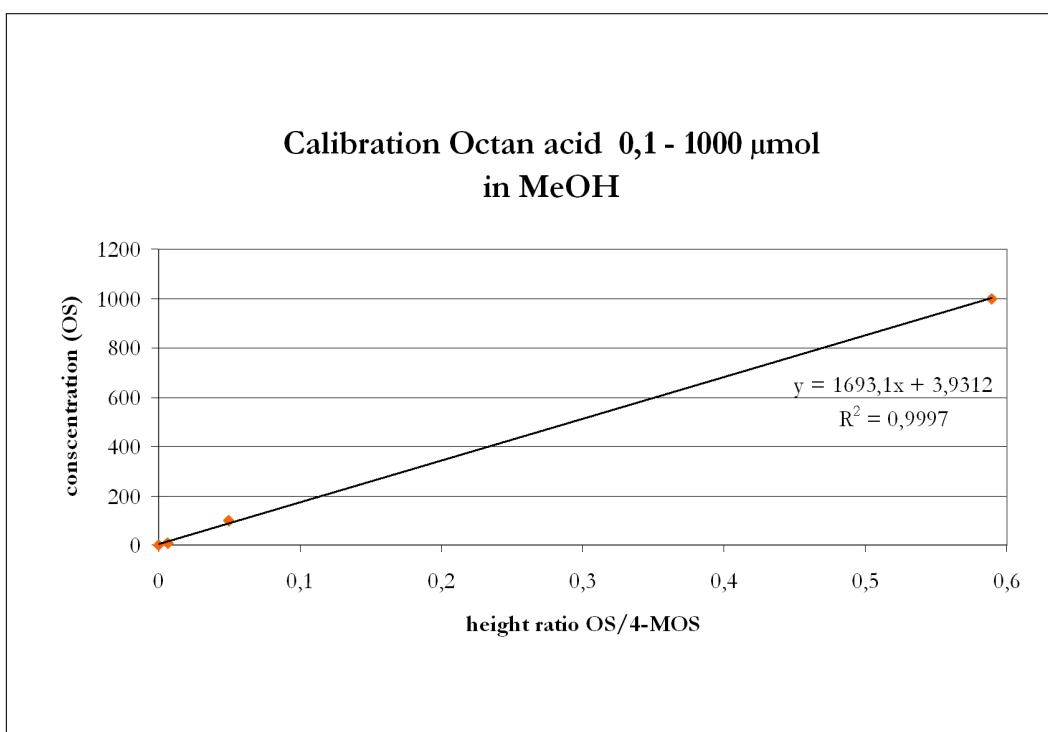


Abbildung 7.6: Kalibrierkurve von Oktansäure und IS (4-MOS)

7.2.1.2 „Multiport-Ventil“ Konfiguration I - Kalibrierung mit Salicylaldehyd

Die zweite Kalibrierung erfolgte analog mit Salicylaldehyd. Gemessen wurden vier Konzentrationen 1ppm , 10ppm , 100ppm und 1000ppm . Die Probe enthielt keinen internen Standard. Das Masse/Ladungsverhältnis im ESI- beträgt $\text{m/z}=121,01$. Das verwendete Lösungsmittel ist 20% ACN + 80% H₂O + $0,1\%$ HCOOH. Das Volumen der Probenschleife ist $3\mu\text{l}$ bei einer Probenlänge von 1sek . Die Volumenströme der Pumpen P1 sowie der TOF-Volumenstrom (P3) betragen $1\text{ml}/\text{min}$. Es wurden 5 Proben alle 10 Sekunden gezogen.

Abbildung 7.7 zeigt zusammengefasst das extrahierte Spektrum für Salicylaldehyd im negativen (pink) und positiven (blau) ESI Modus. Das erste deutliche Signal trat ab 100ppm auf und zwar im negativen ESI Modus. Die Signalstärke liegt etwa 6fach, für 1000ppm etwa 40fach über dem Rauschniveau. Für 10ppm deuten sich Peaks an ($\approx 1,5$ faches Rauschniveau), somit liegt die Empfindlichkeitsgrenze zwischen 10ppm und 100ppm mit Tendenz zur unteren Grenze.

Zum Ende der Messung wurde anstelle der Probe reines Lösungsmittel gezogen (20%ACN

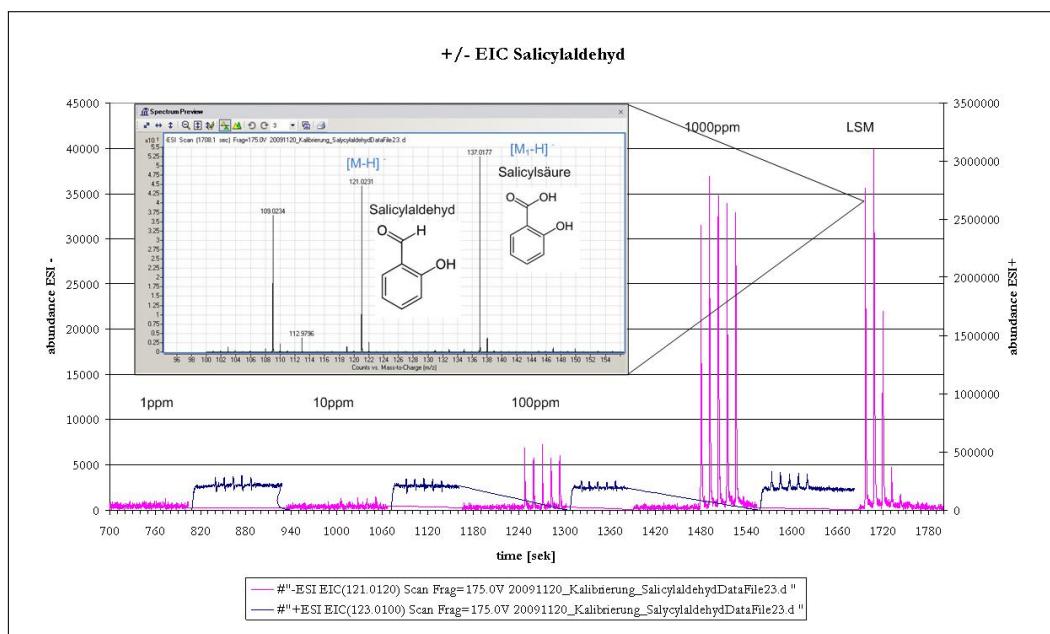


Abbildung 7.7: +/- ESI Kalibrierung Salicylaldehyd

80%H₂O, 0,1% HCOOH). Es zeigt sich ein schnelles Abklingen des Signals von weniger als 1min. Zu bedenken ist, dass bei dem verwendeten Aufbau dieser Probenrückstand von 1min der Probenzufuhr bis zur Probenschleife zu schulden ist, welche bei einem Volumenstrom von 1ml/min etwa 50sek entspricht. Dieses Totvolumen setzt sich aus Probenzufuhr zur Pumpe (0,23ml), dem Pumpenkopf von 0,5ml und der Kapillaren (0,1ml) bis zur Probenschleife zusammen. Dies ist im Aufbau mit dem Reaktor kein Problem, da durch die Pumpen P1 und P2 nur die Edukte dem Reaktor hinzugeführt werden, danach stellt sich die Reaktion im Reaktor ein, und zeitgleich befindet sich die Probe des zu analysierenden Reaktionsstadiums in der Probenschleife. Somit ist die Dauer, bis die Probe das System verlassen hat, weniger als 10sek.

Da die Probe keinen internen Standard IS enthielt, lässt sich kein Verhältnis der Peakflächen (height Ratio) von Probe zu IS ermitteln. Alternativ wurde in Abbildung 7.8 der Zusammenhang zwischen Peakfläche abhängig von der Salicylaldehydkonzentration dargestellt. Es stellt sich ein linearer Zusammenhang heraus.

Die Probenentnahme und Analyse erfüllt die gestellten Anforderungen an die Kopplung. Es wird ein Probenvolumen von wenigen μ l gezogen. Die Dauer, bis die Probe das TOF erreicht, ist weniger als eine Sekunde. Der Abstand zwischen 2 Proben liegt im Schnitt bei 5sek. Die minimale detektierbare Konzentration ist 10ppm (Salicylaldehyd).

Das Totvolumen der Kopplung, also der Probenentnahme bis ins TOF, ist sehr ge-

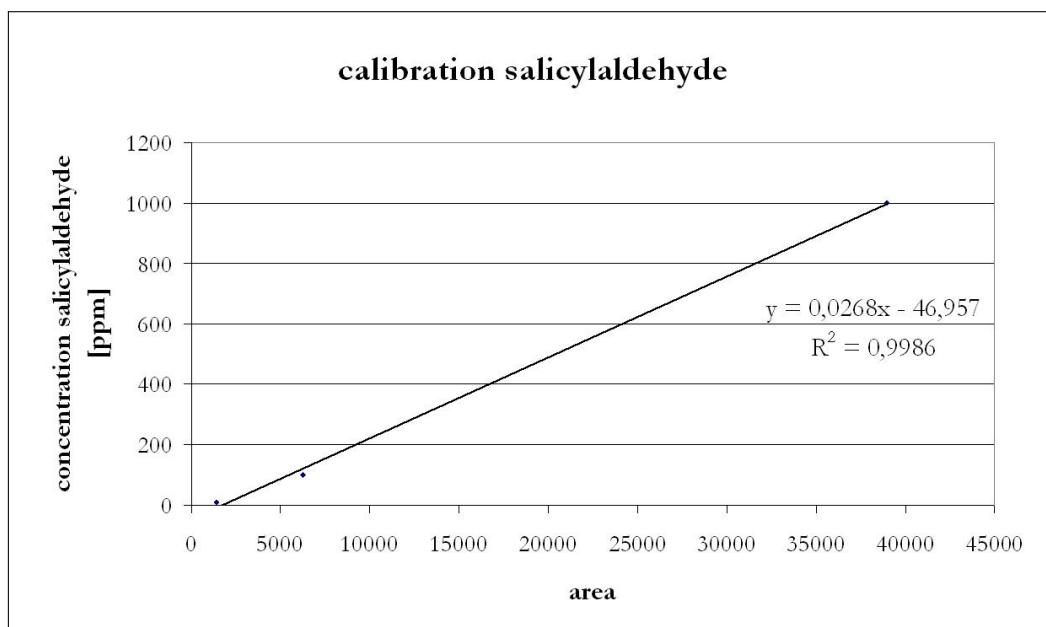


Abbildung 7.8: Salicylaldehyd

Delay	Peakhöhe	Rauschen	Min. Signal
	10ppm:1500		10-100ppm
<1sek	100ppm:6000	1000	(Tendenz zu 10ppm)
	1000ppm:40000		

Tabelle 7.1: Zusammenfassung

ring. Mit der Probenschleife von $3\mu l$ und dem Totvolumen des VICI-Ventils von $2 \times 5\mu l$ ergibt sich ein für die Probenentnahme relevantes Totvolumen von $13\mu l$. Hinzu kommt das Volumen der zum TOF führenden Kapillaren.

7.2.1.3 „Multiport-Ventil“ Konfiguration I - Tryptophan und NFT

Dem zur weiteren Untersuchung integrierten $1ml$ Reaktor wurde kontinuierlich eine Probe mit $0,5ml/min$ zugeführt. Die Probenlösung enthielt $1000ppm$ Trp und $1000ppm$ NFT in ACOH, 1:3 verdünnt in ACOH. Es fand keine Reaktion statt. Das Probenentnahmesystem entnahm 20 Proben mit einem Abstand von $30sek$. Das Probenschleifenvolumen betrug $3\mu l$ bei einer Probenentnahmedauer von $0,2sek$. Der Volumenstrom ins EST-TOF ist $Q_{TOF}=1ml/min$. Abbildung 7.9 zeigt den TIC sowie die extrahierten Chromatogramme

für NFT und Tryptophan.

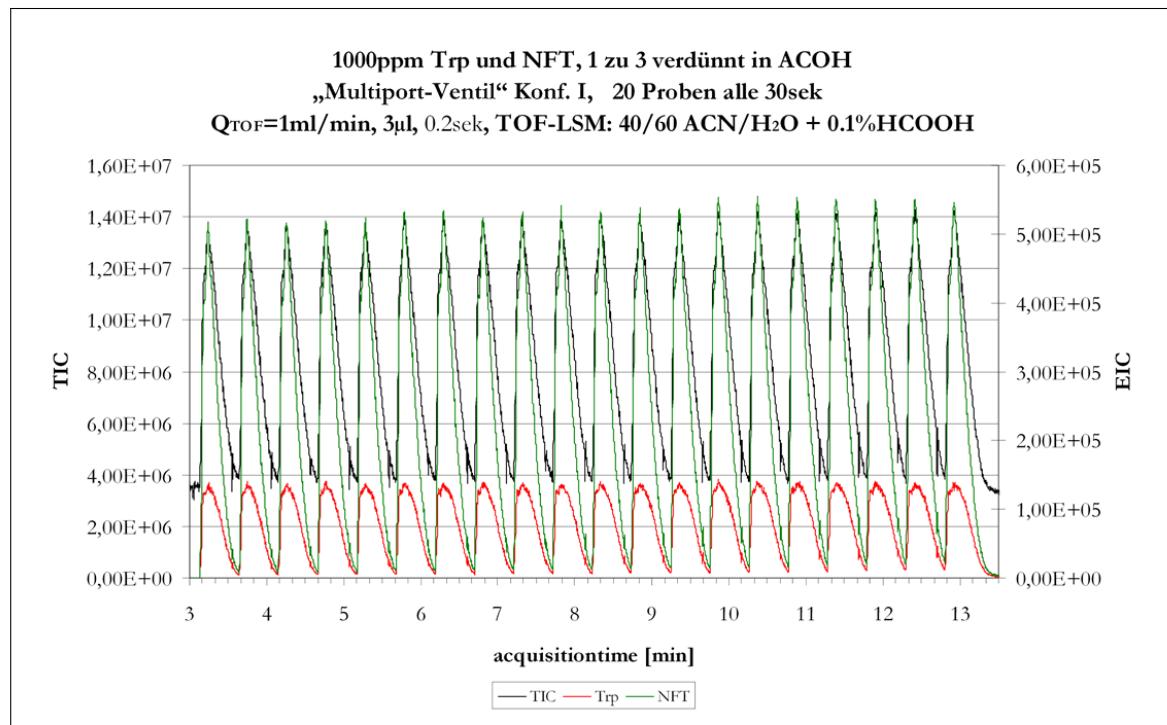


Abbildung 7.9: Konsistenz: Reaktor Probenentnahme mit „Multiport-Ventil“ Konf. I

Aus den Messreihen wurde ein Verzögerung des Probeneintreffens (Delay), d.h. die Zeit vom Schalten des VICI-Ventils (PosB-Probenentnahme) bis zum Signal im TOF, von 6 sek ermittelt. Die Peakbreite bei einem Volumenstrom von $Q_{TOF}=1\text{ ml/min}$ beträgt 30 sek . Die Signalstärke (height) für die Probenlänge von $0,2\text{ sek}$ liegt für NFT bei 500.000 , für Trp bei $1,4 \cdot 10^5$.

Tryptophan und NFT setzen sich stärker fest als das analysierte Salicylaldehyd. Die Peakbreite liegt bei einem Volumenstrom ins TOF von 1 ml/min bei 30 sek . Das System wurde dahingehend erneut konfiguriert.

7.2.2 Systemanpassung „Multiport-Ventil“

Im ersten Schritt wurde die HNPM Pumpe mzl2905 durch die leistungsstärkere Pumpe mzl4605 (vgl. Tabelle A.2) ausgetauscht. Durch den Wechsel auf $40/60\text{ ACN/H}_2\text{O}+0,1\text{ \%HCOOH}$ liegt die Viskosität des Lösungsmittels bei $0,65\text{ mPas}$ (Grande et al. [2006]). Die Viskositätsgrenze der mzl2905 liegt bei einem Gegendruck von 6 bar und einem För-

derstrom von $1ml/min$ bei $0,5mPas$. In der Kennlinie ist der Arbeitspunkt für das ACN/Wasser Gemisch eingezeichnet. Die Pumpe fördert am Rande ihrer maximalen Drehzahl von $6000U/min$. Die mzs4605 fördert unter den gleichen Bedingungen mit knapp $3000U/min$ und ist somit erste Wahl.

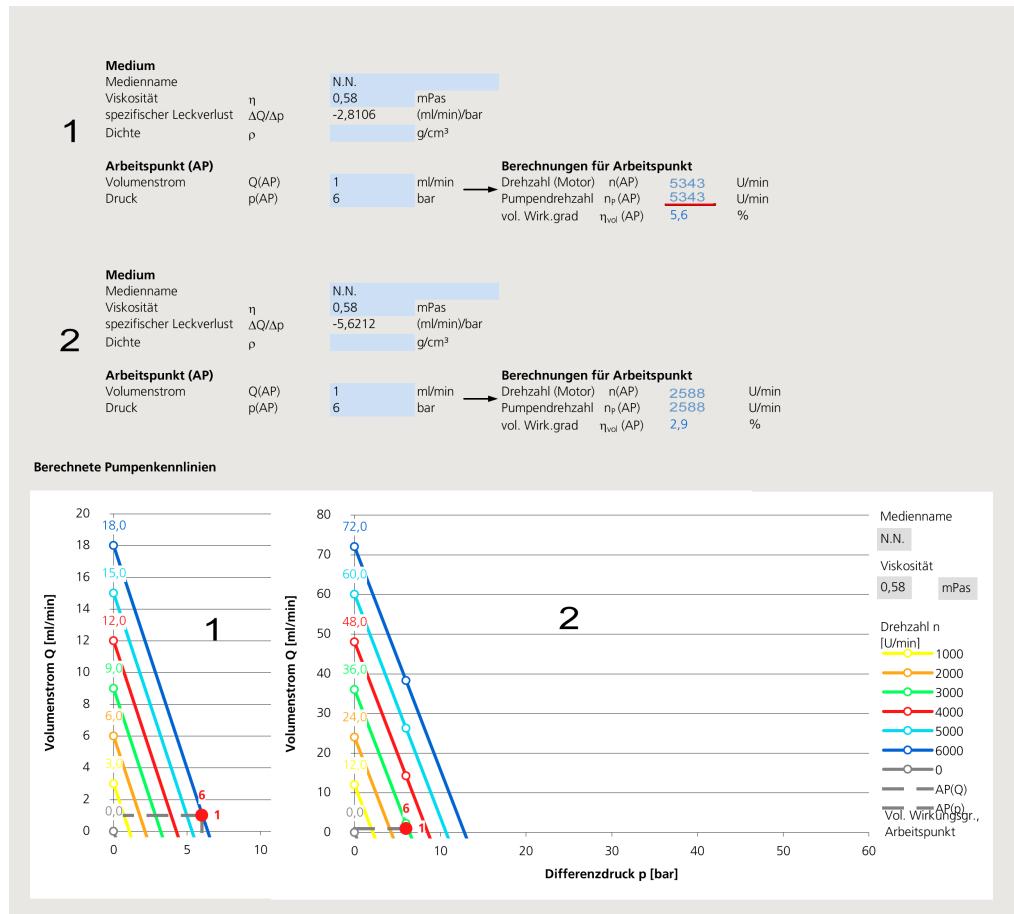


Abbildung 7.10: Gegenüberstellung der Arbeitspunkte der Pumpen mzs2905 und mzs4605

Weiterhin konnte die ins TOF führende Kapillare von $36,5cm$ auf $17cm$ gekürzt werden und gleichzeitig statt $0,5mm$ Durchmesser eine $0,25mm$ dünne Kapillare gewählt werden. Das Kapillarvolumen wurde reduziert von $7\mu l$ auf $<1\mu l$. Somit beträgt das für die Probenentnahme relevante Systemvolumen $14\mu l$, welches sich zusammensetzt aus Totvolumen des VICI-Ventils, der $3\mu l$ Probenschleife und der TOF-Kapillaren. Im Folgenden

wird das „Multiport-Ventil“ Konfiguration II validiert.

7.2.2.1 „Multiport-Ventil“ Konfiguration II - Kalibrierung mit Oktansäure

Nach der Neukonfiguration wurde erneut die Nachweisgrenze mit Oktansäure in den verschiedenen Konzentrationen mit je $4,34\mu l$ internen Standard (4-MOS) je $25ml$ Lösungsansatz bestimmt. Das Lösungsmittel zur Ionisierung der Probe ist $40/60 ACN/H_2O + 0,1\% HCOOH$.

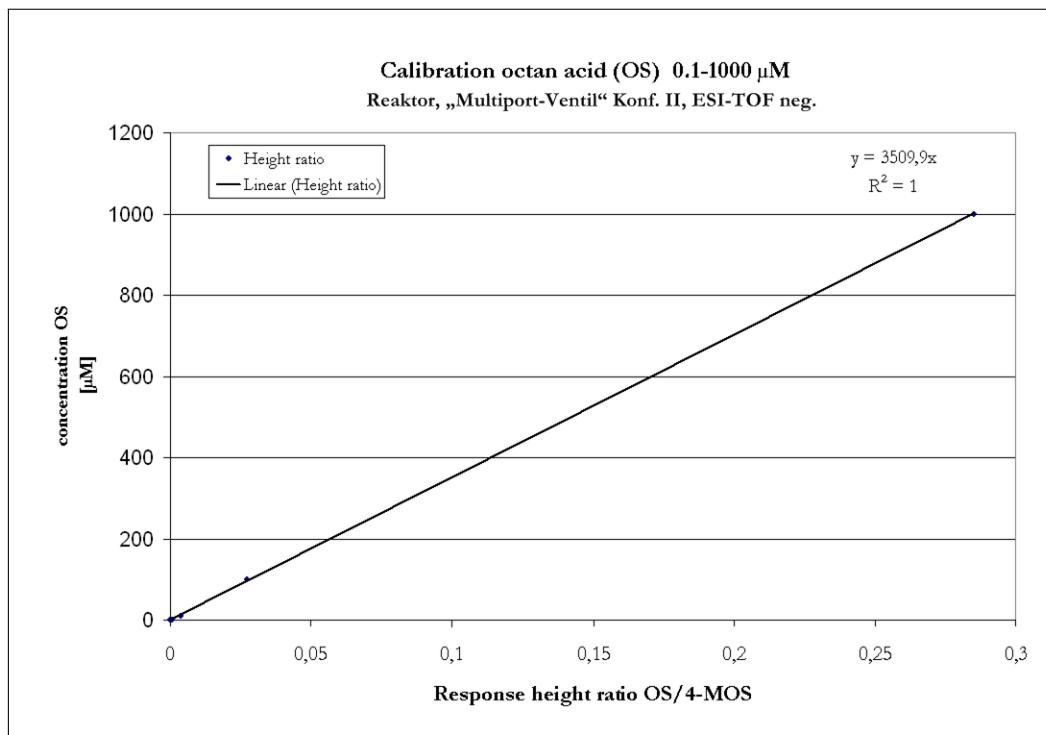


Abbildung 7.11: Kalibrierkurve von Oktansäure und IS (4-MOS), „Multiport-Ventil“ Konf. II

Abbildung 7.11 zeigt eine Kalibermessung mit 10 Proben alle 10 Sekunden von einer Konzentration beginnend mit $0,1\mu M$, $1\mu M$, $10\mu M$ dann $100\mu M$ und $1000\mu M$. Das Volumen der Probenschleife beträgt $3\mu l$ bei einer Probenlänge von $0,2sek$.

Das Grundrauschen liegt bei $1 \cdot 10^2$. Bereits die kleinste Konzentration von $0,1\mu M$ ist mit einer Signalstärke von etwa 400 detektierbar. Die Signalstärke (height) für $1\mu M$ beträgt etwa 800 und bei einer Konzentration von $1000\mu M$ bei knapp 400000. Der Kalibrierkurve kann ein linearer Zusammenhang zwischen Konzentration und Signalstärke entnommen

werden.

7.2.2.2 „Multiport-Ventil“ Konfiguration II - Tryptophan und NFT

Dem Reaktor wurde wiederum ein kontinuierlicher Probenfluss von $0,5\text{ml}/\text{min}$ zugeführt. Die Probenlösung enthielt 1000ppm Trp und 1000ppm NFT in ACOH, 1:3 verdünnt in ACOH. Es fand keine Reaktion statt. Das Probenentnahmesystem entnahm 20 Proben mit einem Abstand von nur 10sek und förderte diese mit einem Volumenstrom von $Q_{\text{TOF}}=1\text{ml}/\text{min}$ ins ESI-TOF. Das Probenschleifenvolumen betrug $3\mu\text{l}$ bei einer Probenentnahmedauer von $0,2\text{sek}$.

Abbildung 7.12 zeigt den TIC sowie die extrahierten Chromatogramme für NFT und Tryptophan.

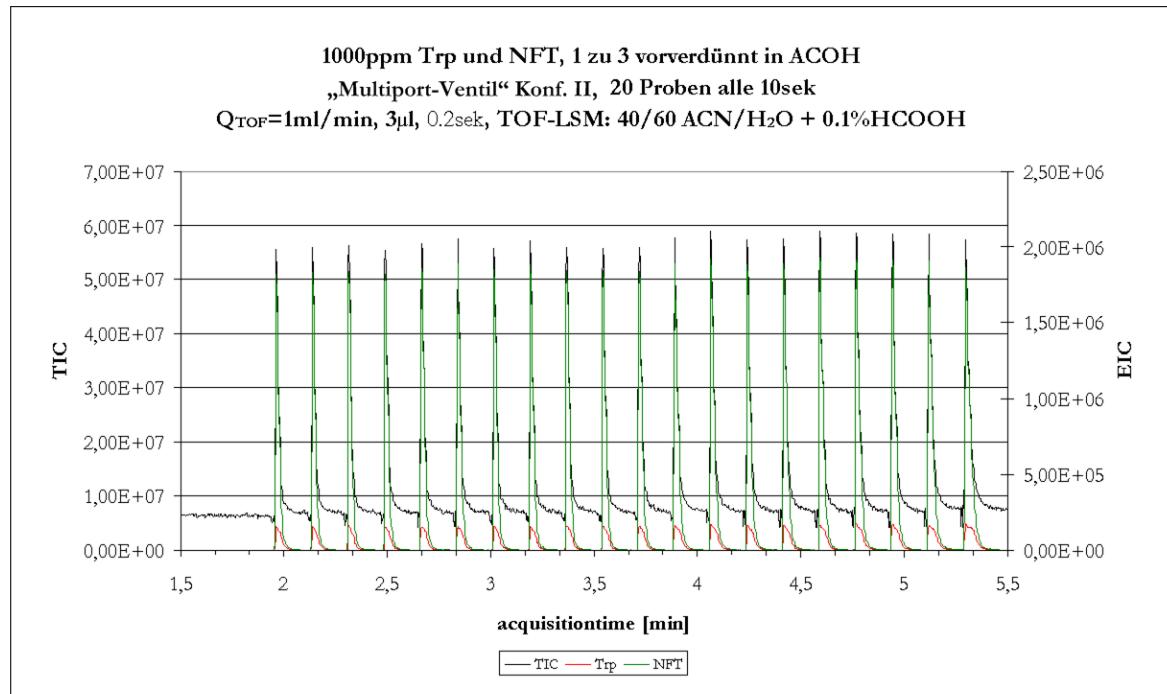


Abbildung 7.12: Konsistenz: Reaktor Probenentnahme mit „Multiport-Ventil“ Konf. II, nach Systemkonfiguration

Die Messreihen ergaben ein Verzögerung des Probeneintreffens von $0,78\text{sek}$, also weniger als 1sek . Die Peakbreite bei einem Durchfluss von $Q_{\text{TOF}}=1\text{ml}/\text{min}$ beträgt für NFT und Trp bei einer Probenlänge von $0,2\text{sek}$ 5sek . Die Signalstärke (height) für NFT liegt hierfür bei $1,8\text{Mio}$. Für Tryptophan beträgt sie $1,6 \cdot 10^5$.

7.2.2.3 Vergleich der Ergebnisse vor und nach der Systemkonfiguration (I + II)

Aus der Kalibriermessung mit Oktansäure zeigt sich, dass Konzentrationen mit $0,1\mu M$ statt vorher $10\mu M$ detektiert werden konnten. Es gelangt somit mehr von der vom Probennahmesystem entnommenen Probe in das TOF zur Analyse. Somit hat sich die Systemempfindlichkeit von Probennahmesystem mit TOF durch die Systemanpassung gesteigert.

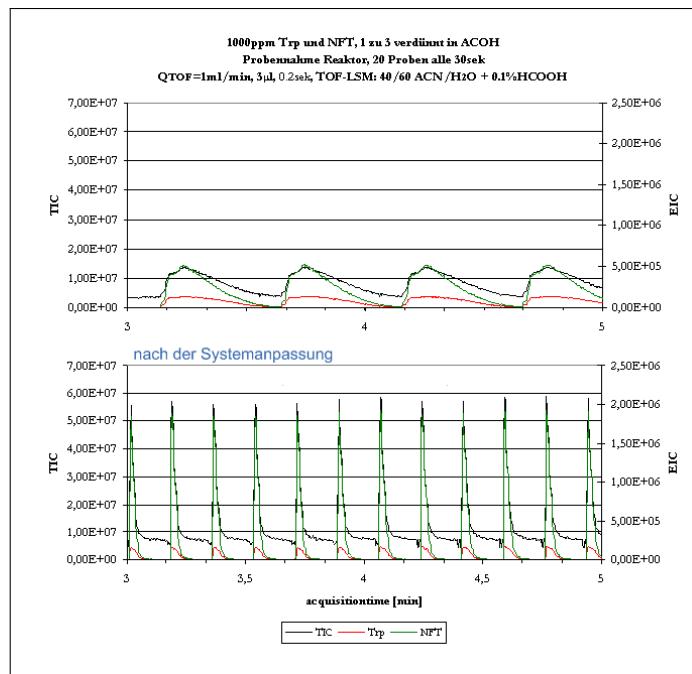


Abbildung 7.13: Vergleich der Signale vor und nach der Systemanpassung

Die Systemkonfiguration hat deutliche Verbesserungen in der Signalqualität bewirkt (vgl. Abb. 7.13). Für Trp und NFT hat sich die Peakbreite gedrittelt, die Signalstärke (height) um den Faktor 3,5 vergrößert und die Peakfläche (area) ebenfalls gedrittelt. Besonders wichtig ist auch, dass das Delay des Probeneintreffens um knapp 90% auf unter einer Sekunde verkürzt werden konnte. Es sind nun Messungen der Tryptophanreaktion alle 10sek statt vorher alle 30sek möglich.

Messungen mit Salicylaldehyd 100ppm wiesen eine noch geringere Peakbreite von 3sek auf. Die Länge der Messabstände einzelner Proben ist abhängig von der Reaktion und deren Konzentration.

Als untere technische Grenze des Probennahmeabstands wurde eine Dauer von 2sek

ermittelt (vgl. Abb. 7.14).

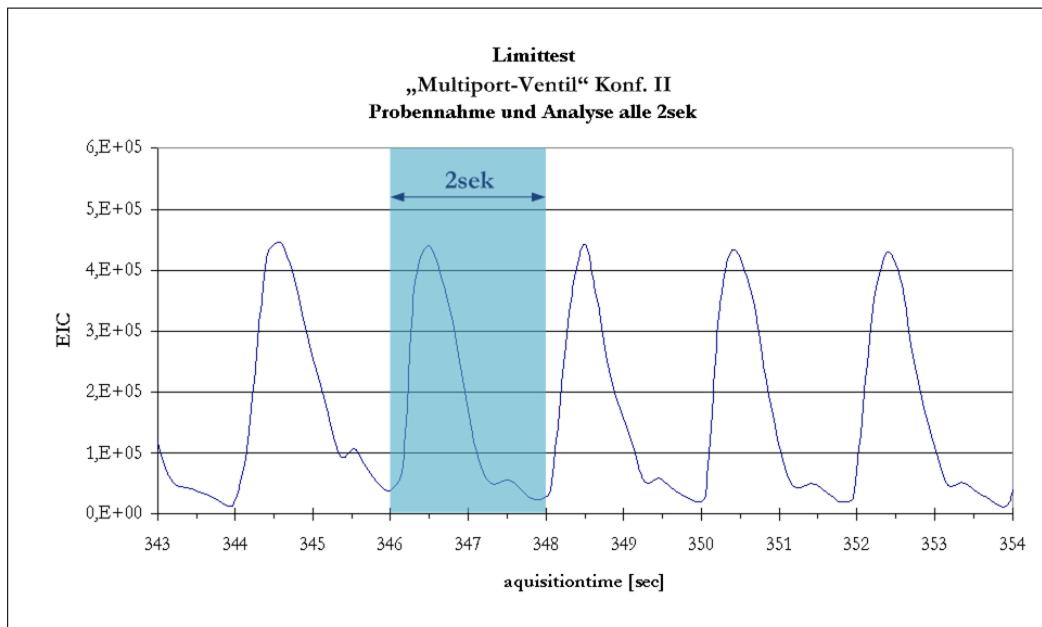


Abbildung 7.14: minimaler Probenabstand des Probenentnahmesystems

7.2.2.4 „Multiport-Ventil“ Konfiguration II - Konstanz der Messung - Trp + ASS, OS + 4-MOS

Durch den $1ml$ Reaktor wurde ein konstanter Volumenstrom von $0,5ml/min$ mit einer Lösung von $1000ppm$ Tryptophan und $1000ppm$ Acetyl-Salicylsäure (ASS) eingestellt. Im Abstand von 10sek wurde 100mal automatisch eine $3\mu\text{l}$ Probe bei einer Probenentnahmedauer von $0,2\text{sek}$ entnommen und im ESI-TOF im negativen Modus gemessen. Der Volumenstrom Q_{TOF} betrug $1ml/min$. Das Lösungsmittel zur Ionisierung der Probe ist $40/60 ACN/H_2O + 0,1\% HCOOH$.

Abbildung 7.15 zeigt einen Ausschnitt aus der Messreihe. Die Peakbreite von Tryptophan beträgt $5,2\text{sek}$. Die Peakhöhe von Tryptophan beträgt $8,2 \cdot 10^5$.

Eine weitere Messung mit $4,34\mu\text{l}$ 4-MOS auf $25ml$ MeOH zeigte ebenfalls ein konstantes Verhalten der Messwerte. Es wurde wiederum 100mal alle 10sek eine $3\mu\text{l}$ Probe mit einer Probenentnahmedauer von $0,2\text{sek}$ entnommen, bei einem Volumenstrom von $Q_{TOF}=1ml/min$. Die Peakhöhe für 4-MOS beträgt $1,26 \cdot 10^6$ mit einer Abweichung vom Mittelwert von $6,6\%$.

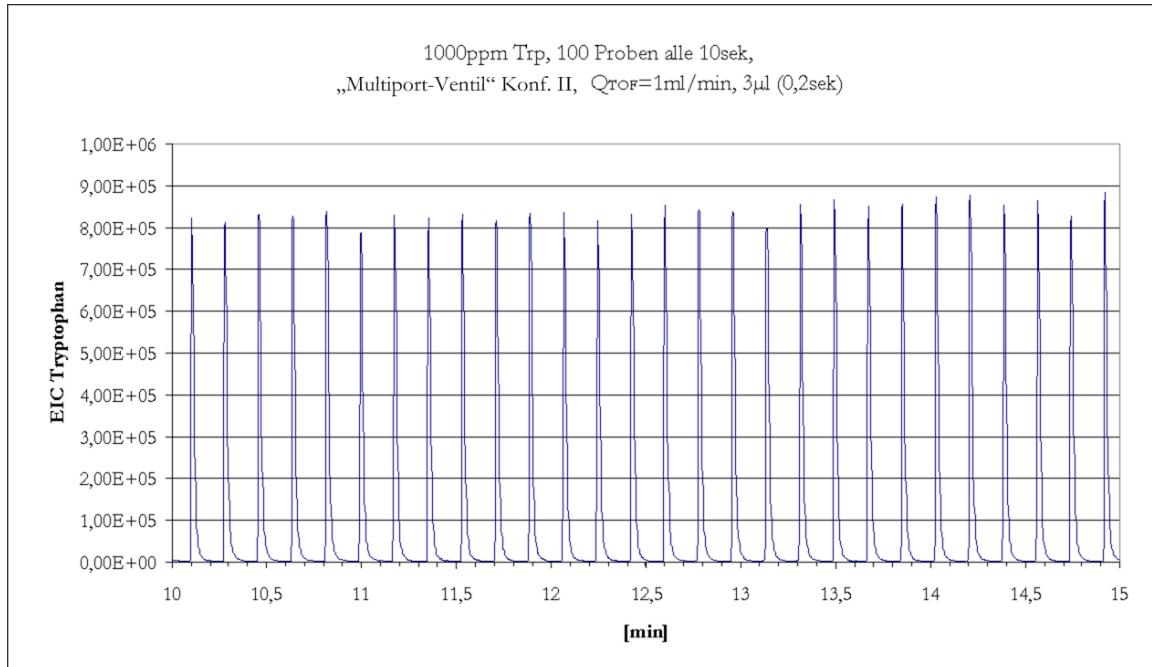


Abbildung 7.15: Konsistenz der Messwerte des Systems „Multiport-Ventil“ Konf. II

7.2.2.5 „Multiport-Ventil“ Konfiguration II - Einfluss der Probenentnahmelänge

Befindet sich das VICI-Ventil in der Position A, wird die Probenschleife vom Reaktoroutput durchflossen. Schaltet das Ventil in Position B für die Dauer der Probenentnahme, durchströmt das Lösungsmittel der Pumpe P3 kurzzeitig die Probenschleife und fördert danach die Probe ins TOF. In den vorherigen Messungen wurde die Probenentnahmelänge auf 0,2sek eingestellt. Diese Zeit gibt an, wie lange die Probenschleife vom Volumenstrom der Pumpe P3 bei der Probenentnahme durchflossen wird. Bei einem Schleifenvolumen von $3\mu\text{l}$ und bei einem Durchfluss von $Q_{TOF}=1\text{ml}/\text{min}$ wird die $3\mu\text{l}$ -Schleife idealerweise in 200ms komplett einmal durchströmt. Untersucht wurde der Einfluss der Probenentnahmelänge auf die Signalstärke. Die minimale Schaltzeit des Ventils liegt bei 200ms (Herstellerangabe).

Aus der Messreihe mit Salicylaldehyd mit Schaltzeiten von 0,2sek, 0,5sek, 0,7sek und 1sek zeigte sich, dass die tatsächlichen Schaltzeiten höher waren. Die tatsächlichen Schaltzeiten sind daran zu erkennen, dass sich im TIC Signal der Messung zu jeder Schaltung des VICI-Ventils ein deutlicher Peak abzeichnet. Für 0,2sek ergibt sich eine tatsächliche Schaltdauer von 360ms, für 0,5sek 780ms, für 0,7sek 960ms und für 1sek 1200ms. Die

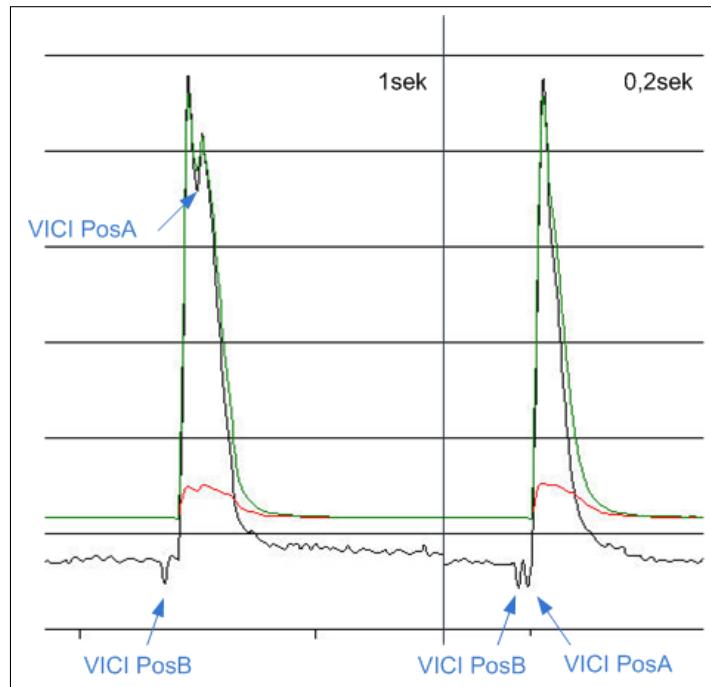


Abbildung 7.16: Überschneidung des Schaltvorgangs des VICI-Ventils mit der Analyse, 1sek und 0,2sek

Verzögerung entsteht vermutlich bei der Verarbeitung und Übermittlung der Daten an das Ventil. Die Abweichungen vom eigentlich linearen Zusammenhang zwischen tatsächlichen und eingestellten Schaltzeiten besteht aufgrund der diskreten Messung alle 3ms. Die Signalstärke zeigte kaum eine Abhängigkeit von der Dauer der Probenentnahme. Das Probenschleifenvolumen wird bereits bei der kleinstmöglichen Schaltzeit von 200ms fast vollständig genutzt. Gute Ergebnisse zeigten sich für eine Dauer von bis zu 0,5sek als obere Grenze, welche gleich der Dauer bis zum Eintreffen der Probe am TOF entspricht. Dabei ist der Schaltvorgang des Ventils vor der Analyse abgeschlossen und es entstehen keine Doppelpeaks, die das Messergebnis verfälschen (vgl. Abb. 7.16). Als default-Einstellung für das System werden 200ms Probenlänge gewählt.

7.2.2.6 „Multiport-Ventil“ Konfiguration II - Einfluss des Volumenstroms ins ESI-TOF (Q_{TOF})

Dem Reaktor wurde ein konstanter Volumenstrom mit einer $1000\mu M$ OS Probe mit 4-MOS ($4,34\mu l$ auf $25ml$) als internen Standard mit $0,5ml/min$ hinzugeführt. Es fand keine

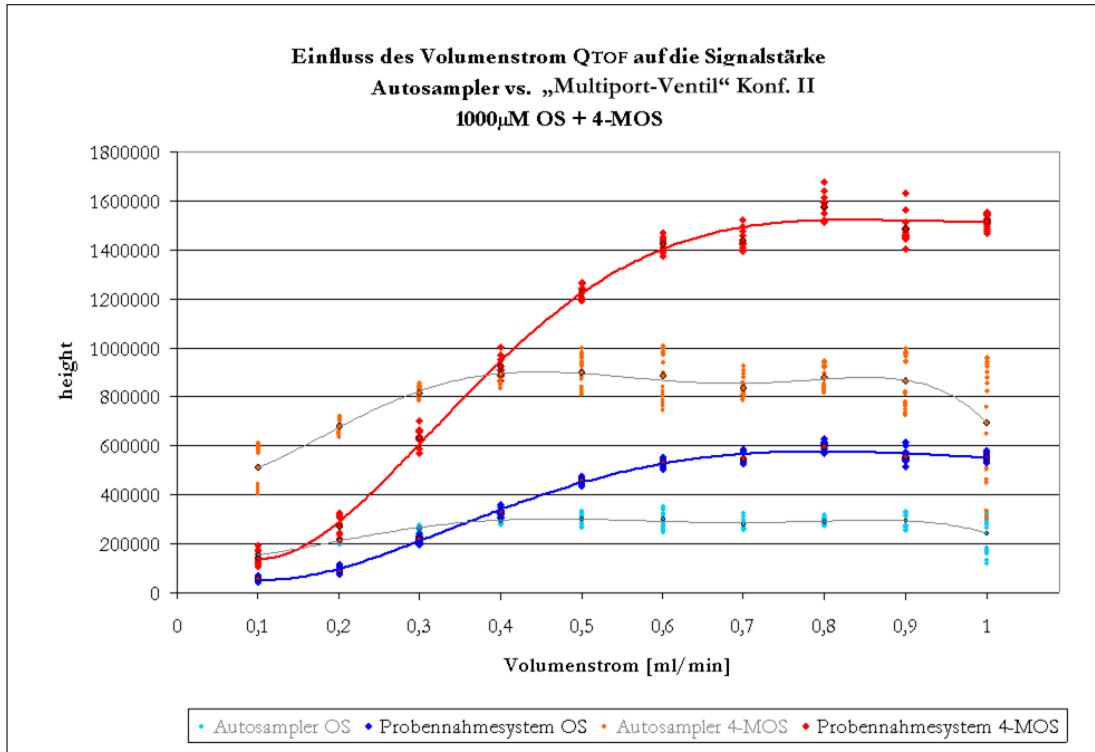


Abbildung 7.17: Einfluss von Q_{TOF} auf die Signalstärke, Reaktor mit automatischer Probenentnahme durch „Multiport-Ventil“ Konf. II vs. Autosampler

Reaktion statt. Mit dem Probenentnahmesystem wurden 10 Proben alle 10sek entnommen. Das Volumen der Probenschleife beträgt $3\mu l$ bei einer Probenentnahmedauer von 200ms.

Variiert wurde der Volumenstrom Q_{TOF} von $0,1ml/min$ bis $1ml/min$. Diagramm 7.17 zeigt den Zusammenhang zwischen Peakhöhe und Volumenstrom im Vergleich mit den Ergebnissen des Autosamplers. Das Probenentnahmesystem verhält sich erwartungsgemäß. Mit Zunahme des Volumenstroms erhöht sich deutlich die Peakhöhe. Vergleicht man die Peakhöhe des Volumenstroms von $0,1ml/min$ mit $1ml/min$ ergibt sich eine Erhöhung der Peakhöhe um den Faktor 10.

Bei einem Volumenstrom von $1ml/min$ wird die $3\mu l$ Probenschleife idealerweise in 200ms (real 360ms) durchflossen. Durch die Verringerung des Volumenstroms wird nur ein Teil der Probe der Schleife entnommen. Dadurch nimmt die Peakfläche mit Verringerung von Q_{TOF} ab und die Peaks werden flacher und breiter. Die Peakfläche nimmt somit anders als beim Autosampler mit höherem Volumenstrom linear zu. Das Verhäl-

nis zwischen kleinstem und größtem Volumenstrom ist 1:5, doppelt so hoch wie beim Autosampler.

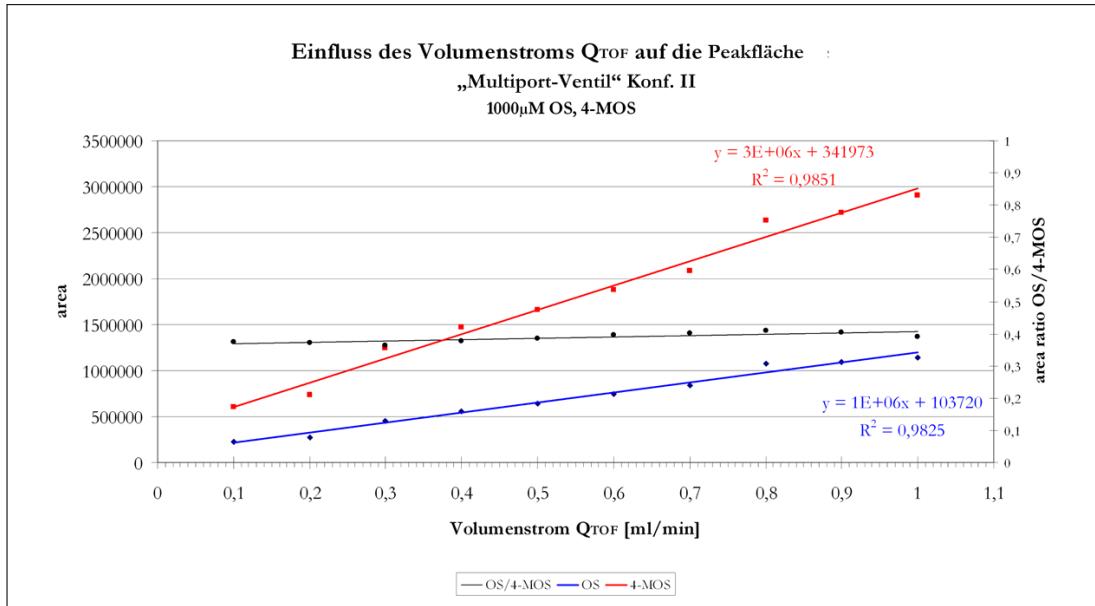


Abbildung 7.18: Einfluss von Q_{TOF} auf die Signalstärke, Reaktor automatische Probenentnahme „Multiport-Ventil“ Konf. II

Das Verhältnis zwischen OS und internem Standard bleibt trotz Variation des Volumenstroms wie erwartet konstant mit den Werten height ratio=0,37 und area ratio=0,39 (vgl. Abb. 7.18).

7.2.3 Ergebnisse - „Multiport-Ventil“

7.2.3.1 Vergleich Probenentnahmesystem „Multiport-Ventil“ Konfiguration II mit Autosampler

Das entwickelte Probenentnahmesystem „Multiport-Ventil“ stellt keinen Ersatz für den Autosampler dar. Die Anwendungsgebiete sind unterschiedlich allein schon durch die Übergabe der Probe an das jeweilige Probenentnahmesystem. Dem Autosampler werden die Proben in GC-Vials bereitgestellt. Dem entwickelten System wird ein kontinuierlicher Probenfluss mit einem beliebigen Volumenstrom zugeführt. Die Probenentnahme wie auch die Weiterleitung an das ESI-TOF erfolgen automatisch. Die Dauer von Probenentnahme bis zur Analyse liegt unter 1 Sekunde. Abhängig von der Probe sind Analysen im Abstand von 2sek möglich. Das Probenvolumen beträgt $3\mu l$, kann aber durch Wechsel

der Probenschleife variiert werden. Die Möglichkeit zur Beeinflussung der Signalstärke ist über den Volumenstrom gegeben und ermöglicht die Beeinflussung der Peakhöhe um den Faktor 10, der Peakfläche um den Faktor 5 (1000ppm Oktansäure). Eine Beeinflussung der Peakfläche durch den Volumenstrom des Autosamplers liegt bei 2,3. Es zeigte sich eine gleiche oder deutlich höhere Empfindlichkeit des entwickelten Systems im Vergleich zum Autosampler. Konnte Oktansäure bei der Probennahme durch den Autosampler ab einer Konzentration von $10\mu M$ durch das TOF detektiert werden, liegt die Nachweisgrenze des Probenentnahmesystems „Multiport-Ventil“ bei nur $0,1\mu M$. Die Konstanz der Messwerte ist abhängig von der analysierten Probe. Mit 5-5,6% (Trp, ASS) und 6,6% (4-MOS) Abweichung liegen die Werte des Probenentnahmesystems geringfügig höher als die Abweichungen des Autosamplers von 3,1-3,4% (Trp, ASS) und 7% (4-MOS).

Der Vergleich mit dem Autosampler zeigte sinnvolle Ergebnisse und diente lediglich zur Orientierung und Einordnung der Messwerte der entwickelten Reaktorkopplung. Die Resultate des Probenentnahmesystems sind sinnvoll und reproduzierbar. Im Anschluss sind die wichtigsten Ergebnisse noch einmal gegenübergestellt.

- OS 0,1- $1000\mu M$
 - Nachweisgrenze
 - * Autosampler: $10\mu M$
 - * Probenentnahmesystem: **0,1 μM**
 - Signalstärke height OS 1000ppm:
 - * Autosampler: $2,1 \cdot 10^5$
 - * Probenentnahmesystem: $3,9 \cdot 10^5$
 - Signalstärke height 4-MOS 1000ppm:
 - * Autosampler: $7,7 \cdot 10^5$
 - * Probenentnahmesystem: **1,3Mio**
 - Konstanz (100 Proben):
 - * Autosampler: 7% 4-MOS; 6,6% OS
 - * Probenentnahmesystem: **6,6% 4-MOS**
 - height ratio OS/4-MOS 1000ppm:
 - * Autosampler: 0,27
 - * Probenentnahmesystem: 0,29
- 1000ppm Tryptophan + ASS

- Signalstärke height Trp 1000ppm:
 - * Autosampler: $9,3 \cdot 10^5$ (height ratio Trp/ASS = 10)
 - * Probenentnahmesystem: $8,2 \cdot 10^5$ (height ratio Trp/ASS = 7)
- Signalstärke height ASS 1000ppm:
 - * Autosampler: $9,3 \cdot 10^4$
 - * Probenentnahmesystem: $1,2 \cdot 10^5$
- Konstanz (100 Proben):
 - * Autosampler: 3,1% Trp; 3,4% ASS
 - * Probenentnahmesystem: 5% Trp; 5,6% ASS
- Peakbreite:
 - * Probenentnahmesystem: 4sek ASS, 5,2sek Trp
- Dauer Probenentnahme bis zur Analyse im TOF (Delay)
 - Autosampler: variiert zwischen 3sek und 9sek
 - Probenentnahmesystem: <1sek
- Einzelprobenabstand
 - Autosampler: 45sek (minimaler Probenabstand worklist)
 - Probenentnahmesystem: 2sek
- Einflussnahme auf Signalstärke
 - Autosampler: Q_{TOF} einstellbar von 0,1-1ml/min; height -; area 1:2,3
 - Probenentnahmesystem: Q_{TOF} einstellbar von 0,1-1ml/min; height 1:10; area 1:5

Für das Konzept „Multiport-Ventil“ wurde ein Funktionsnachweis (proof of principle) erbracht. Die an die Kopplung gestellten Anforderungen (vgl. Kap. 5) wurden mehr als erfüllt. Das System kann an verschiedene kontinuierliche Reaktorsysteme gekoppelt werden und entnimmt Proben von minimal $3\mu l$ aus einem kontinuierlichen Fluss, wobei das Volumen durch die Wahl der Probenschleife variiert werden kann. Die Dauer zwischen der Probenentnahme und der Analyse beträgt weniger als 1sek, wodurch eine Probenanalyse alle 2sek möglich ist. Es wurde sowohl die Konstanz der Messwerte als auch eine hohe Nachweisempfindlichkeit des Systems „Multiport-Ventil“ nachgewiesen. Nach der Eingabe der Messparameter und der Zufuhr der Edukte läuft die Messung autonom ab und bietet über die vorherige Eingabe eines Tables die Möglichkeit eines zeitlich nicht-linearen Monitorings der Reaktionsstadien. Die Auswertung erfolgt anhand der protokollierten Daten. Eine Online-Visualisierung erfolgt während der Messung mit der MassHunter Software.

7.3 Tryptophanreaktion zur Validierung des Systems „Multiport-Ventils“

Zur Validierung des Systems wurde folgende Reaktion gewählt (vgl. Abb. 7.19).

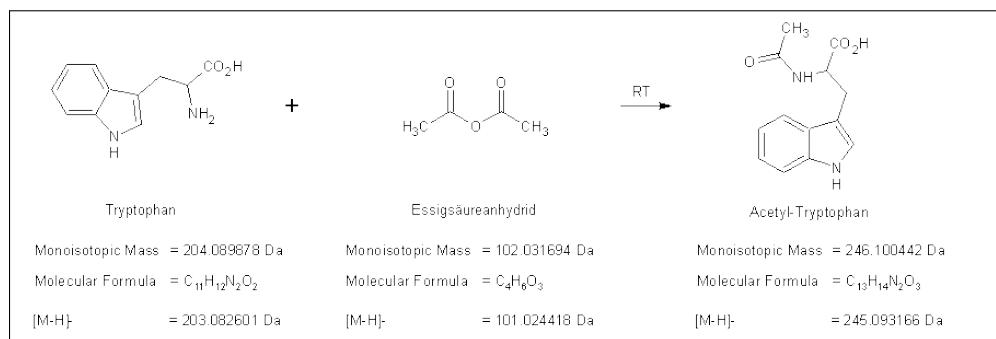


Abbildung 7.19: Tryptophanreaktion

Tryptophan (Trp) reagiert mit Essigsäureanhydrid (Ac_2O) zu N-Acetyl-Tryptophan (NAT). Die Reaktion läuft unter Raumtemperatur in Essigsäure (ACOH) ab. Als interner Standard (IS) wurde N-Formyl-Tryptophan (NFT) gewählt. Er hat nachweislich keinen Einfluss auf die Reaktion. In Abbildung 7.20 ist das Auftreten des NFT im Verlauf der Reaktion abhängig vom Reaktionsstadium dargestellt. Er nimmt nicht an der Reaktion teil und bleibt somit konstant (vgl. 7.20).

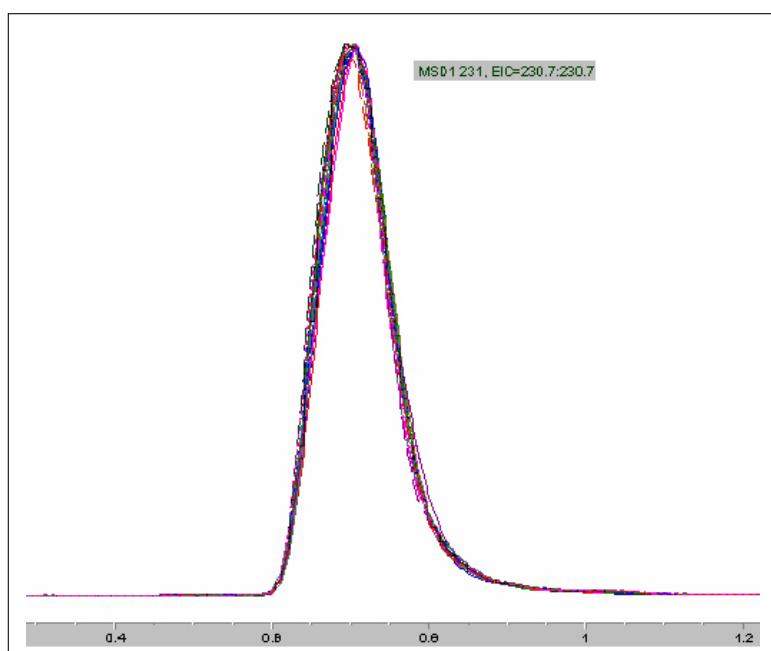


Abbildung 7.20: MSD Signal Reaktionsstadien t_s von 0min bis >1h (overlaid), NFT (IS)

7.3.1 Reaktion im GC-Vial - Vergleichsmessung

7.3.1.1 Messungen am LC/MSD

Eine Vergleichsmessung fand am Agilent 1100 Series Liquid Chromatograph/Mass Selective Detector (LC/MSD) mit ESI-Quelle statt. Dazu wurden in einem GC-Vial 1mg Trp und 1mg NFT abgewogen und in 1ml ACOH mittels Ultraschall gelöst (entspricht 1000ppm). Zum Starten der Messung wurde Ac_2O dazu gegeben. Die Reaktion lief im GC-Vial unter Raumtemperatur (RT) ab.

Gemessen wurde am MSD ESI mit chromatischer Auftrennung. Verwendung fand die Säule Eclipse XDB-C8 Rapid Resolution (4,6x50mm 3,5 μ m) von ZORBEX (Seriennummer: USGJ002098). Die Methode zur Messung (MCR_ANNE3.m) dauerte 2min. Die Lösungsmittelzusammensetzung ist 60% H_2O und 40% ACN. Die Temperatur der Säule betrug 50°C. Es wurde 5 μ l Probe mit einem Volumenstrom von 1ml/min injiziert.

Gleichbleibend bei allen dargestellten Reaktionen ist die Menge von 1mg Trp gelöst in 900 μ l ACOH, sowie 1mg NFT. Variiert wurde die Menge an Ac_2O von 10, 25, 50 und 100 μ l. Gemessen wurde nach 1,4min danach alle 3,4min.

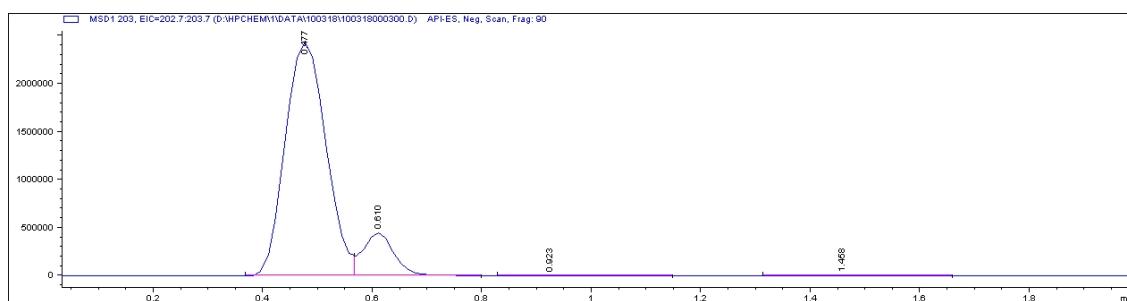


Abbildung 7.21: MSD Spektrum Trp, Tryptophanreaktion mit $50\mu\text{l } \text{Ac}_2\text{O}$ bei RT, Reaktionszeit $t_S=0\text{min}$

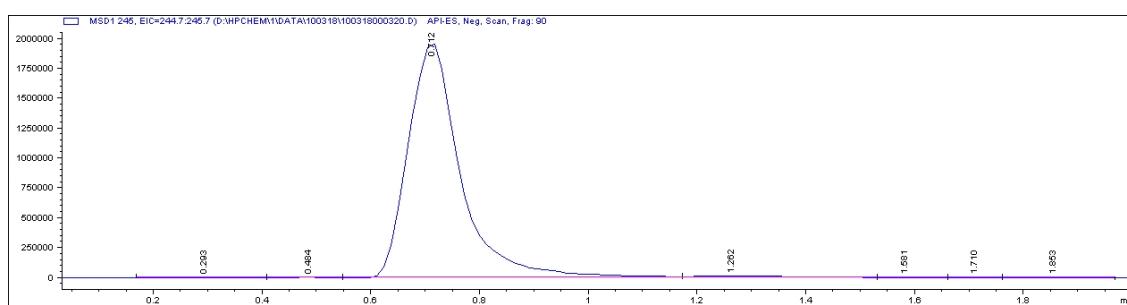


Abbildung 7.22: MSD Spektrum NAT, Tryptophanreaktion mit $50\mu\text{l } \text{Ac}_2\text{O}$, bei RT, Reaktionszeit $t_S=69,4\text{min}$

In den Abbildungen 7.21 und 7.22 sind das extrahierte Spektrum des Eduktes (Trp) zu Beginn der Reaktion ($t_s=0\text{min}$) und das Produkt (NAT) im fortgeschrittenen Reaktionsstadium ($t_s=69,4\text{min}$) dargestellt. Durch die chromatische Auftrennung verlässt das Tryptophan nach $0,47\text{min}$ und $0,61\text{min}$ die Säule, das Produkt NAT erreicht bei etwa $0,71\text{min}$ das Maximum. Für die Auswertung von Tryptophan wurden die Peakflächen des Doppelpeaks addiert.

Abbildung 7.23 zeigt die Reaktionsverläufe für die verschiedenen Mengen Ac_2O . Aufgetragen wurde die Peakfläche des Eduktes und des Produktes im Verhältnis zum internen Standard über der Reaktionszeit R_T . Mit Zunahme des Anteils des Essigsäureanhydrids nimmt das Edukt (Trp) schneller ab und das Produkt (NAT) gleichermaßen zu. Die Messungen zeigten, dass die Reaktion sehr schnell und bereits bei Raumtemperatur abläuft. Die Reaktion mit einer Menge von $50\mu\text{l } \text{Ac}_2\text{O}$ wurde zur weiteren Untersuchung gewählt.

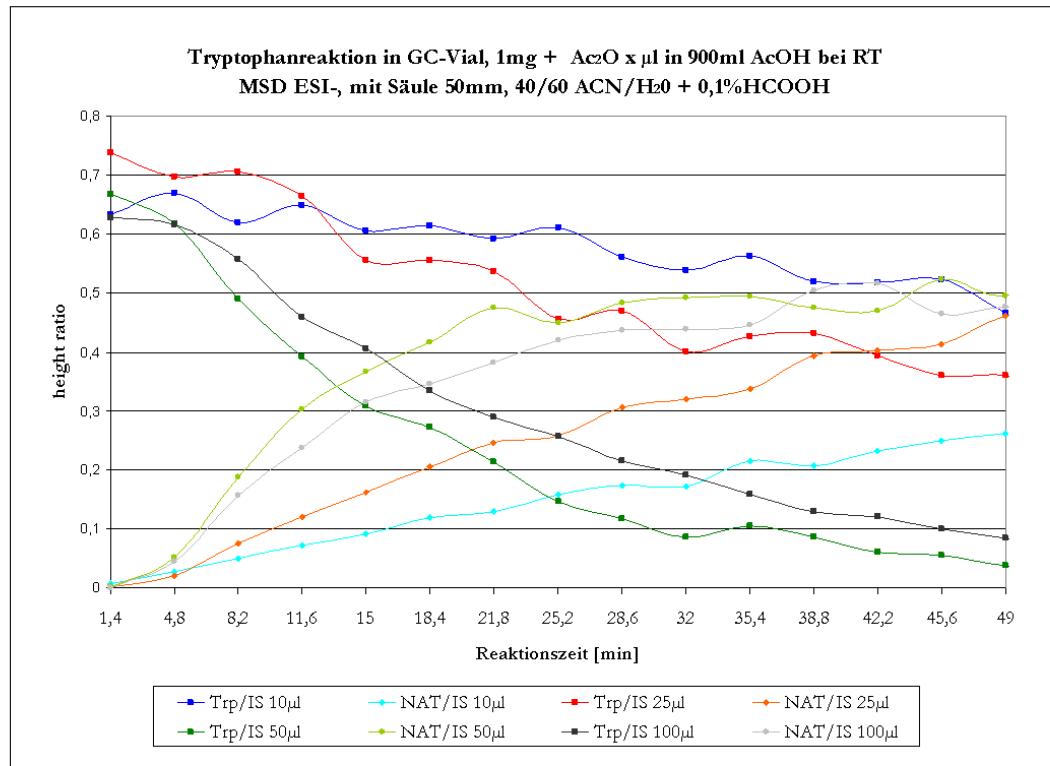


Abbildung 7.23: Vergleichsreaktion 1mg Tryptophan + 900µl AcOH + xµl Ac₂O in GC-Vials, mS, RT, MSD ESI neg.

7.3.1.2 Messungen am ESI-TOF

Für das TOF wurde die Methode Anne_Tryptophan1.m entwickelt mit einer Messdauer von 5min. Die verwendete Säule ist die SB-C18 (4,6x50mm 1,8µm) von Agilent (Seriennummer: USWEX01975). Die Lösungsmittelzusammensetzung ist 60% H₂O +0,1% HCOOH und 40% ACN (Acetonitril). Das Injektionsvolumen betrug 1µl bei einem Volumenstrom von 0,5ml/min und einer Säulentemperatur von 50°C. Analysiert wurde die vorherige Reaktion, 1mg Trp und 1mg NFT gelöst in 950µl ACOH. Zum Starten der Reaktion wurden 50µl Ac₂O hinzugegeben. Die Reaktion lief im GC-Vial unter Raumtemperatur (RT) ab. Gemessen wurde alle 5min von 0 bis 90min.

Im Vergleich dazu wurde die selbe Messung ohne Säule durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Diagramm 7.24 gegenübergestellt. Die Signalstärke des internen Standards (NFT) ist für beide Messungen etwa gleich. Dargestellt sind die Verhältnisse der Peakhöhen des Edukten Tryptophan und des Produktes NAT zum internen Standard (Trp/IS, NAT/IS).

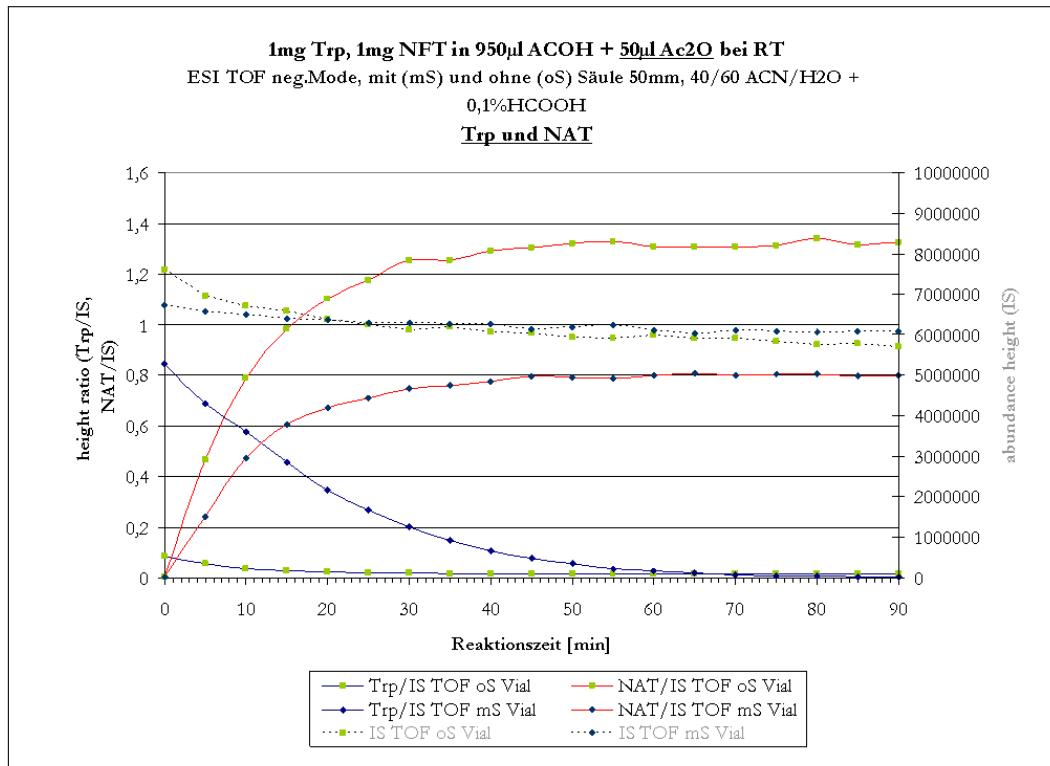


Abbildung 7.24: Tryptophanreaktion in GC-Vial, mS und oS, RT, ESI-TOF neg.

Edukt und Produkt verhalten sich entgegengesetzt. Bei der Messung ohne Säule (oS) ist die Signalstärke des NAT stärker als bei der Messung mit Säule (mS), wogegen sich dieser Zusammenhang für das Tryptophan umkehrt. Beide Analyseverfahren zeigen jedoch einen gut analysierbaren Reaktionsverlauf mit verschiedenen Reaktionsstadien. Somit wurde die Reaktion mit 1000ppm Trp und 1000ppm NFT in ACOH + 50 μ l Ac₂O als Validierungsreaktion für den Reaktor gewählt.

Ziel ist keine Übereinstimmung des Reaktionsverlaufes im Reaktor mit der Vergleichsreaktion im GC-Vial. Die stattfindende Reaktion im GC-Vial ist vergleichbar mit einem kleinen Batch-Reaktor. Es zeigt sich ein anderes Reaktionsverhalten im Konti-Reaktor. Die Entscheidung, ob eine Reaktion besser in einem Konti- oder Batchsystem läuft, hängt von vielen Faktoren ab und kann so pauschal nicht bestimmt werden und ist nicht Bestandteil dieser Arbeit.

7.3.2 Reaktion im 1ml Kapillarreaktor - Messungen mit dem „Multiport-Ventil“ Konfiguration II

7.3.2.1 Einstellen des Reaktionsstadiums im 1ml Kapillarreaktor

In einem 50ml Kolben wurden 100mg Trp und 100mg NFT in 50ml ACOH gelöst. Dies entspricht bei einem Volumenstromverhältnis von 1:1 einer Trp- und NFT-Konzentration von 1000ppm. Im zweiten Kolben befinden sich 5ml Ac_2O in 45ml ACOH. Dem unheizten 1ml Kapillarreaktor aus Edelstahl wurden die zwei Eduktströme im Verhältnis 1:1 zugeführt.

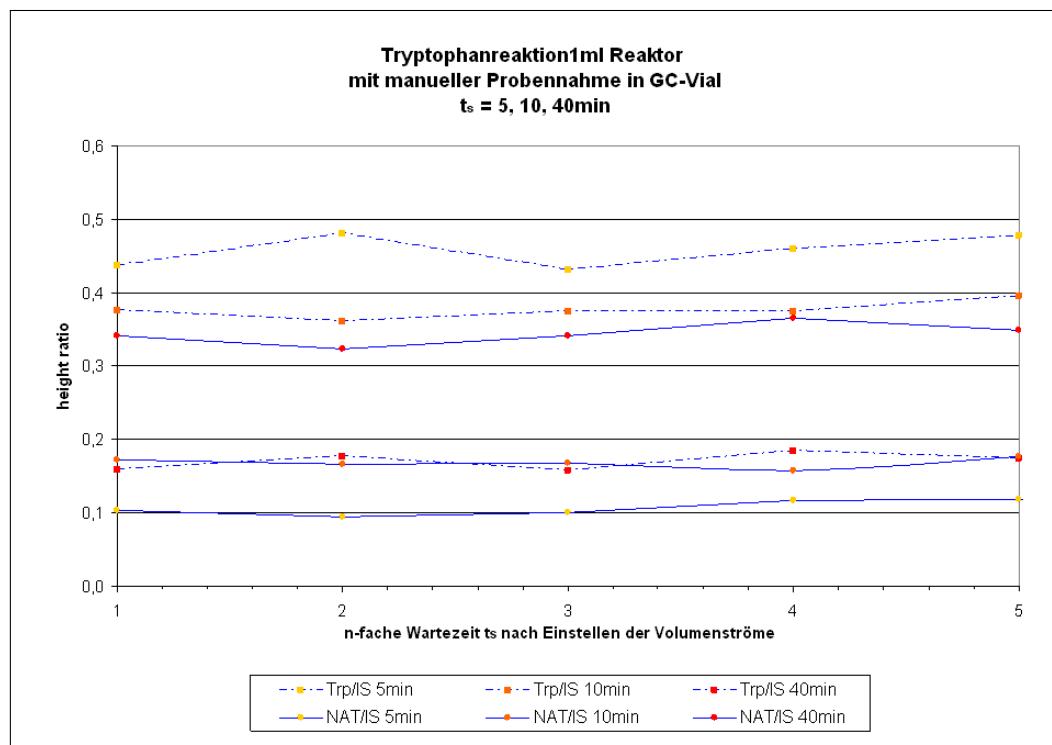


Abbildung 7.25: Reaktionsstadium $t_s=5, 10$ und 40min , 1ml Reaktor, Tryptophan (203), NAT (245)

Untersucht wurde, wie schnell sich das gewählte Reaktionsstadium an der Probenentnahmestelle einstellt. Die Probenentnahme erfolgte in ein GC-Vial. Am Reaktor wurde das entsprechende Probenentnahmestadium t_s eingestellt und nach $n \cdot t_s$ mit ($1 \leq n \leq 8$) eine Probe entnommen. In Abbildung A.11 sind die Ergebnisse für die Reaktionsstadien

von 5, 10 und 40min abgebildet. Bereits nach 1-facher Wartezeit nach Einstellen des Reaktionsstadiums zeigte sich keine Änderung der Edukte und Produkte mehr. Nach Ablauf der Reaktionszeit t_s ist das entsprechende Reaktionsstadium t_s sofort an der Probenentnahmestelle eingestellt und kann entnommen und analysiert werden.

7.3.2.2 Tryptophanreaktion mit (mIS) und ohne internen Standard (oIS)

Zu Beginn der Messungen mit Tryptophan und NFT zeigte sich, dass die Signalstärke mit und ohne internen Standard stark voneinander abwichen. Durch die Zugabe von NFT sank die Signalstärke der anderen zu analysierenden Stoffe. Das Messsignal brach ein, wodurch die Peakhöhe geringer wurde. Eventuell auch dadurch bedingt, dass aufgrund der Zugabe von NFT die Ionisierungsfähigkeit von Trp und NAT eingeschränkt wird. 1000ppm Tryptophan hatte in vorherigen Messungen eine Signalhöhe von knapp 1Mio, nach Zugabe von NFT betrug diese bei gleicher Konzentration nur noch etwa 1/10tel. Damit die Signalstärke nicht einbricht, wurde die Konzentration von Trp und NFT auf die Hälfte reduziert. Abb. 7.26 zeigt den Ablauf der Reaktion mit und ohne internen Standard.

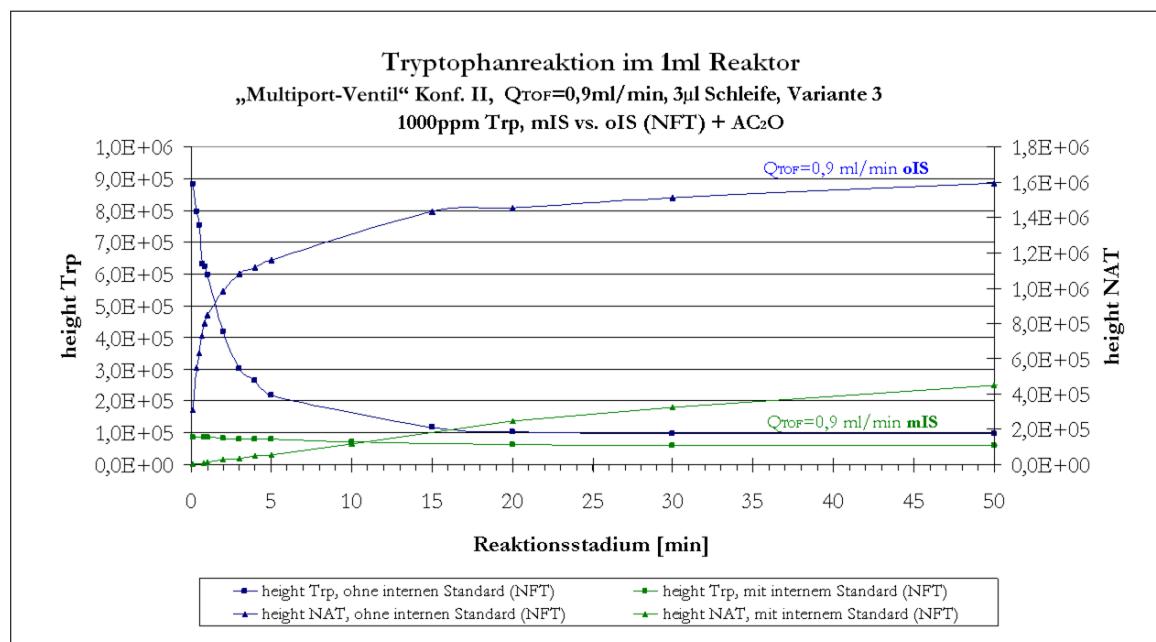


Abbildung 7.26: mit internem Standard (mIS) vs ohne internen Standard (oIS)

7.3.2.3 Tryptophanreaktion - manuelle Probenentnahme

Es wurden 50mg Trp und 50mg NFT in 50ml ACOH gelöst. Im zweiten Kolben befanden sich 5ml Ac_2O in 45ml ACOH. Die zwei Eduktströme wurden wiederum dem Reaktor im Verhältnis 1:1 zugeführt. Somit entspricht dies einer Trp Konzentration von 500ppm .

Im ersten Schritt musste untersucht werden, ob und wie die Reaktion im Reaktor abläuft. Dazu wurden am Reaktor Reaktionsstadien von $t_s=5\text{min}$ bis 50min mit einem Edukt/Edukt - Verhältnis von 1:1 eingestellt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde am Reaktorausgang per Hand eine Probe mit einem Volumen von $100\mu\text{l}$ in ein GC-Vial entnommen. Die Dauer der Probenentnahme ist abhängig vom jeweiligen Durchfluss. Bei einem Reaktionsstadium von $t_s=5\text{min}$ betrug diese 30sek für $t_s=40\text{min}$ entsprechend 4min. Damit der Autosampler eine Probe aus dem GC-Vial entnehmen kann, muss dieses ein Niveau von 1ml im Vial überschreiten. Mit einem $200\mu\text{l}$ Einsatz für GC-Vials konnte die Probe auf $100\mu\text{l}$ und somit auch die Probenentnahmzeiten reduziert werden. Die Analyse erfolgte mit dem ESI-TOF. Das Probenvolumen des Autosamplers betrug $3\mu\text{l}$ bei einem Volumenstrom ins TOF von $0,6\text{ml}/\text{min}$.

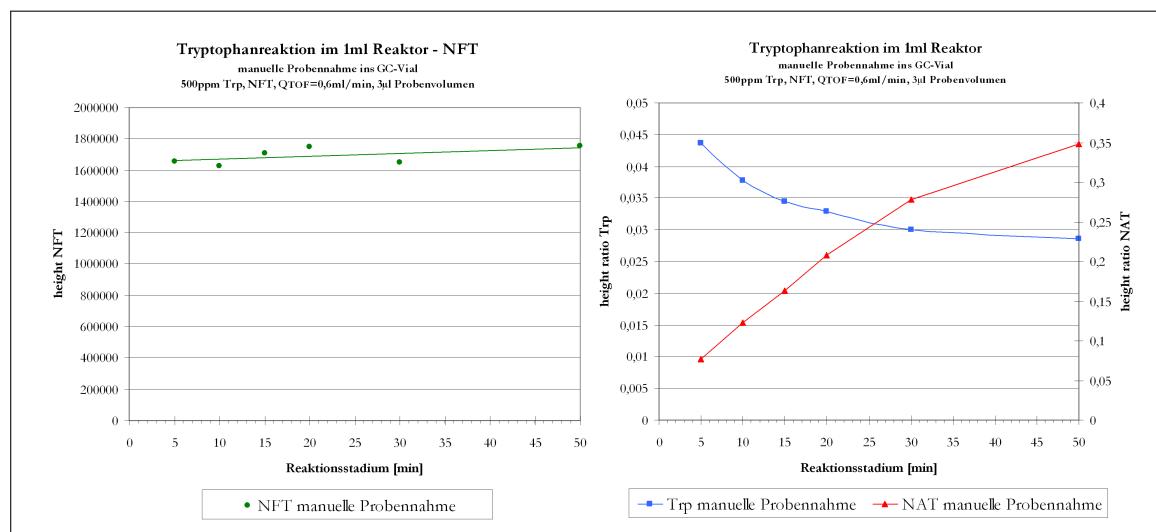


Abbildung 7.27: manuelle Probenentnahme ins GC-Vial

In Abbildung 7.27 sind die Ergebnisse der manuellen Probenentnahme dargestellt. Der interne Standard bleibt mit $1,7 \cdot 10^6$ mit einer Abweichung von 3% konstant für die ver-

schiedenen Reaktionsstadien. Das Edukt Tryptophan nimmt im Laufe der Reaktion ab, bei einer Zunahme des Produktes NAT.

Es wurden 6 Reaktionsstadien aufgenommen. Die Dauer der Analyse betrug *130min*. Um eine Probe entnehmen zu können, musste jedes mal die Zeit bis zum Einstellen des Reaktionsstadiums abgewartet werden. Soll beispielsweise nach *5min* und nach *10min* eine Probe entnommen werden, bedeutet dies für den Anwender, dass er *5min* auf das Einstellen des ersten Reaktionsstadiums wartet, dann *30sek* für die Entnahme der Probe in ein GC-Vial benötigt, die Messung anstößt und weitere *10min* auf das folgende Reaktionsstadium wartet, bei einer Probenentnahmedauer von *1min*. Gerade für ein dichtes Monitoring früher Reaktionsstadien ergibt sich eine volle Auslastung für den Laboranten.

7.3.2.4 Einstellen der Reaktionsstadien entsprechend Variante 1 und 3 - Tryptophanreaktion mIS

Im Volumenstromverhältnis 1:1 reagieren *100mg Trp* und *100mg NFT* in *50ml ACOH* mit *5ml Ac₂O* in *45ml ACOH (500ppm)*.

In einem 'Table' wurden die verschiedenen zu beobachtenden Reaktionsstadien der laufenden Reaktion eingegeben. Entsprechend der Varianten 1 und 3 zur Berechnung der Reaktionsstadien (vgl. Kap. 6.1.3) werden die Volumenströme vom Probenentnahmesystem nacheinander automatisch eingestellt, eine Probe entnommen und zur Analyse weitergeleitet. Bei Variante 1 wird für jedes Reaktionsstadium t_s der entsprechende Volumenstrom eingestellt und die Reaktionsdauer (t_s) abgewartet, um dann die Probe zu entnehmen. In Variante 3 wird der Volumenstrom des folgenden Reaktionsstadiums eingestellt, wodurch sich die Dauer bis zur Probennahme verkürzt (vgl. Kap. 6.1.3.1 und Kap. 6.1.3.3).

Es wurden in der ersten Minute Proben alle *10sek* entnommen, dann alle *60sek*, von *10min* bis *20min* nur noch alle *5min*, dann bei Erreichen des Reaktionsstadiums $t_S = 30min$ und $t_S = 50min$. Entnommen wurde eine Probe je Reaktionsstadium. Die Dauer der Messung beträgt für Variante 1 knapp 3 Stunden, bei einem Verbrauch von *19ml*. Für Variante 3 liegt die Dauer bei etwa *100min* bei einem Verbrauch von *10ml*. Das Volumen der Probe ist *3µl*. Der Volumenstrom ins TOF beträgt *0,6ml/min*. Die Analyse erfolgte mit dem ESI-TOF.

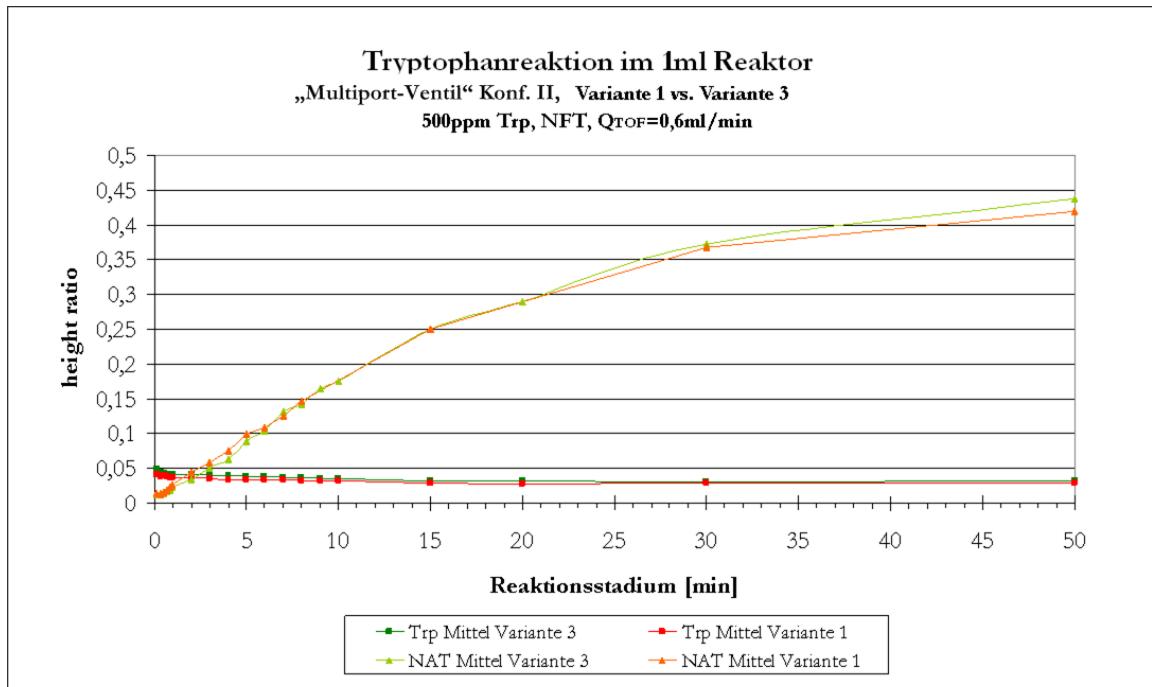


Abbildung 7.28: Vergleich der Probenentnahme entsprechend der Variante 1 und 3, mIS, 500ppm

In Abbildung 7.28 sind die Verhältnisse der Peakhöhen von Trp und NAT zum internen Standard NFT dargestellt. Die Ergebnisse der beiden Varianten der Probenentnahme stimmen gut miteinander überein. Der interne Standard ist über der Zeit konstant bei 1,7Mio (height) bei einer Abweichung von nur 1,3%.

7.3.2.5 Vergleich Probenentnahme durch „Multiport-Ventil“ und manuelle Probenentnahme

Die manuelle Probenentnahme erfolgte an der selben Stelle wie die Probenentnahme durch das System. In den Abbildungen 7.29 und 7.30 sind die Ergebnisse gegenübergestellt. Die Ergebnisse für den internen Standard NFT sind mit einer Peakhöhe von $1,7 \cdot 10^6$ gleich, lediglich die Abweichung des Probenentnahmesystems ist mit 1,3% geringfügig besser als bei der manuellen Probenentnahme mit 3%.

Die Signalstärke von Tryptophan und NAT weichen von einander ab. Ein Grund ist in der doch sehr ungenauen manuellen Probenentnahme mit abweichenden Probenentnahmedauern für die einzelnen Reaktionsstadien zu suchen. Der größere Einfluss auf die Abweichung der Ergebnisse ergibt sich aber aus den vorherigen Vergleichsmessungen mit den Einzelsubstanzen. Verglichen werden zwar in beiden Fällen der Reaktionsablauf im

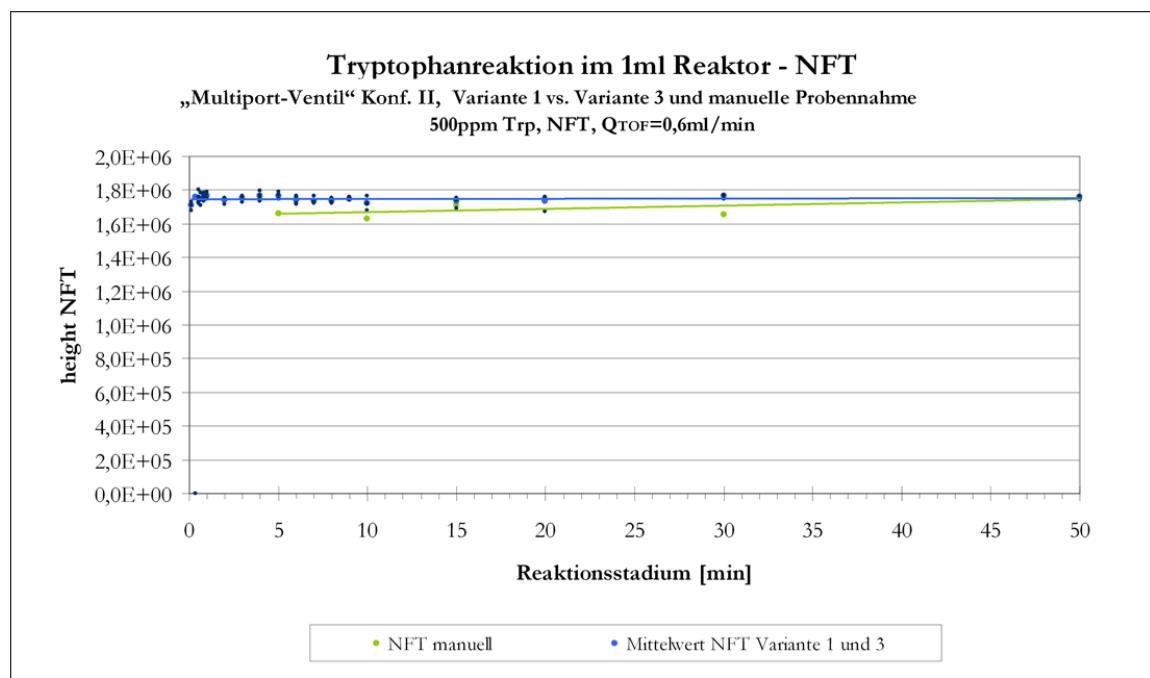


Abbildung 7.29: Vergleich „Multiport-Ventil“ Konf. II vs. manuelle Probenentnahme, NFT

Reaktor, jedoch folgt auf die manuelle Probenentnahme in ein GC-Vial die Probenentnahme mit dem Autosampler. Aus den Messungen (vgl. Kapitel 7.2.3.1) ergab sich für 1000 ppm Trp eine durchschnittliche Höhe von $9,3 \cdot 10^5$ für den Autosampler und $8,2 \cdot 10^5$ für das Probenahmesystem. Dies bedeutet bei gleicher Probe ein Messabweichung durch die Probenentnahme von 10%. Die Messabweichung ist nicht als linear über der Probenkonzentration anzusehen und sie ist auch kein Messfehler, sondern eine durch die unterschiedliche Zuführung der Probe ins ESI-MS bedingte Abweichung (vgl. Kap. 7.1).

Die Messabweichung für das Reaktionsstadium von 5 min beträgt mit einer Peakhöhe von etwa 63000 für das Probenahmesystem und 72000 für die manuelle Probenentnahme 13%.

Die Messdauer beträgt für die 7 Reaktionsstadien knapp 76 min . Im Gegensatz zur manuellen Probenentnahme bedurfte es nach Anstoßen der Messung keiner Aufsicht oder Eingriffe. Die Zeit für den Laboranten verkürzt sich auf die Dauer der Eingabe der Daten und dem zuvor ebenfalls notwendigen Vorbereiten der Reaktion am Reaktor.

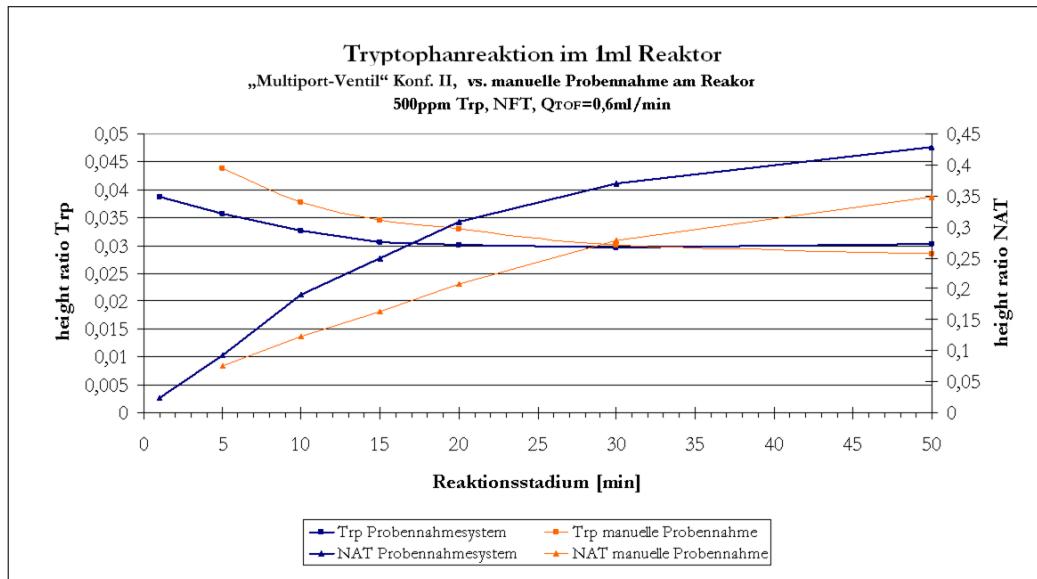


Abbildung 7.30: Vergleich „Multiport-Ventil“ Konf. II vs. manuelle Probenentnahme - height ratio

7.3.2.6 Abhängigkeit vom Volumenstrom - „Multiport-Ventil Konf. II“ mit Variante 3 der Berechnung der Reaktionsstadien - Tryptophanreaktion mIS

Die Abhängigkeit vom Volumenstrom Q_{TOF} wurde anhand der Tryptophanreaktion mit internen Standard untersucht. Dabei wurden 50mg Trp in 50ml ACOH und 5ml Ac_2O in 45ml ACOH als Eduktlösungen angesetzt. Das Mischungsverhältnis der Eduktströme ist 1:1. Der Volumenstrom ins TOF wurde im Bereich von $0,3ml/min$ bis $1ml/min$ variiert. Es wurden die ersten 10 Minuten der Reaktion aufgenommen. Abbildung 7.31 zeigt die Änderung der Signalstärke (height) des internen Standards. Da dieser nicht an der ablaufenden Reaktion teilnimmt, resultiert die Änderung des Signals aus der Abhängigkeit vom Volumenstrom.

Für den Volumenstrom von $0,3ml/min$ streut das Signal über der Reaktionszeit (t_S), für alle anderen Volumenströme ist das Signal des internen Standards konstant. Je niedriger der Volumenstrom, desto geringer ist der Anteil des entnommenen Probenvolumens der $3\mu l$ Schleife, da die Dauer der Probenentnahme (VICI PosB) konstant bleibt. Ebenfalls verlängert sich die Dauer bis die Probe das TOF erreicht sowie die Peakbreite. Eventuell kommt es dadurch zu der Signalverschlechterung bei $Q_{TOF} = 0,3ml/min$.

Die Peakhöhen für NFT liegen für die verschiedenen Volumenströme zwischen $1,9 \cdot 10^6$ für $Q_{TOF} = 0,5ml/min$ bis $1,5 \cdot 10^6$ für $Q_{TOF}=1ml/min$. Die Abweichung über der Re-

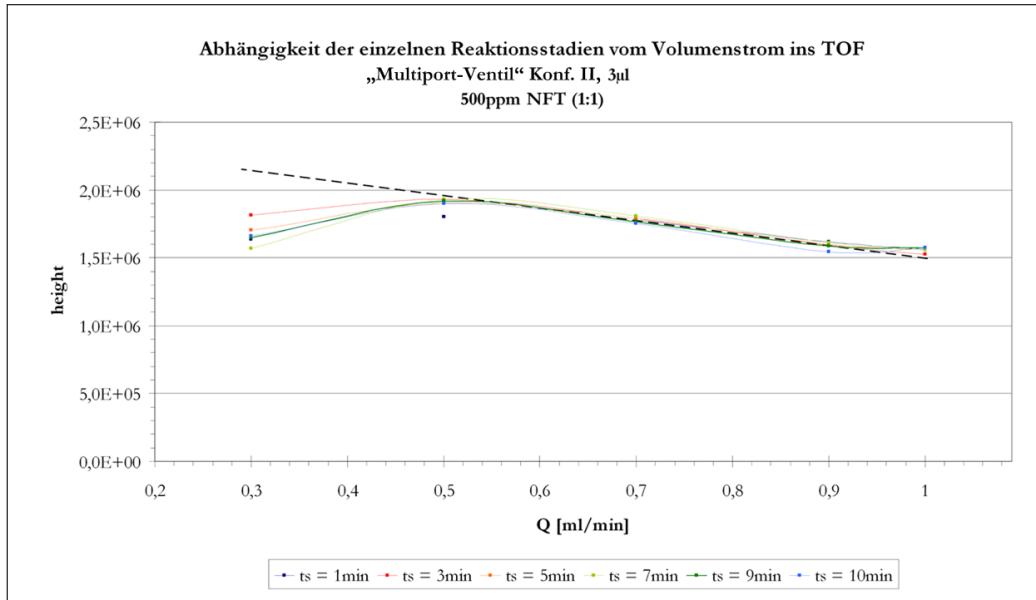


Abbildung 7.31: Abhängigkeit der Peakhöhen von 500ppm NFT vom Volumenstrom Q_{TOF} , entsprechend Variante 3 der Berechnung der Reaktionsstadien

aktionszeit liegt bei unter 2%. Die Signalstärke nimmt mit Zunahme des Volumenstroms ab. Gleiches gilt für die Signalstärke des Produktes NAT (vgl. Abb. 7.32).

Für alle Reaktionsstadien nimmt mit Zunahme vom Q_{TOF} die Signalstärke wie beim NFT linear ab. Eine Parallelität der Kurven unterschiedlicher Reaktionsstadien (Abb. 7.32 links) bedeutet, dass die Signalstärke aller Reaktionsstadien gleichermaßen vom Volumenstrom abhängen. Hier zeigt sich, dass eine höher konzentrierte NAT Probe stärker abhängig ist vom Volumenstrom ins TOF als eine Probe eines frühen, niedrig konzentrierteren Reaktionsstadiums.

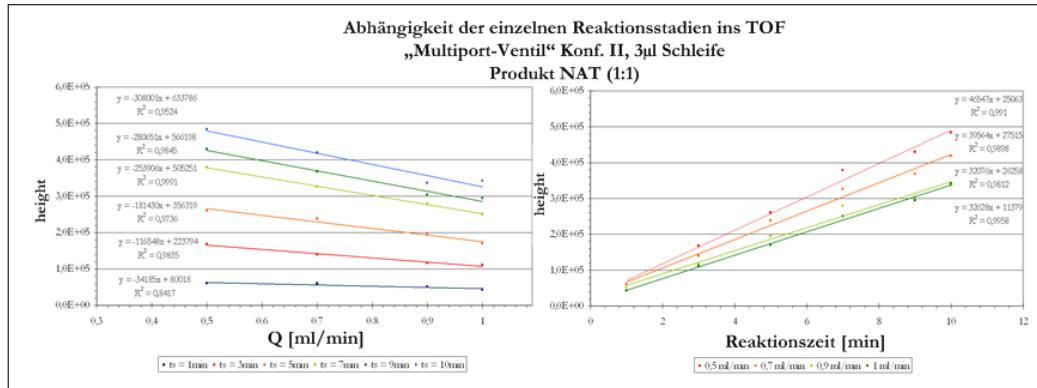


Abbildung 7.32: Abhängigkeit der Peakhöhen des Produktes NAT vom Volumenstrom ins TOF Q_{TOF} , entsprechend Variante 3 der Berechnung der Reaktionsschritte

7.3.2.7 Mischverhältnisse T-Mischer am Beispiel der Eduktvolumenströme Q_1 und Q_2

Die Aufenthaltsdauer im Reaktor ist bestimmt einerseits durch das Reaktorvolumen und andererseits durch die Eduktvolumenströme. Die Grenzen von minimaler und maximaler Aufenthaltsdauer ergeben sich aus den Volumenstrombegrenzungen der Pumpe (vgl. Kap. 6.1.1.1). Diese Werte gelten für ein Eduktvolumenstromverhältnis von 1:1. Bei der Zufuhr im Verhältnis von 2:1 bis 20:1 ändern sich die Werte der maximalen und minimalen Aufenthaltsdauer im Reaktor. Kann bei einem Verhältnis von 1:1 die Reaktion im Bereich von 3sek bis 500min im 1ml Reaktor ablaufen, verringert sich diese Spanne auf 5sek bis 165min für ein Verhältnis von 5:1, auf 6sek bis 90min für 10:1 und auf 6sek bis 47min für 20:1.

Das Konzept „Multiport-Ventil“ bietet die Möglichkeit dem Reaktor Eduktvolumenströme in verschiedenen Verhältnissen zuzuführen. Die Mischung der beiden Ströme erfolgt in einem T-Mischer. Untersucht wurden Verhältnisse von $Q_1 : Q_2$ von 1:1 bis 20:1. Der Volumenstrom Q_2 enthielt 1000ppm NFT in ACOH, der Volumenstrom Q_1 reines ACOH. Es fand keine Reaktion statt. Der Gesamtvolumenstrom des Reaktors betrug 1ml/min entsprechend dem Reaktionsstadium von 1min im 1ml Reaktor. Ein Verhältnis von 20:1 bedeutet 1 Teil 1000ppm NFT in ACOH und 20 Teile ACOH.

Um nachzuweisen, dass wirklich eine adäquate Vermischung stattfindet, wurden die verdünnten Lösungen zusätzlich manuell hergestellt und ohne zweiten Volumenstrom mit dem Probenentnahmesystem gemessen. Der Volumenstrom im Reaktor betrug ebenfalls 1ml/min. Der Volumenstrom in TOF lag für beide Messungen bei 0,9ml/min.

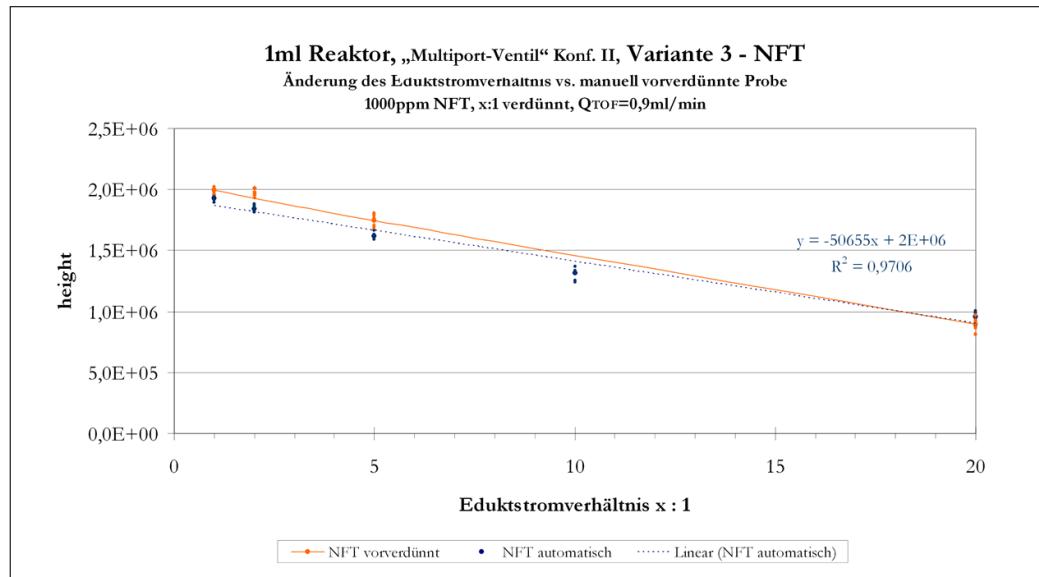


Abbildung 7.33: Vergleich - Zufuhr unterschiedlicher Eduktströme (autom. Verdünnen) vs. manuell vorverdünnte Probe, NFT

In Abbildung 7.33 sind die Ergebnisse der manuellen Verdünnung und der Verdünnung durch Variation der Eduktstromverhältnisse dargestellt. Für jedes Verhältnis wurden 10 Proben automatisch im Abstand von 10sek entnommen. Aufgetragen ist die Peakhöhe von NFT über dem Verhältnis x:1.

Das Mischverhalten des Probenentnahmesystems ist linear und stimmt mit den Werten der manuellen Verdünnung überein. Dies bedeutet, dass das eingestellte Volumenstromverhältnis der Pumpen P1 und P2 am Reaktor dem tatsächlichen Mischverhältnis entspricht. Eine Verdünnung von 20:1 hat kein Absinken der Signalstärke auf 1/20tel zur Folge. Die Peakhöhe fällt auf die Hälfte der Peakhöhe im Vergleich zum kleinsten Mischverhältnis von 1:1, die Peakfläche auf 1/4. Eine Verdünnung von 1:10 entspricht dem Sprung von beispielsweise 1000ppm auf 100ppm oder 10ppm auf 1ppm.

Somit wurde das Konzept des Mischens am T-Mischer abhängig vom Volumenstromverhältnis mit der vorhandenen Pumpenkonfiguration zufriedenstellend umgesetzt.

8 Zusammenfassung

Die Arbeit befasst sich mit der Entwicklung eines Probenentnahmesystems zur online-Überwachung eines Mikro-Konti-Reaktors.

Dazu sind verschiedene Konzepte entwickelt worden, mit dem Ziel, aus einem kontinuierlichen Fluss eines Mikrokontireaktorsystems Proben unterschiedlicher Aufenthaltsdauer und somit unterschiedlicher Reaktionsstadien der ablaufenden Reaktion zu analysieren. Untersucht wurde die aktive Entnahme mit einer rückwärts fördernden Pumpe, das Heraustrennen eines Probenvolumens mittels Ventilen, das Regeln des Volumenstroms durch Kapillarverzweigung und die Probenentnahme mit einem Multi-Port-Ventil. Das letztgenannte Konzept zeigte die vielversprechendsten Ergebnisse und wurde technisch umgesetzt und untersucht. Die Validierung erfolgte mit der Umsetzung von L-Tryptophan mit Essigsäureanhydrid zu N-Acetyl-Tryptophan in Essigsäure.

Ziel der Arbeit war es nicht einen optimalen Reaktionsablauf zu entwickeln sondern ein Werkzeug zur Entwicklung von optimalen Reaktionsverläufen. Dazu muss das Probenentnahme- und -analysesystem in der Lage sein, das zu messen, was im Reaktor wirklich abläuft. Der Vergleich der Probenentnahme durch das entwickelte und letztlich umgesetzte System „Multiport-Ventil“ mit der manuellen Probenentnahme am Reaktor zeigt, dass dies gelungen ist.

Das Multi-Port-System bietet die Möglichkeit alle 2sek aus einem kontinuierlichen Probenfluss des angeschlossenen Reaktors eine $3\mu l$ Probe zu ziehen. Die Verzögerung, bis die Probe zur Analyse im TOF vorliegt, liegt bei unter einer Sekunde. Mit einer Genauigkeit von 5% wurde die Konstanz der Probenentnahme nachgewiesen. Die Nachweisempfindlichkeit des Systems wurde im Vergleich mit dem Autosampler als hoch eingestuft.

Die Signalstärke kann sowohl durch Variation des Volumenstroms ins TOF als auch durch Verdünnen des Probenflusses mit Lösungsmittel, ohne die laufenden Reaktion zu

beeinflussen, verändert werden.

Der Anwender kann durch verschiedene Parameter Einfluss auf die im Reaktor ablaufende Reaktion nehmen. Angefangen bei der Wahl des angeschlossenen Kontireaktors ergeben sich unterschiedliche Aufenthaltsdauern im Reaktor. Ein Reaktorwechsel ist in der Software bereits berücksichtigt. Die Berechnung der Reaktionsstadien erfolgt nach Eingabe des veränderten Reaktorvolumens automatisch $Q=f(V_{Reaktor}, t_s)$. Mit den aktuell angeschlossenen HPLC-Pumpen ergibt sich eine Reaktionsspanne von 3sek-8h für den 1ml Kapillarreaktor und 33sek bis über 24h für den 11ml Mäanderreaktor bei einem Eduktstromverhältnis von 1:1. Somit besteht die Möglichkeit eine Reaktion bereits in der Anfangsphase ab 3sek nach Zusammenführung der Edukte zu untersuchen.

Der Mäanderreaktor lässt sich zudem mit dem externen Heizmodul bis 200°C beheizen. Über die Steuerung der Eduktvolumenströme Q_1 und Q_2 sind die Reaktionsstadien in der genannten Spanne analysierbar. Über die Eingabe von Reaktionsstadien in eine Tabelle ist eine automatische Überwachung der Reaktion möglich.

Ein weiterer Parameter ist das Verhältnis der Eduktströme. Dass die Verdünnung durch Zusammenführen zweier unterschiedlicher Volumenströme am T-Mischer gut funktioniert und mit der manuellen Probenverdünnung übereinstimmt, konnte nachgewiesen werden. Kapitel 7.3.2.7 zeigt die Verdünnung für ein Volumenstromverhältnis von 1:1 bis 20:1. Die erreichte Verdünnung entspricht dem Volumenstromverhältnis.

Der zeitliche Aufwand der Probenentnahme und Analyse des Probenentnahmesystems ist im Vergleich zur manuellen Prozedur gering. Ein manuelles Monitoring dauert bei einer 30-minütigen Reaktion sowie Probenentnahmen alle 5min etwa 105min und erfordert eine ständige Mitarbeit eines Laboranten. Beim Monitoring mit dem Probenentnahmesystem bedarf es lediglich der Vorbereitung des Systems, wie die Zufuhr der Edukte, das Eingeben der zu analysierenden Reaktionsstadien und das Starten der Messung. Nach dem Ingangsetzen der Messung sind 2x2min zum Pumpen der beiden Edukte notwendig. Die Dauer der Messung und der Eduktverbrauch konnten durch Anpassung der Reaktorvolumenströme auf die Hälfte der Zeit reduziert werden (Vergleich der Variante 3 gegenüber der Variante 1).

Im Vergleich zu anderen Systemen findet keine Chromatographie im Vorfeld der MS Analyse statt. Die direkte Kopplung eines Mikro-Konti-Reaktorsystems ermöglicht ein High-Through-Put-Screening bei einer Dauer für die Probenentnahme und Analyse von nur 2sek, wodurch eine schnelle Rückführung der Messergebnisse auf die Prozesssteuerung

möglich wird. Neu ist, dass die Wahl des anzuschließenden Mikro-Konti-Reaktorsystems beim Anwender liegt und für den speziellen Anwendungsfall ausgesucht wird. Durch diese Flexibilität in der Wahl des Reaktors kann u.a. Einfluss auf die minimale und maximale Verweildauer im Reaktor genommen werden. Reduziert man das Volumen des Reaktors auf 1/10, reduziert sich auch die minimale Verweildauer auf 1/10. Die Kombination „Multiport-Ventil“ und 1ml Kapillarreaktor ermöglicht es, die Zusammensetzung der Probe nach 3sek nach Zusammenführen der Edukte zu bestimmen.

9 Ausblick

Das Konzept „MultiPort-Ventil“ wurde bisher einem Proof-of-principle unterzogen und auf seine technischen Limits und seine Stabilität getestet. Es sollten im Anschluss noch weitere Untersuchungen zu der bereits vorgesehenen Möglichkeit der Verdünnung der Reaktorprobe stattfinden, ebenfalls dazu, wie sich das Volumen der Probenschleife auf das Signal auswirkt.

Das Einsetzen anderer Kapillarlängen und -durchmesser muss genau überlegt werden, da bereits ein geringfügig geringerer Durchmesser großen Einfluss ($Q \propto r^4$) auf die im System vorliegenden Drücke und somit auf die Volumenströme hat. Die im System verwendeten Kapillaren sind optimiert. Eine Verlängerung, beispielsweise der Kapillare ins TOF, würde die Probenzufuhr stark verlangsamen und eventuell verhindern, ebenso eine dünnere Kapillare. Ein Verkürzen der Kapillaren hat ein Überschneiden der Probenentnahme des VICI-Ventils mit der Analyse zur Folge und resultiert in Einbrüchen des Messsignals. Dies muss bei der Weiterentwicklung des System beachtet werden.

Zur angesprochenen Probenverdünnung muss an das bereits integrierte T-Stück eine weitere Pumpe (P4) (Knauer K-501) angeschlossen werden. Weiterhin kann dadurch zum Spülen des Reaktors ein zweites Lösungsmittel durch die Pumpe P4 geleitet werden. Bisher erfolgte das Reinigen des Reaktors und des Ventils samt Probenschleife über die Pumpe P1. Um die Zufuhr der Eduktströme bei einem Eduktwechsel mit Lösungsmittel zu spülen, kann das selbe Prinzip über ein 2/2 Wege-Ventil im Zufluss angewendet werden. Somit können alle medienberührenden Kapillaren und Schläuche sowie der Reaktor samt Probenentnahme gespült werden, und es kommt zu keiner Probenverunreinigung (Crosskontamination).

Die Software muss anwenderfreundlicher gestaltet und mehr abgesichert werden. Die Kommunikation mit der MassHunter Acquisitions Software erfolgt bisher nur in eine Richtung. Die MassHunter Software erhält von der eigenen Software Befehle und wird gesteuert. Bisher findet keine Rückmeldung der Akquisitionssoftware an die Software des Reaktormonitorings statt. Beispielsweise ist eine Rückmeldung sinnvoll, ob das TOF erfolgreich in den RUN-Modus gewechselt hat, bevor der Messzyklus gestartet wird.

10 Abstract

This thesis deals with the development of a sampling system for online monitoring of a micro continuous reactor.

It is composed of several concept studies, with the common aim to develop a method to analyse samples of a micro-reaction system with continuous flow. The samples inhibit different durations of stay and thus represent different stages of the ongoing reaction. The different concepts studied are: active sampling with a backward rotating pump, cutting out of a sample volume using valves, controlling of the flow by capillary branching and sampling with a multi-port valve. The latter approach was considered to be the most promising and thus technically implemented and investigated. The validation was done with the reaction of L-tryptophan with acetic anhydride to N-acetyl-tryptophan in acetic acid.

The aim of the study was not to develop an optimal reaction process but a tool for the development of optimal reaction processes. Therefore the sampling and analysing system must be able to measure what really happens in the reactor. The comparison of the sampling by the developed system with the manual sampling from the reactor shows that this goal has been achieved.

The multi-port-valve system offers the possibility to draw $3\mu l$ samples from the continuous flow every 2 seconds. The delay until the sample reaches the TOF for the analysis is less than one second. With an accuracy of 5% the consistency of the sampling could be proved. The detection sensitivity of the system is rated as high compared to the autosampler.

The signal strength can be changed without affecting the current reaction by variation of the volume flow into the TOF as well as by dilution of the sample flow with solvent. The user can influence the ongoing reaction by changing various parameters. Already the selection of a certain reactor results in different durations of stay. A change of the reactor

is considered in the software. After entering the new reactor volume the calculation of the reaction stages is done automatically ($Q = f(V_{Reaktor}, t_s)$). The currently connected HPLC pumps result in a clear margin of 3sec-8h duration of stay for the 1ml capillary reactor and from 33sec to more than 24 hours for the 11ml meander reactor (educt volume ratio of 1:1). By this way it is possible to monitor a reaction in its earliest stage of 3sec after unification of the starting materials.

The meander reactor can also be heated up to 200°C with the external heating module.

The mentioned reaction stages can be analysed by controlling the educt volume rates Q_1 and Q_2 . When using the table to input different stages of the reaction a non-linear monitoring of the reaction is possible.

A further parameter is the ratio of the reactant streams. The concept of dilution of two different flow rates with a T-mixer is shown to be effective. Its consistency with the manual sample dilution could be proven. Chapter 7.3.2.7 shows the dilution to a volume flow ratio of 1:1 to 20:1. The obtained dilution is equivalent to the volume flow ratio.

The time spent for sample collection and analysis using the developed sampling system is short in comparison to the manual procedure. A manual monitoring takes about 105min for a 30-minute lasting reaction when sampling every 5min, and it requires the constant involvement of a laboratory technician. When monitoring with the sampling system only the preparation of the system is required, such as the supply of reactants, input of the stages to be analyzed and starting the measurement. After starting 2x2min are needed to flush the system. So all in all a maximum of 10 minutes of working time is needed. Using different sampling concepts the measurement time needed and the consumption of reactants by the system could be halved.

Compared to other systems no chromatography takes place before the MS analysis. The direct coupling of a micro-continuous reactor system allows a high-throughput-screening with a duration of only 2sec for sampling and analysis. The choice of the connected micro-conti-reactor system is up to the user and can be selected for particular applications. The flexibility in the choice of the reactor influences for example the minimum and maximum duration of stay in the reactor. If we reduce the volume of the reactor to 1 / 10, the minimum duration of stay is also reduced to 1 / 10. The combination of „Multiport-Ventil“ and 1ml capillary reactor offers the possibility to determine the composition of the sample 3sec after mixing the reactants.

Literaturverzeichnis

- M. Abonnenc, J. Josserand, und H. H. Girault. Sandwich mixer-reactor: influence of the diffusion coefficient and flow rate ratios. *Lab Chip.*, 9(3):440–448, 2009.
- Fa Ansyco. Theorie der FT-IR Spektroskopie. In *Gerätebeschreibung*. Fa Ansyco, 2010.
URL http://www.ft-ir.de/Bericht_FTIR_Theorie.PDF.
- R. Arakawa, L. Jian, A. Yoshimura, K. Nozaki, T. Ohno, H. Doe, und T. Matsuo. Online mass analysis of reaction products by electrospray ionization. Photosubstitution of ruthenium(II) diimine complexes. *Inorganic Chemistry*, 34(15):3874–3878, 1995.
- Willi Bohl und Wolfgang Elmendorf. *Technische Strömungslehre : Stoffeigenschaften von Flüssigkeiten und Gasen, Hydrostatik, Aerostatik, inkompressible Strömungen, kompressible Strömungen, Strömungsmesstechnik*. Vogel-Fachbuch Kamprath-Reihe. Vogel, Würzburg, 2008.
- J. P. Brody, P. Yager, R. E. Goldstein, und R. H. Austin. Biotechnology at low reynolds numbers. *Biophysical Journal*, 71(6):3430–3441, 1996.
- H. Chen, S. Yang, A. Wortmann, und R. Zenobi. Neutral desorption sampling of living objects for rapid analysis by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Angewandte Chemie-International Edition*, 46(40):7591–7594, 2007.
- Huanwen Chen, Andre Venter, und R.Graham Cooks. Extractive electrospray ionization for direct analysis of undiluted urine, milk and other complex mixtures without sample preparation. *Chem. Commun.*, pages 2042–2044, 2006.
- M. Christ und F. Westphal. Von der Daumenregel zur dynamischen Simulation - Auslegung von Sicherheitsventilen für chemische Reaktoren. *Chemie Ingenieur Technik*, 81 (1-2):97–108, 2009.
- K. Cieslicki und A. Piechna. Investigations of mixing process in microfluidic manifold designed according to biomimetic rule. *Lab Chip.*, 9(5):726–732, 2009.

- A. Dodge, M. C. Jullien, Y. K. Lee, X. Niu, F. Okkels, und P. Tabeling. An example of a chaotic micromixer: the cross-channel micromixer. *Comptes Rendus Physique*, 5(5): 557–563, 2004.
- M. Dole, L. L. Mack, und R. L. Hines. Molecular beams of macroions. *Journal of Chemical Physics*, 49(5):2240–2245, 1968.
- M. N. Eberlin. Electrospray ionization mass spectrometry: a major tool to investigate reaction mechanisms in both solution and the gas phase. *Eur. J. Mass Spectrom.*, 13 (1):19–28, 2007.
- D. R. Emerson, K. Cieslicki, X. J. Gu, und R. W. Barber. Biomimetic design of microfluidic manifolds based on a generalised murray's law. *Lab on A Chip*, 6(3):447–454, 2006.
- M. Engler, N. Kockmann, T. Kiefer, und P. Woias. Numerical and experimental investigations on liquid mixing in static micromixers. *Chemical Engineering Journal*, 101 (1-3):315–322, 2004.
- C. Erbacher, F. G. Bessoth, M. Busch, E. Verpoorte, und A. Manz. Towards integrated continuous-flow chemical reactors. *Mikrochimica Acta*, 131(1-2):19–24, 1999.
- J. B. Fenn und M Yamashita. Negative-ion production with the electrospray ion-source. *Journal of Physical Chemistry*, 88(20):4671–4675, 1984.
- S. Fürmeier. *Mikroreaktor-gekoppelte Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie, ein neues Werkzeug zur Untersuchung von reaktiven Zwischenstufen in Lösung*. Dissertation, Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, 2004.
- M. Gaadde, C. Liebner, und H. Hieronymus. Sicherheit in der Mikroreaktionstechnik. *Chemie Ingenieur Technik*, 81(1-2):73–78, 2009.
- A. Geipel-Kern. Massenspektrometer für den Feldeinsatz. *Laborpraxis*, 2007.
- K. Geyer, J. D. C. Codee, und P. H. Seeberger. Microreactors as tools for synthetic chemists - the chemists' round-bottomed flask of the 21st century? *Chemistry-A European Journal*, 12(33):8434–8442, 2006.

- K. Geyer, H. Wippo, und P. H. Seeberger. Microreactors as tools in the synthesis laboratory. *Chimica Oggi-Chemistry Today*, 26(1):23–25, 2008.
- M. D. C. Grande, J. A. Julia, C. R. Barrero, C. M. Marschhoff, und H. L. Bianchi. The (water plus acetonitrile) mixture revisited: A new approach for calculating partial molar volumes. *Journal of Chemical Thermodynamics*, 38(6):760–768, 2006.
- J. Griep-Raming, S. Meyer, T. Bruhn, und J. O. Metzger. Investigation of reactive intermediates of chemical reactions in solution by electrospray ionization mass spectrometry: Radical chain reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 41(15):2738–2742, 2002.
- S. Hardt und F. Schonfeld. Laminar mixing in different interdigital micromixers: II. Numerical simulations. *Aiche Journal*, 49(3):578–584, 2003.
- S. Hardt, K. S. Drese, V. Hessel, und F. Schonfeld. Passive micromixers for applications in the microreactor and mu TAS fields. *Microfluidics and Nanofluidics*, 1(2):108–118, 2005.
- S. Hardt, H. Pennemann, und F. Schonfeld. Theoretical and experimental characterization of a low-reynolds number split-and-recombine mixer. *Microfluidics and Nanofluidics*, 2 (3):237–248, 2006.
- V. Hessel, S. Hardt, H. Lowe, und F. Schonfeld. Laminar mixing in different interdigital micromixers: I. experimental characterization. *Aiche Journal*, 49(3):566–577, 2003.
- V. Hessel, H. Lowe, und F. Schonfeld. Micromixers - a review on passive and active mixing principles. *Chemical Engineering Science*, 60(8-9):2479–2501, 2005.
- H.E.Zimmer und M.Brudel. Optimierung von Trocknungsprozessen in der Pharmaindustrie. *Analytic Journal*, 2007.
- Fa Ionicon. Gerätebeschreibung. In *PTR-MS*. Fa Ionicon, 2007. URL <http://www.ptrms.com/products/index.html>.
- D. Janasek, J. Franzke, und A. Manz. Scaling and the design of miniaturized chemical-analysis systems. *Nature*, 442(7101):374–380, 2006.
- T. J. Johnson, D. Ross, und L. E. Locascio. Rapid microfluidic mixing. *Anal. Chem.*, 74 (1):45–51, 2002.

- M. Joos. Membraneinlasssystem. In *Gerätebeschreibung*. Frauenhofer, 2009. URL http://www.ict.fraunhofer.de/fhg/Images/Online-AnalyseflchtigerStoffe in FlssigkeitenAnalyse1_tcm137-87306.pdf.
- A. E. Kamholz, B. H. Weigl, B. A. Finlayson, und P. Yager. Quantitative analysis of molecular interaction in a microfluidic channel: The t-sensor. *Anal. Chem.*, 71(23):5340–5347, 1999.
- B. Kim, S. Yoon, K. Lee, und H. Sung. Development of a microfluidic device for simultaneous mixing and pumping. *Exp Fluids*, 46(1):85–95, 2009.
- L. Kiwi-Minsker und A. Renken. Microstructured reactors for catalytic reactions. *Catalysis Today*, 110(1-2):2–14, 2005.
- F. Kohlrausch. *Praktische Physik*. B.G. Teubner, 24 edition, 1996.
- S. H. Lee, H. J. Kang, und B. Choi. A study on the novel micromixer with chaotic flows. *Microsystem Technologies-Micro-and Nanosystems-Information Storage and Processing Systems*, 15(2):269–277, 2009.
- J. L. Lin, K. H. Lee, und G. B. Lee. Active mixing inside microchannels utilizing dynamic variation of gradient zeta potentials. *Electrophoresis*, 26(24):4605–4615, 2005.
- R. H. Liu, M. A. Stremler, K. V. Sharp, M. G. Olsen, J. G. Santiago, R. J. Adrian, H. Aref, und D. J. Beebe. Passive mixing in a three-dimensional serpentine microchannel. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 9(2):190–197, 2000.
- K. LÄNGE. *Einsatz der Fließ-Injektions-Analyse in markierungsfreien Bindungsassays*. Dissertation, Fakultät für Chemie und Pharmazie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 2000.
- G. Matz und A. Liebram. A compact non scanning magnet MS for highly time resolved analyses of gas mixtures. *Tech. Messen*, 66(7), 1999.
- G. Matz, M. Loogk, und F. Lennemann. Online gas chromatography mass spectrometry for process monitoring using solvent free sample preparation. *Journal of Chromatography*, 819(1-2):51–60, 1998.
- G. Matz, T. Hunte, P. Rusch, A. Harder, A. Schillings, P. Rechenbach, R. Harig, und W. Schröder. New techniques for the fast analysis of hazardous gases in case of chemical

- accidents and fires - part 2: Mobile gas chromatograph/mass spectrometer system for the fast identification and quantification of hazardous substances. *Gefahrstoffe Reinhalt. Luft*, 62(7-8):327–331, 2002.
- I. Meisel. *Modellierung und Bewertung von Strömung und Transport in einem elektrisch erregten Mikromischer*. Dissertation, Fakultät für Maschinenbau der Universität Karlsruhe (TH), 2004.
- V. Mengeaud, J. Josserand, und H. H. Girault. Mixing processes in a zigzag microchannel: Finite element simulations and optical study. *Anal. Chem.*, 74(16):4279–4286, 2002.
- C. D. F. Milagre, H. M. S. Milagre, J. A. R. Rodrigues, L. L. Rocha, L. S. Santos, und M. N. Eberlin. Online monitoring of bioreductions via membrane introduction mass spectrometry. *Biotechnology and Bioengineering*, 90(7):888–892, 2005.
- N. Kockmann. Instationäre Strömung und Vermischung in Mikroreaktoren. *Chemie Ingeieur Technik*, 79, No. 9, 2007.
- M. H. Oddy, J. G. Santiago, und J. C. Mikkelsen. Electrokinetic instability micromixing. *Anal. Chem.*, 73(24):5822–5832, 2001.
- A. Popp und J. Schneider. Ein nanostrukturierter chemischer Reaktor in Chipgröße. *Angewandte Chemie*, 120(46):9092–9095, 2008.
- D. Radivojevic, M. Ruitenbeek, K. Seshan, und L. Lefferts. Development of a transient response technique for heterogeneous catalysis in the liquid phase, part 1: Applying an electrospray ionization mass spectrometry (esi-ms) detector. *J. Catal.*, 257(2):244–254, 2008.
- Fa Siemens. Analyse und Überwachung mit einem Gerät. In *Gerätebeschreibung*. Siemens, 2009. URL http://pia.khe.siemens.com/efiles/analytics/techn_publications/pa5c0313.pdf.
- H. Song, D. L. Chen, und R. F. Ismagilov. Reactions in droplets in microfluidic channels. *Angewandte Chemie-International Edition*, 45(44):7336–7356, 2006.
- J. Sproß und A. Sinz. A capillary monolithic trypsin reactor for efficient protein digestion in online and offline coupling to esi and maldi mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 82(4): 1434–1443, 2010.

- A. D. Stroock, S. K. W. Dertinger, A. Ajdari, I. Mezic, H. A. Stone, und G. M. Whitesides. Chaotic mixer for microchannels. *Science*, 295(5555):647–651, 2002.
- N. Sundaram und D. K. Tafti. Evaluation of microchamber geometries and surface conditions for electrokinetic driven mixing. *Anal. Chem.*, 76(13):3785–3793, 2004.
- J. J. vanDeemter, F. J. Zuiderweg, und A. Klinkenberg. Longitudinal diffusion and resistance to mass transfer as causes of nonideality in chromatography. *Chemical Engineering Science*, 5(6):271–289, 1956.
- P. Watts und C. Wiles. Micro reactors: a new tool for the synthetic chemist. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 5(5):727–732, 2007.
- C. Wiles und P. Watts. Continuous flow reactors, a tool for the modern synthetic chemist. *Eur. J. Org. Chem.*, 2008(10):1655–1671, 2008.
- Z. G. Wu und N. T. Nguyen. Convective-diffusive transport in parallel lamination micro-mixers. *Microfluidics and Nanofluidics*, 1(3):208–217, 2005.
- J. Yang, X. T. Pi, L. G. Zhang, X. S. Liu, J. Yang, Y. Cao, W. X. Zhang, und X. L. Zheng. Diffusion characteristics of a t-type microchannel with different configurations and inlet angles. *Analytical Sciences*, 23(6):697–703, 2007.

Thesen

1. Die messtechnische Verfolgung von Prozessen erfordert insbesondere für kinetische Untersuchungen und Prozesssteuerungen geeignete online-fähige Verfahren.
2. Die Massenspektrometrie stellt im Unterschied zu klassischen, auf Prinzipien der optischen Spektroskopie beruhenden, online-Messverfahren eine geeignete Methode für echtzeitfähige strukturselektive Untersuchungen dar.
3. In kontinuierlichen Mikroreaktionssystemen können bessere Syntheseergebnisse erreicht werden als in konventionellen Reaktoren, aufgrund der besseren Durchmischung der Edukte und der besseren Zu- und Abfuhr der Reaktionswärme.
4. Kontinuierliche Mikroreaktoren bergen ein geringeres Gefahrenpotential im Vergleich zu den diskontinuierlich betriebenen Batchreaktoren und sind somit ein geeignetes System für schnell ablaufende und stark exotherme Reaktionen.
5. Die direkte Ankopplung eines Mikroreaktors an ein Massenspektrometer stellt besondere Anforderungen hinsichtlich der Probenentnahme, - vorbereitung und Transport.
6. Der modulare Aufbau sowie die Austauschbarkeit des Mikroreaktionssystems ermöglichen einen flexiblen Einsatz der entwickelten Kopplung. Die Verweilzeiten im Reaktor sowie die Reaktionsparameter sind unabhängig von der entwickelten Kopplung und können durch Wahl des Mikroreaktionssystems entsprechend der eigenen Anwendung ausgelegt werden.
7. Das Signal der zur Analyse am Massenspektrometer eintreffenden Probe ist abhängig vom gezogenen Probenvolumen, dem Probenweg, dem Volumenstrom, der Probenvorbereitung und den Eigenschaften der Probe und des Transportfluides.
8. Die Regelung durch Teilung der Volumenströme auf Basis der Strömungswiderstände in einem Kapillarnetz über das Öffnen und Schließen von Abzweigen ist prinzipiell

möglich, erfordert aber eine aufwendige Anpassung der Kapillargeometrien um für verschiedene Reaktordurchflüsse einen konstanten Volumenstrom ins Analysegerät zu erhalten.

9. Das Halbieren des Volumenstromverhältnisses (Probe/Lösungsmittel) am T-Mischer halbiert nicht das Messsignal am Time-of-Flight Massenspektrometer.
10. Der Zeitaufwand verschiedener Reaktionsstadien in einer ablaufenden Reaktion sowie der Verbrauch an Edukten lassen sich durch systematische Anpassung der Volumenströme entsprechend eines entwickelten Algorithmus halbieren. Der Algorithmus stellt das aktuelle Reaktionsstadium mit dem für das folgende Reaktionsstadium notwendigen Volumenstrom ein wobei die Dauer bis zur Probenahme beider Proben der verschiedenen Reaktionsstadien angepasst wird.
11. Lange Probenwege und hohe Kapillarvolumen vermindern die Konzentration der Probe am Ende der Kapillaren zum Analysegerät. Die minimal nachweisbare Probenkonzentration bei gleichem Probenvolumen ist abhängig vom Transportweg und somit vom Gesamtsystem der Probenentnahme und Analyse.
12. Im Vergleich zu anderen Systemen findet keine Chromatographie im Vorfeld der MS Analyse statt. Die direkte Kopplung eines Mikro-Konti-Reaktorsystems ermöglicht ein High-Throughput-Screening bei einer Dauer für die Probenentnahme und Analyse von nur 2 Sekunden, wodurch eine schnelle Rückführung der Messergebnisse auf die Prozesssteuerung möglich wird.

A Anhang

Zu Kapitel 6.2.2

Bezeichnung	Spezifikationen	Medienberührende Werkstoffe
HNPM Pumpe mzr-2942-cy M2	Verdrängungsvolumen: $3\mu l$ Volumenstrom: $0,3 - 18ml/min$ Drehzahlbereich: $100 - 6000U/min$ Gleichlaufschwankungen: $20 - 30U/min$ Zusatz: Untersetzungsgetriebe 4,4:1 Drehzahlbereich: $23 - 1364U/min$ $0,07 - 4,1ml/min$	Alloy C276/C22, Al ₂ O ₃ -Keramik/ZrO ₂ , Epoxidharzklebstoff Rotoren: ZrO ₂ -Mischkeramik Wellendichtring: graphitverstärktes PTFE, Alloy C276 Statische Dichtungen: FFKM
HNPM Pumpe mzr-2905	Verdrängungsvolumen: $3\mu l$ Volumenstrom: $0,003 - 18ml/min$ Drehzahlbereich: $1 - 6000U/min$ Gleichlaufschwankungen: $< 20 - 30U/min$	
HNPM Pumpe mzr-2542-cy M2	Verdrängungsvolumen: $1,5\mu l$ Volumenstrom: $0,15 - 9ml/min$ Zusatz: Untersetzungsgetriebe 4,4:1 Drehzahlbereich: $23 - 1364U/min$ $0,03 - 2ml/min$ Minimum $1U/min$ Gleichlaufschwankungen: $< 20 - 30U/min$	Material wie mzr-2942-cy M2
Durchflussmesser Bronkhorst Mini-Cori Flow M13	Erweiterter Messbereich: $1-50g/h$ und $10-1000g/h$	
3/2 uns 2/2 Wege Ventil Buerkert	Anschlüsse: 28 UNF Verschraubung auf $1/16''$	
T-Stück T-Stück Rückschlagventil Swagelok SS-100-R-2	0,5mm Totvolumen: $3\mu l$ PEEK 0,7mm Totvolumen: $6\mu l$ PEEK Anschlüsse: $1/8''$ Adapter auf $1/16''$ Kalrez-Dichtung (FFKM)	
Kapillare Knauer	Edelstahl, AD $1/16''$ ID 0,5mm und 0,7mm	
Heizmodul Julabo F26-HP	bis 210°C Huber SilOil: M40.165.10 (-40°C bis 160°C)	

Tabelle A.1: fluidische Spezifikationen



Certificate of Analysis

ESI-L Low Concentration Tuning Mix 100ml

Agilent Part Number: G1969-85000 **Sample Lot Number:** LB78436

Concentration (weight to volume) and Purity/Grades:

Neat Material	Gravimetric Conc.	Neat material Purity and/or Grade
Betaine (CAS NO.: 107-43-7)	< 0.01%	98.00%
Trifluoroacetic acid ammonium salt (CAS NO.: 3336-58-1)	< 0.01%	98.60%
Hexamethoxyphosphazine (CAS NO.: 957-13-1)	< 0.01%	99.90%
Hexakis(2,2-difluoroethoxy)phosphazine (CAS NO.: 186817-57-2)	< 0.01%	99.00%
Hexakis(1H, 1H, 3H-tetrafluoropropoxy)phosphazine (CAS NO.: 58943-98-9)	< 0.01%	97.00%
Hexakis(1H, 1H, 5H-octafluoropentoxy)phosphazine (CAS NO.: 16059-16-8)	< 0.01%	99.00%
Hexakis(1H, 1H, 7H-dodecafluoroheptoxy)phosphazine (CAS NO.: 3830-74-8)	< 0.01%	97.00%
Hexakis(1H, 1H, 9H-perfluorononyloxy)phosphazine (CAS NO.: 186043-67-4)	< 0.01%	96.00%
Hexakis(1H, 1H ,4H-hexafluorobutoxy)phosphazine (CAS NO.: 186406-47-3)	< 0.01%	97.00%
Hexakis(1H, 1H, 6H-decafluorohexyloxy)phosphazine (CAS NO.: 186406-48-4)	< 0.01%	97.00%
Hexakis(1H, 1H, 8H-tetradecafluoroctyloxy)phosphazine (CAS NO.: 186406-49-5)	< 0.01%	98.00%
Tris(trifluoromethyl)-1, 3, 5-triazine (CAS NO.: 368-66-1)	< 0.01%	99.60%
Tris(heptafluoropropyl)-1, 3, 5-triazine (CAS NO.: 915-76-4)	< 0.01%	99.10%

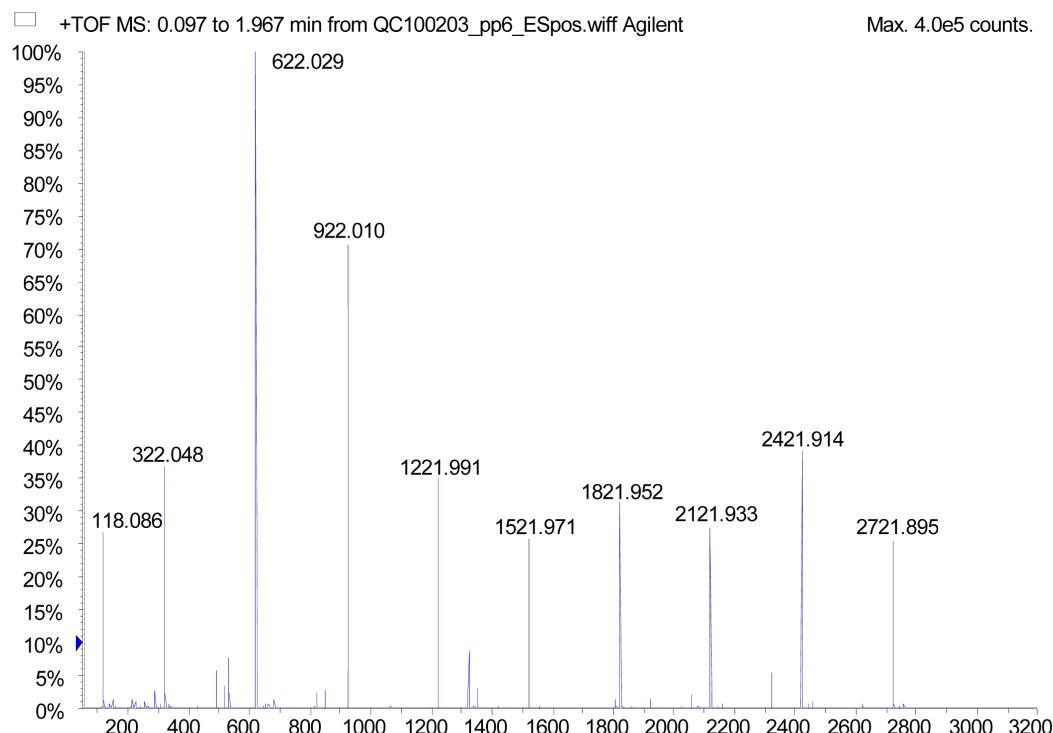
Solvent Composition:

Acetonitrile (CAS NO.: 75-05-8)	95.0%	HPLC grade 99.9%
DI Water (CAS NO.: 7732-18-5)	5.0%	De-ionized

Traceability:

This standard has been produced gravimetrically using ISO9001 quality procedures. NIST traceable weights are used to verify balance calibration with the preparation of each lot. Concentration of analyte in solution is ug/ml +/- 0.5%, uncertainty based upon balance and Class A volumetric glassware. API-Mass spectrometry was used to evaluate this multi-standard solution.

Abbildung A.1: Certificate of Analysis von Agilent Technologies, ESI-Tuning Mix, Seite1

G1969-85000 POS ES-TOF SPECTRA

Sample: G1969-85000

Instrument: Agilent G1969A API-TOF MS

Mode:ES

Polarity: Positive ion mode

CDS infusion rate: 0.1 ml/min

Vcap: -4 kV

Fragmentor: 215 V

Nebulizer pressure : 20 psig

Drying gas flow : 6 L/min

Drying gas temperature : 300 °C

MCP : 650 V

PMT : 703 V

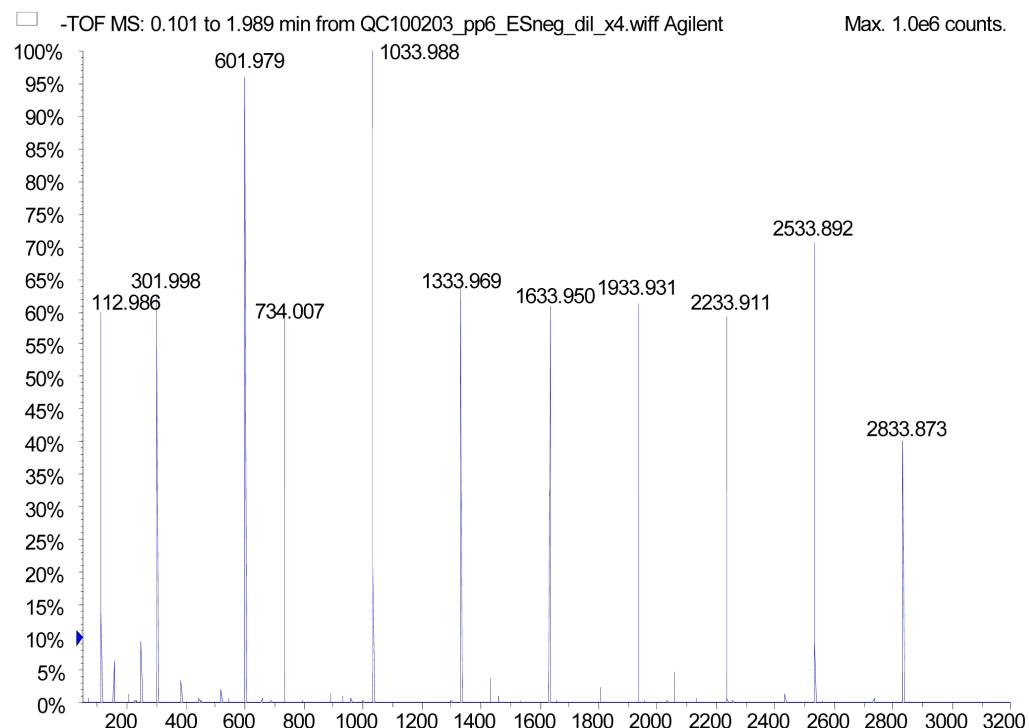
Scan range: m/z 50-3200

Transients : 10,000

Flight tube: -6.5 kV

Oct. RF : 250 V pk

Abbildung A.2: Certificate of Analysis von Agilent Technologies, ESI-Tuning Mix, Seite2

G1969-85000 NEG ES-TOF SPECTRA

Sample: G1969-85000 (1:4 dilution in 95:5 ACN/H₂O)

Instrument: Agilent G1969A API-TOF MS

Mode:ES

Polarity: Negative ion mode

CDS infusion rate: 0.1 ml/min

Vcap: +4 kV

Fragmentor: 160 V

Nebulizer pressure : 20 psig

Drying gas flow : 6 L/min

Drying gas temperature : 300 °C

MCP : 650 V

PMT : 703 V

Scan range: m/z 50-3200

Transients : 10,000

Flight tube: +6.5 kV

Oct. RF : 250 V pk

Abbildung A.3: Certificate of Analysis von Agilent Technologies, ESI-Tuning Mix, Seite3

PRINCIPAL IONS

MASS	POS	NEG
1	118.086255	112.985587
2	322.048121	301.998139
3	622.028960	601.978977
4	922.009798	1033.988109
5	1221.990637	1333.968947
6	1521.971475	1633.949786
7	1821.952313	1933.930624
8	2121.933152	2233.911463
9	2421.913990	2533.892301
10	2721.894829	2833.873139

Date of Manufacture: 24 AUGUST 2010

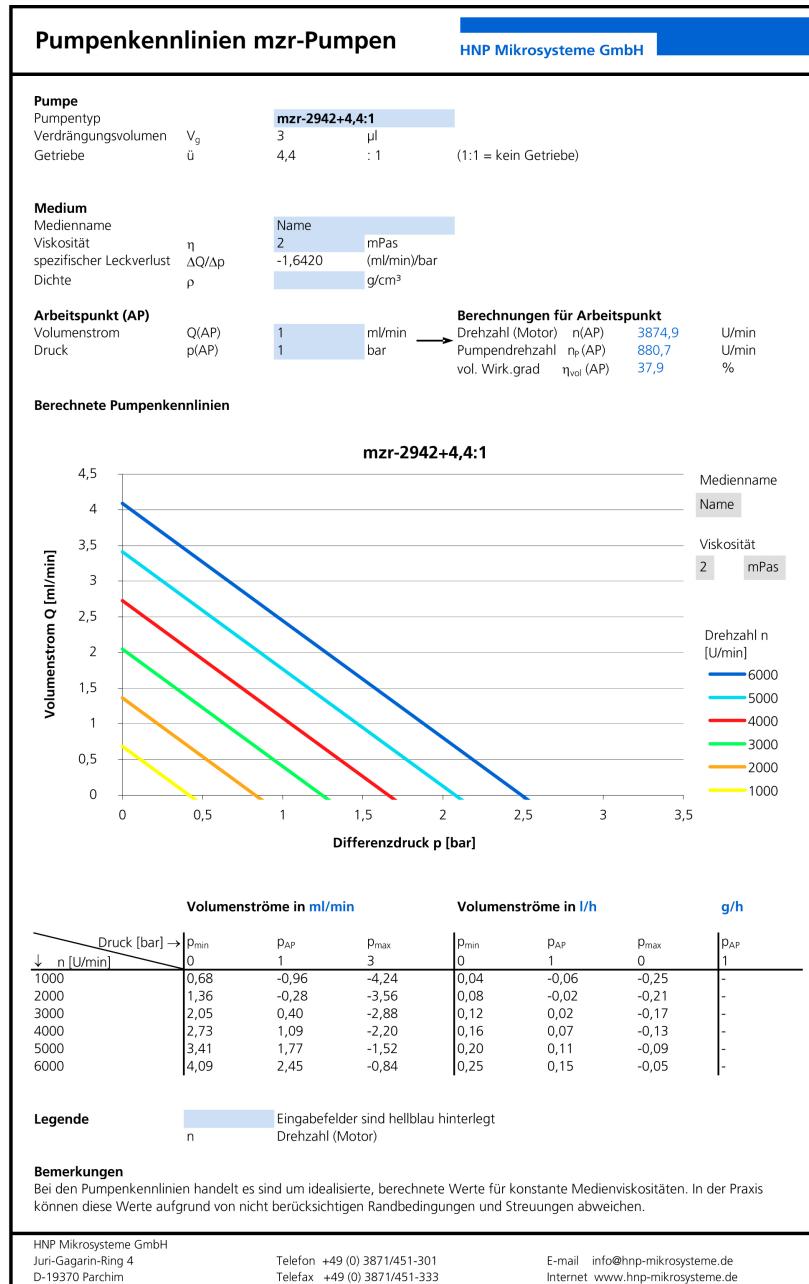
Date of Expiration: 24 AUGUST 2012



Elwood Doughty
QA Manager
Supelco, Inc.

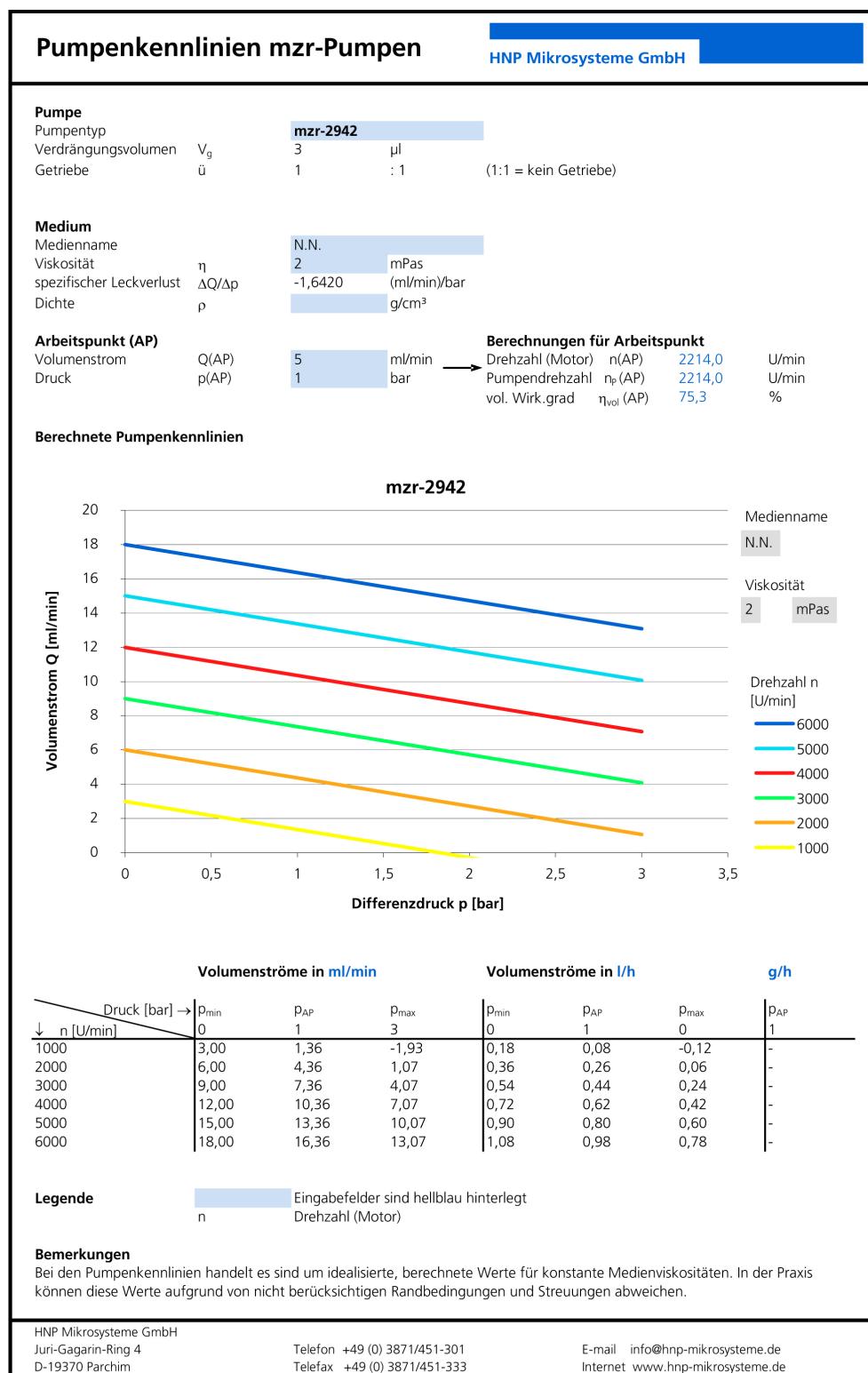
Abbildung A.4: Certificate of Analysis von Agilent Technologies, ESI-Tuning Mix, Seite4

Zu Kapitel 6.2.4



[kennliniengenerator.xls]deutsch
13.01.09

Abbildung A.5: Pumpenkennlinie mjr-2942 mit Getriebe für $\eta = 2 \text{ mPas}$

Abbildung A.6: Pumpenkennlinie mjr-2942 für $\eta = 2 \text{ mPas}$

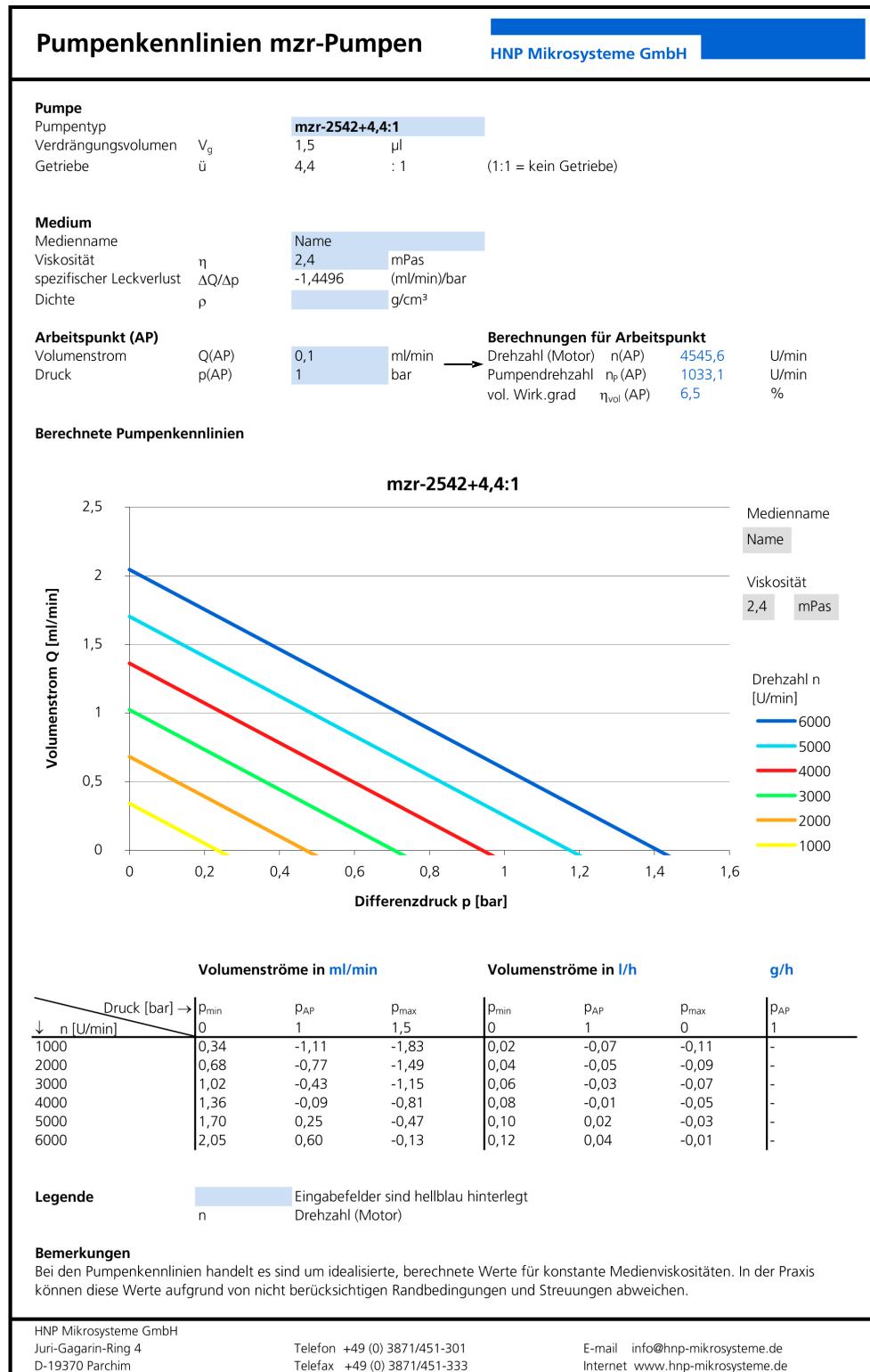


Abbildung A.7: Pumpenkennlinie mjr-2542 mit Getriebe für $\eta = 2,4 \text{ mPas}$

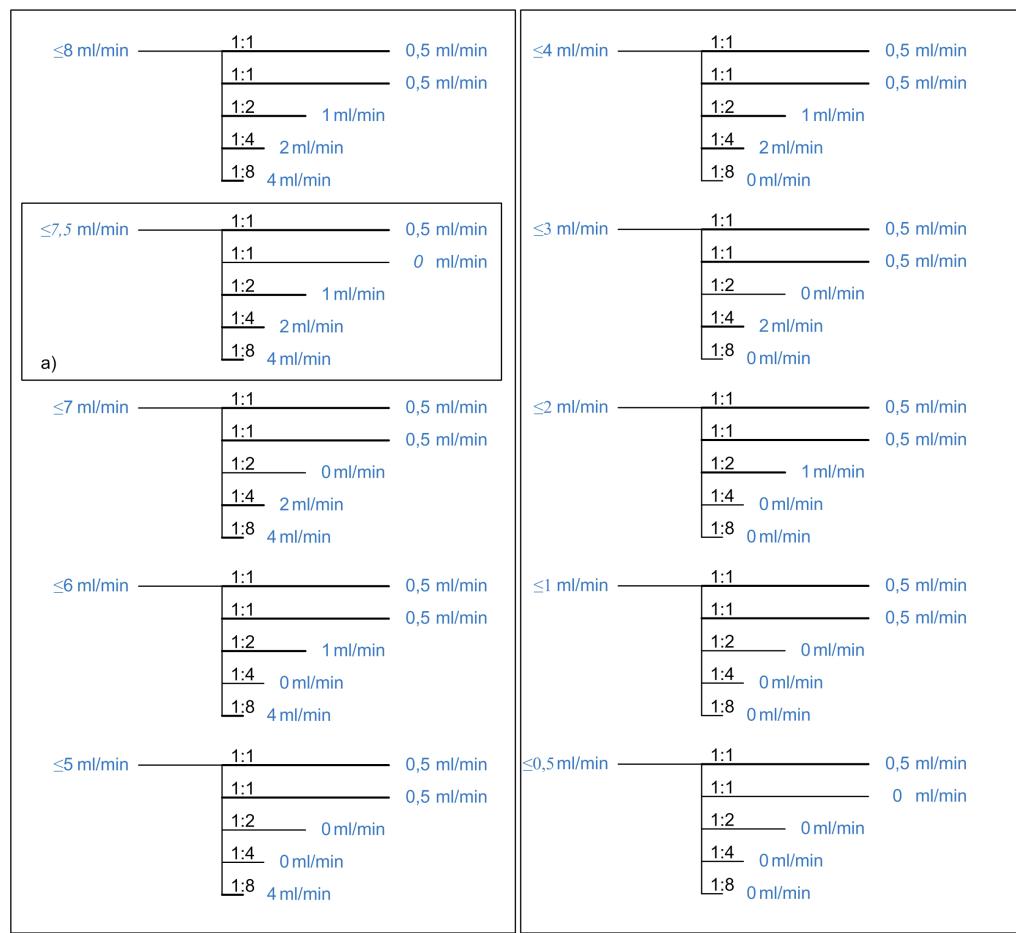


Abbildung A.8: Schaltvorschrift der Ventile

Zu Kapitel 6.2.6

Bezeichnung	Spezifikationen	Medienberührende Werkstoffe
Pumpe Knauer Smartline Pumpe 100	Fördersystem: Doppelkolbenpumpe Volumenstrom: 0,001-10ml/min Flussratengenauigkeit: < 1% bei 1ml/min, 12MPa Flussratenreproduzierbarkeit: < 0,5% bei 1ml/min, 12MPa Druckmaximum: 40MPa (400bar)	Edelstahl
HNPM Pumpe mzs-4605	Verdrängungsvolumen: $12\mu l$ Volumenstrom: $0,012 - 72ml/min$ Drehzahlbereich: $1 - 6000U/min$ Gleichlaufschwankungen: $< 20 - 30U/min$	

Tabelle A.2: Zusammenfassung fluidische Spezifikationen - Konzept IV „Multiport-Ventil“

Zu Kapitel 6.3.1

- 8 Pt100 Eingänge (-200 °C ... +600°C)
- 8 Analog-Eingänge (0/4...20 mA oder -10...+10V) zum Anschluss von analogen Sensoren für Druck, Durchfluss etc. und von Geräten mit analogem Ausgang wie pH-Meter, Thermostate etc.
- 8 Analog-Ausgänge (0/4...20 mA oder -10...+10V) zum Ansteuern von Geräten mit analogem Eingang wie Rührer, Thermostat, Dosierpumpe etc.
- 4 Digital-Ausgänge (24V, Binär, PWM und PFM) zum Ansteuern von binären Aktoren wie Magnetventile, Heizungen, Pumpen etc.
- 4 Digital-Eingänge (Binär u. Frequenz) zum Anschluss binärer Sensoren wie Füllstandswächter, Druckwächter oder Status- oder Alarmausgänge von Geräten
- 9 serielle RS232 Schnittstellenmodule zum Anschluss von Waagen, Geräten und Analysatoren mit serieller Schnittstelle

Zu Kapitel 6.3.2.2.4

16:31:04;P1;2.0; Pumpe P1 Soll-Durchfluss: 2.0 COM11 F2000
16:31:04;P2;0.0; Pumpe P2 Soll-Durchfluss: 0.0 COM10 F0
16:31:06: Vici PosB
16:31:06: Vici PosA
...
16:32:48: Vici PosB
16:32:48: Vici PosA
16:32:51;P1;0.0; Pumpe P1 Pumpe aus. Soll-Durchfluss: 0.0 COM11
16:32:51;P2;0.0; Pumpe P2 Pumpe aus. Soll-Durchfluss: 0.0 COM10
16:33:40: LSM: 40/60 ACN/H₂O+0,1HCOOH ,Konzentration: 1000ppm
16:33:40: 1 Proben. Messung alle 1 sek. Länge der Probe: 0.2 sek
16:33:40;P1;3.000; Pumpe P1 Soll-Durchfluss: 3.00 COM11
16:33:40;P2;3.000; Pumpe P2 Soll-Durchfluss: 3.00 COM10
16:33:51;Vici;PosB
16:33:51;Vici;PosA
16:33:53;P1;1.000; Pumpe P1 Soll-Durchfluss: 1.00 COM11
16:33:53;P2;1.000; Pumpe P2 Soll-Durchfluss: 1.00 COM10
16:34:08;Vici;PosB
16:34:09;Vici;PosA
16:34:10;P1;1.000; Pumpe P1 Soll-Durchfluss: 1.00 COM11
16:34:10;P2;1.000; Pumpe P2 Soll-Durchfluss: 1.00 COM10
16:34:26;Vici;PosB
16:34:26;Vici;PosA
16:34:28;P1;0.600; Pumpe P1 Soll-Durchfluss: 0.60 COM11
16:34:28;P2;0.600; Pumpe P2 Soll-Durchfluss: 0.60 COM10
16:34:53;Vici;PosB
16:34:53;Vici;PosA
16:34:55;P1;0.600; Pumpe P1 Soll-Durchfluss: 0.60 COM11
16:34:55;P2;0.600; Pumpe P2 Soll-Durchfluss: 0.60 COM10
16:35:20;Vici;PosB
16:35:20;Vici;PosA
.
.

Abbildung A.9: Auszug aus dem von der Software generierten LOGFile

Zu Kapitel 6.3.2.1

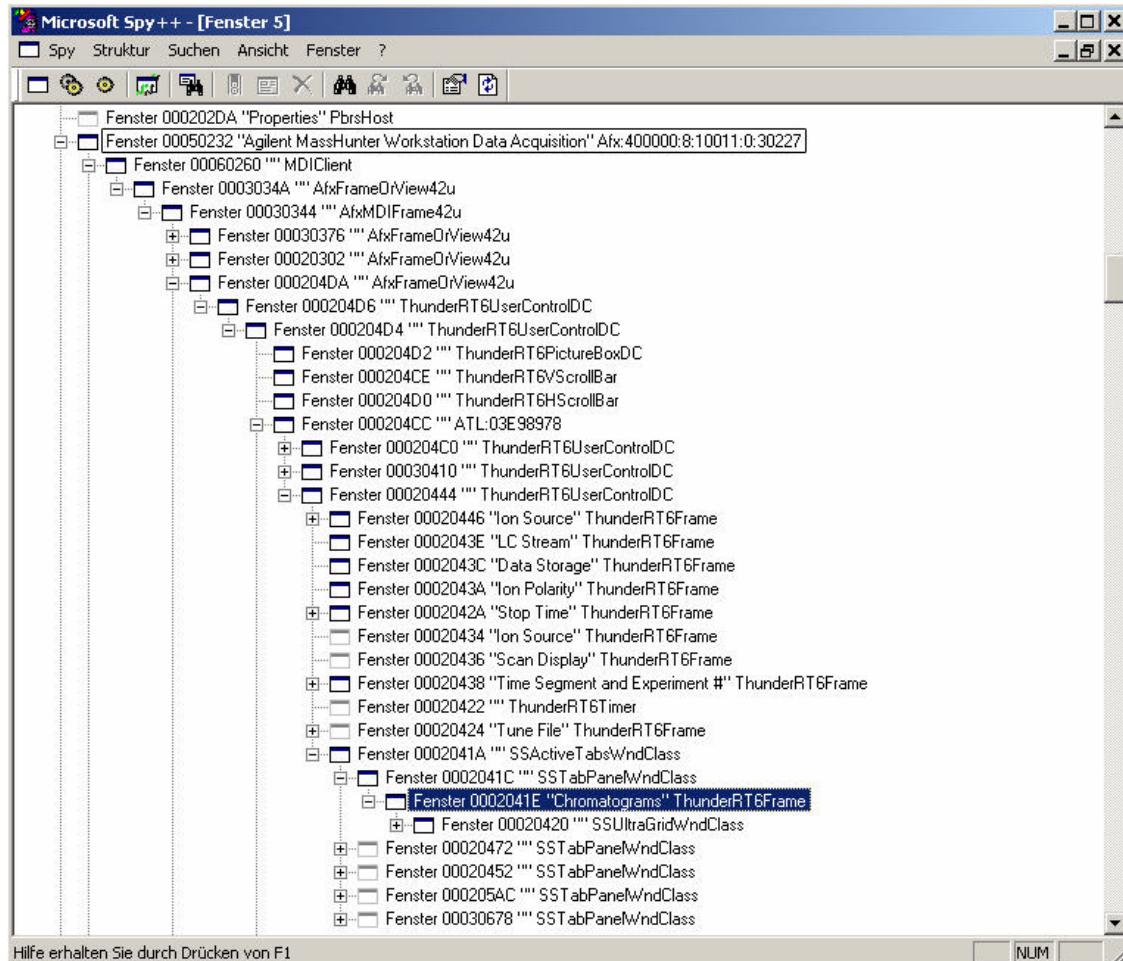


Abbildung A.10: Screenshot Spy++, Fenster Hierarchie der MassHuntersoftware

Zu Kapitel 6.4

TOF-Spezifikationen:

- Ein bis zu fünffacher dynamischer Bereich im Spektrum ermöglicht den Nachweis von Substanzen im Spurenbereich selbst bei starker Präsenz anderer Substanzen.
- Datenerfassungsraten von bis zu 20 MS oder 10 MS/MS Spektren pro Sekunde ge-

währleisten auch bei schneller Chromatographie und einem hohen Probendurchsatz eine hervorragende Datenqualität und -kompatibilität.

- Time-of-flight Massebereich - m/z 20 - 20,000
- Automatisches Tuning und die Bereitstellung einer internen Massenkalibrierprobe gewährleisten eine einheitliche Massengenauigkeit und eine zuverlässige Molekulargewichtsbestätigung.
- MassHunter Workstation software is compound-centric with powerful data mining and data analysis functionality, supplemented by powerful, application-specific software packages that maximize productivity and result quality for specialized analyses

Systemparameter:

- Intel Core 2 Duo, 2,67GHz, 3,5GB RAM
- OS: Windows XP V2002, SP3
- Software Agilent Masshunter Workstation
 - Data Acquisition B.02.00, Patches 1,2,3
 - Qualitative Analysis B.02.00, Patches 2

Einstellungen:

- Dual ESI (Seg)
 - Gastemperatur: 350°C
 - Drying Gas: 10 l/s
 - Nebulizer: 40 psig
- Dual ESI (Expt)
 - V_{Cap} : 3500V
- MS TOF (Expt)
 - Fragmentor: 175V
 - Skimmer: 65V
 - OCT 1 RF V_{pp} : 250V
- Aquisition rate/time: 1,03 spectra/sec

Zu Kapitel 7.3

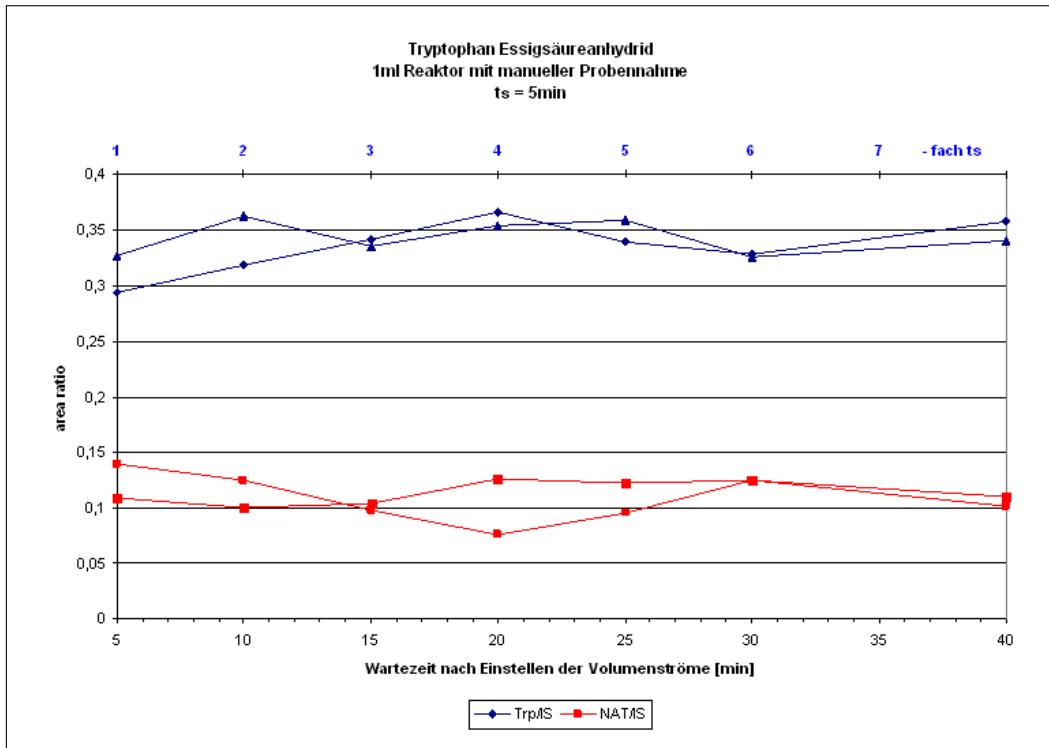


Abbildung A.11: Reaktionsstadium $t_s=5\text{min}$, 1ml Reaktor, Tryptophan (203), Produkt (245)

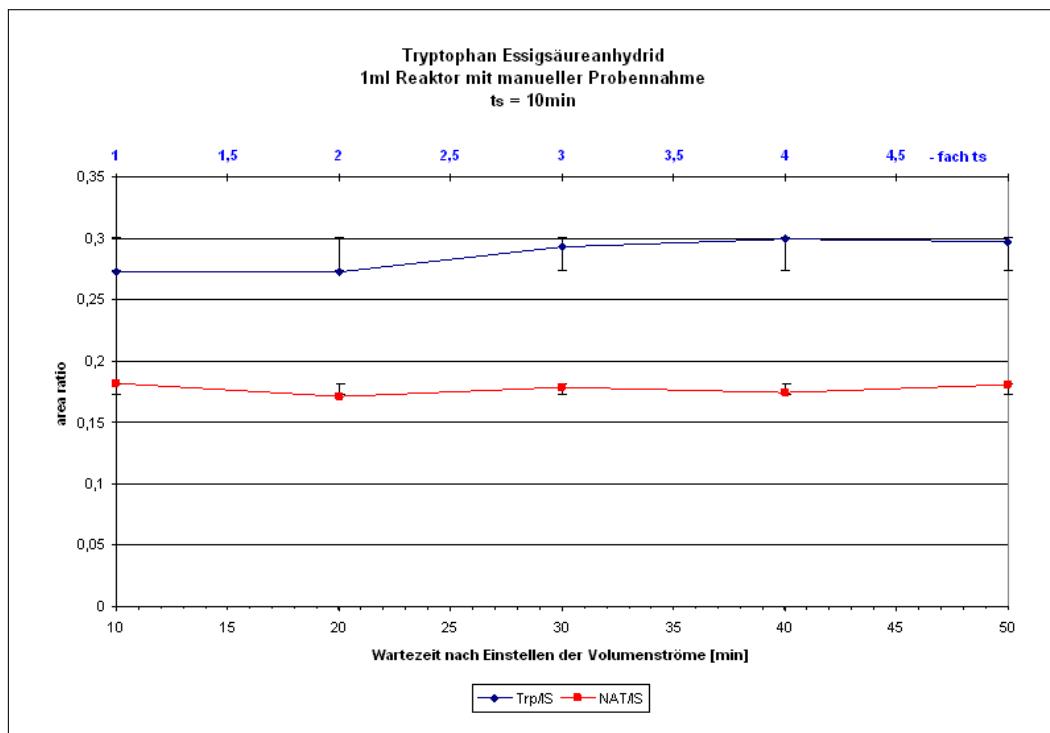


Abbildung A.12: Reaktionsstadium $t_s=5\text{min}$, 1ml Reaktor, Tryptophan (203), Produkt (245)