

ANGEWANDTE CHEMIE

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

82. JAHRGANG 1970

HEFT 17

SEITE 675—706

Gelchromatographie

Von Walter Heitz^[*]

Die Gelchromatographie kann als eine netzwerk-limitierte Verteilung aufgefaßt werden. Es wird ein Überblick über die Theorie der Methode sowie die Herstellung und die Eigenschaften derartiger Gelsysteme gegeben. Die Optimierung des Verfahrens wird am Beispiel der Trennung von Oligomeren erörtert.

1. Einleitung

Die Gelchromatographie hat sich zu einer wertvollen Laboratoriumsmethode zur Trennung von Substanzgemischen nach ihrem Molekulargewicht entwickelt. Neben der Bezeichnung Gelchromatographie sind die Ausdrücke Gelpermeationschromatographie^[1] und Gelfiltration^[2] gebräuchlich.

Die Gelchromatographie läßt sich, wie jedes andere chromatographische Verfahren, als eine Methode definieren, bei der eine mobile Phase mit der Gelegenheit zum Stoffaustausch an einer stationären Phase vorbeigeführt wird. Die mobile Phase ist eine Flüssigkeit, die das zu trennende Substanzgemisch gut löst. Die stationäre Phase ist ein poröses Material, dessen Poren etwa so groß wie die zu trennenden Moleküle sind. Solche porösen Strukturen können mit anorganischen Polymeren (Glas^[3], Silicagel^[4–7]) erzeugt werden; am häufigsten werden jedoch vernetzte organische Polymere verwendet, die zumindest im gequollenen Zustand die gewünschte Struktur haben. Im vorliegenden Aufsatz soll im wesentlichen über die Fortschritte berichtet werden, die in den letzten vier Jahren erzielt wurden (ältere Übersichten s. [8–14]).

Im einfachsten Fall füllt man eine Säule mit dem gequollenen Gelmaterial, gießt die Probelösung auf das Gelbett, fängt das Eluat fraktioniert auf und untersucht jede Fraktion. Zur optimalen Anwendung der Methode sollte die experimentelle Anordnung, wie in Abbildung 1 skizziert, aufgebaut sein.

Das Lösungsmittel fließt vom Vorratsgefäß (1) über eine Fritte in die Entgasungsanlage (2); dies ist ein elektrisch beheizter Metallblock mit Steigrohr oder ein Liebighüler, der durch eine thermostasierte Flüssigkeit beheizt wird. Beim Arbeiten mit Wasser als Elutionsmittel können Schlauchquetschpumpen eingesetzt werden, bei organischen Lösungsmitteln sind Kolbenpumpen vorzuziehen. Die Kolbenstöße müssen vor allem bei Verwendung weicher Gelen durch einen Faltenbalg gedämpft werden. Das Einschleusen der Probe kann in wäßrigen Systemen, ähnlich wie bei der Gaschromatographie, durch Injektion durch eine elastomere Dichtung erfolgen, in organischen Systemen werden Kugelventile verwendet^[15], oder eine Probenschleife wird über ein Mehrwegeventil in den Lösungsmittelstrom eingeschaltet. Über die Säulen gelangt das Elutionsmittel in ein registrierendes Anzeigegerät (6). Neben UV- und IR-Geräten^[16, 17] haben sich vor allem Differentialrefraktometer bewährt. Die Ver-

[*] Priv.-Doz. Dr. W. Heitz

Organisch-chemisches Institut der Universität
65 Mainz, Johann-Joachim-Becher-Weg 18–20

[1] J. C. Moore, J. Polymer Sci., Part A 2, 835 (1964).

[2] P. Flodin u. J. Porath in E. Heftman: Chromatography. Reinhold Publ. Corp., New York 1961.

[3] W. Haller, Nature (London) 206, 693 (1965).

[4] M. Vaughan, Nature (London) 195, 801 (1962).

[5] W. Heitz, H. Ullner u. H. Höcker, Makromolekulare Chem. 98, 42 (1966).

[6] G. Langhammer u. H. Seide, Kolloid-Z., Z. Polymere 216/217, 264 (1967).

[7] H. W. Kohlschütter, K. Unger u. K. Vogel, Makromolekulare Chem. 93, 1 (1966).

[8] H. Determann, Angew. Chem. 76, 635 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. 3, 608 (1964).

[9] J. Johnson, R. Porter u. M. Cantow, Rev. macromolecular Chem. I, 393 (1966).

[10] J. Seidl, J. Malinsky, K. Dusek u. W. Heitz, Advances Polymer Sci. 5, 113 (1967).

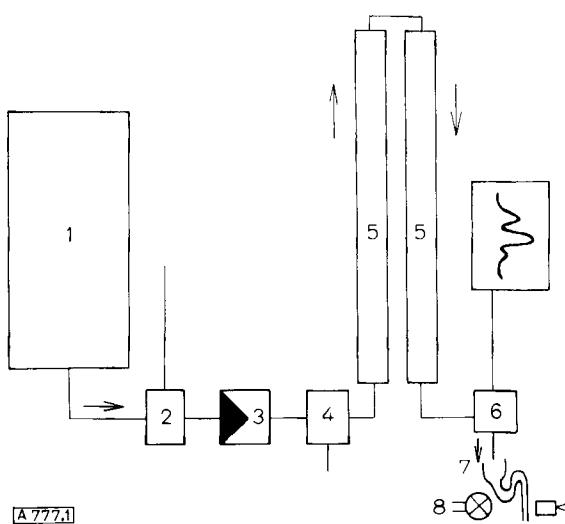
[11] K. H. Altgelt u. J. C. Moore in M. Cantow: Polymer Fractionation. Academic Press, New York 1967, S. 123.

[12] W. Heitz u. W. Kern, Angew. Makromolekulare Chem. I, 150 (1967).

[13] J. C. Moore, in Characterisation of Macromolecular Structure, S. 273, Proc. of a Conference, Warrenton, Virginia, 1967 (Publication 1573, National Academy of Science, Washington 1968).

[14] H. Determann: Gelchromatographie. Springer, Berlin 1967.

[15] W. Heitz u. J. Coupek, J. Chromatogr. 36, 290 (1968).



A 777.1

Abb. 1. Versuchsanordnung bei der Gelchromatographie. 1 = Vorratsbehälter für das Lösungsmittel, 2 = Entgasungsanlage, 3 = Pumpe, 4 = Probengeber, 5 = Säule, 6 = Anzeigegerät, 7 = Siphon, 8 = Lichtschranke.

wendung von Flammenionisationsdetektoren für die Flüssigchromatographie ist in der Gelchromatographie zur Zeit wegen des hohen Störpegels nur in Einzelfällen vorzuziehen^[18]. Das Volumen des ausgeflossenen Lösungsmittels wird über einen Siphon (7) mit Lichtschranke (8) oder einen Tropfenzähler gemessen und unmittelbar auf dem Schreiber registriert.

3. Theorie der Gelchromatographie

3.1. Das Trennprinzip

Bei der Elution eines Substanzgemisches an einer mit gequollenen Gelpartikeln gefüllten Säule erscheint die erste Substanz im Eluat, wenn das Volumen der ausgeflossenen Flüssigkeit dem Lösungsmittelvolumen zwischen den Gelkörnern (V_0) entspricht. Bei V_0 werden alle Substanzen eluiert, deren Moleküle so groß sind, daß sie nicht in die Poren des Gels eindringen können. Wenn wir Wechselwirkungseffekte mit der Gelmatrix vernachlässigen, wird die letzte Substanz aus der Säule austreten, wenn zusätzlich soviel Flüssigkeit ausgeflossen ist wie das Volumen des Lösungsmittels in den Gelkörnern (V_I) beträgt. Zwischen diesen Grenzen V_0 und $V_0 + V_I$ spielt sich die gesamte Trennung bei der Gelchromatographie ab (Abb. 2); dies zeigt, daß die Trennwirksamkeit hier wesentlich geringer ist als bei anderen chromatographischen Verfahren, beispielsweise der Gaschromatographie.

Mit sinkender Molekulgröße steht den Verbindungen ein wachsender Anteil α des gesamten Porenvolumens zur Verfügung. Daraus folgt bereits zwingend eine unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit verschieden großer Verbindungen; die Substanzen werden in der Reihenfolge abnehmenden Molekulargewichts

[16] J. H. Ross u. M. E. Caslo, *J. Polymer Sci., Part C* 21, 143 (1968).

[17] S. Terry u. F. Rodriguez, *J. Polymer Sci., Part C* 21, 191 (1968).

[18] E. Haahti u. T. Nikhara, *Acta chem. scand.* 17, 2565 (1963).

eluieren. Die Wechselwirkungen zwischen der gelösten Substanz und der Gelphase (Gelmatrix + darin enthaltenes Lösungsmittel) sind nicht notwendigerweise identisch mit den Wechselwirkungen zwischen dem reinen Lösungsmittel und der Substanz; dies führt zu

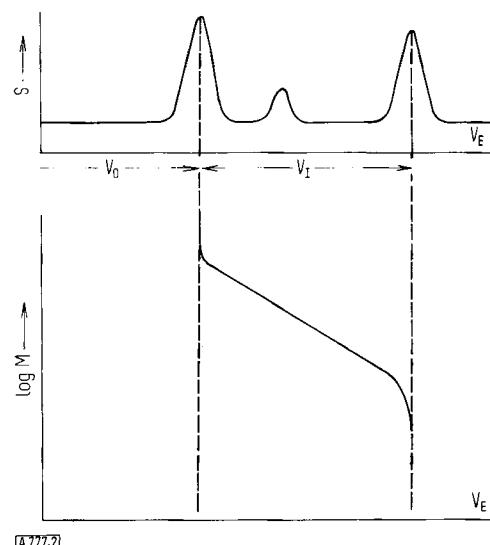


Abb. 2. Elutionsverhalten bei gelchromatographischen Versuchen (schematisch). Erläuterungen s. Text. S = Schreiberausschlag, V_E = Elutionsvolumen.

einer substanzspezifischen Verteilung mit einem Verteilungskoeffizienten K zwischen dem Außenvolumen V_0 und dem Teil α des Porenvolumens V_I , das der Verbindung – bedingt durch die Molekulgröße – zugänglich ist. Entscheidend für den Transport der Substanz in der Säule ist die Verteilungszahl G .

$$G = K \frac{V_0}{\alpha V_I} \quad (1)$$

Das polymere Netzwerk begrenzt die Gelphase für die Moleküle entsprechend ihrer Größe. Die Gelchromatographie ist demnach als eine netzwerk-limitierte Verteilung zu beschreiben.

Legen wir für die Gelchromatographie das Konzept einer vielstufigen Verteilung zugrunde, so erhalten wir in Analogie zu den Ableitungen für andere chromatographische Verfahren^[19] für das Maximum der Elutionskurve V_{\max} ,

$$V_{\max} = V_E = \frac{n-1}{n} V_0 \left(1 + \frac{1}{G} \right) \quad (2)$$

wobei n die Anzahl der äquivalenten Verteilungsschritte (theoretische Bodenzahl) ist.

Durch Einsetzen von Gl. (1) erhalten wir

$$V_E = \frac{n-1}{n} \left(V_0 + \frac{\alpha}{K} V_I \right) \quad (3)$$

und für große Werte von n

$$V_E = V_0 + \frac{\alpha}{K} V_I \quad (4)$$

Für die mittlere Abweichung σ , die den Abstand zwischen Kurvenw Wendepunkt und Lot im Maximum darstellt (Abb. 2), ergibt sich

$$\sigma = \frac{\sqrt{n-1}}{n} V_0 \left(1 + \frac{1}{G} \right) \quad (5)$$

[19] M. Brenner, A. Niederwieser, G. Pataki u. R. Weber in E. Stahl: *Dünnschichtchromatographie*. Springer, Berlin 1962, S. 82 ff.

Mit Gl. (3) erhalten wir

$$\sigma = \frac{n}{\sqrt{n-1}} V_E \quad (6)$$

Damit ergibt sich für die theoretische Bodenzahl

$$n = (V_E^2/\sigma^2) + 1 \approx (V_E/\sigma)^2 \quad (7)$$

Für den von beiden Wendepunktstangenten erzeugten Basisabschnitt b (Bandenbreite) gilt $b = 4\sigma$; damit ist

$$n = 16 (V_E/b)^2 \quad (8)$$

Nach dieser Gleichung wird die theoretische Bodenzahl von gelchromatographischen Kolonnen im allgemeinen bestimmt. Niedermolekulare Verbindungen wie Benzol, Chlorbenzol, Essigester oder Octan dienen dabei als Testsubstanz; der erhaltene Wert hängt jedoch von der verwendeten Substanz ab (vgl. Abschnitt 3.3).

Der Ausdruck α/K entspricht dem von *Flodin* und *Granath*^[20] angegebenen scheinbaren Verteilungskoeffizienten K_D ; ($\alpha/K = K_D$). Der Trenneffekt bei der Gelchromatographie wird im wesentlichen durch die Porengröße und ihre Verteilung bestimmt; die Annahme substanzspezifischer Wechselwirkungen erlaubt aber ein besseres Verständnis des Trennvorganges. Bei der Trennung von Oligomeren ließen sich Verteilungseffekte experimentell beweisen^[21]. Die Annahme einer netzwerk-limitierten Verteilung erklärt zugleich zwangsläufig, daß teilweise α/K -Werte größer als 1 gefunden werden^[22, 23], obwohl die Elutionskurven symmetrisch sind.

Determann wies darauf hin, daß die Gele eine große innere Oberfläche haben^[14] und die Adsorptionsisothermen deshalb über einem größeren Bereich linear sind; auch diese Annahme würde die experimentellen Befunde erklären. Manche Gele sind aber aus einzelnen solvatisierten Polymerketten aufgebaut, die durch Vernetzungsbausteine verknüpft sind; in diesem Falle ist es günstiger, den Konzentrationsunterschied zwischen mobiler und zugänglicher stationärer Phase durch eine Verteilung zu erklären.

3.2. Die Eichbeziehung

Die Gelchromatographie gestattet es, Gemische aus Substanzen unterschiedlicher Molekülgröße zu trennen, ist jedoch keine Absolutmethode. Es ist also notwendig, die gelchromatographische Versuchsanordnung zu eichen. Systematische Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Elutionsvolumen und Molekulargewicht wurden von *Determann* und *Michel*^[24] referiert. In der Praxis wird meistens von der linearen Abhängigkeit des Elutionsvolumens vom Logarithmus des Molekulargewichtes Gebrauch gemacht:

$$\log M = A - B V_E \quad (9)$$

A und B sind Konstanten. Für jede polymerhomologe Reihe erhält man eine andere Eichkurve. Eine Auswertung nach dieser Methode setzt daher voraus, daß

[20] P. Flodin u. K. Granath, Symposium über Makromoleküle, Wiesbaden 1959.

[21] W. Heitz, K. L. Platt, H. Ullner u. H. Winau, Makromolekulare Chem. 102, 63 (1967).

[22] B. Gelotte, J. Chromatogr. 3, 330 (1960).

[23] M. Wilk, J. Rochlitz u. H. Bende, J. Chromatogr. 24, 414 (1966).

[24] H. Determann u. W. Michel, J. Chromatogr. 25, 303 (1966).

man über entsprechende Eichpräparate verfügt. Während bei Proteinen meist molekulareinheitliche und gut charakterisierte Proben zur Verfügung stehen, haben synthetische Polymere stets eine Molekulargewichtsverteilung. Die Uneinheitlichkeit (\bar{M}_w/\bar{M}_n) von Polymeren, die auf anionischem Wege hergestellt wurden, ist häufig jedoch hinreichend klein. Polystyrole^[*] und Polypropylenoxide^[**] mit enger Molekulargewichtsverteilung sind im Handel. Führt man eine Korrektur durch, die Störungen durch Konzentrationseffekte beseitigt (vgl. Abschnitt 3.3), so lassen sich auch Polymere mit breiter Molekulargewichtsverteilung zur Eichung verwenden^[25]. Charakterisierte Polymere stehen jedoch nicht in allen Fällen zur Verfügung. Die intensive Suche nach einer universellen Eichbeziehung hat daher eine erhebliche praktische Bedeutung; ihr wissenschaftlicher Wert liegt in einem besseren Verständnis der Methode, d. h. eine universelle Eichbeziehung gestattet zugleich eine Aussage, welche Größen den Trennprozeß bestimmen.

Eine universelle Eichbeziehung, die nur Parameter enthält, die durch die zu trennenden Verbindungen festgelegt werden, setzt zwingend voraus, daß spezifische Wechselwirkungen dieser Substanzen mit der Gelmatrix vernachlässigt werden können, d. h. $K = 1$.

Aus der Tatsache, daß spezifische Wechselwirkungen im Oligomerenbereich experimentell nachgewiesen wurden, kann man folgern, daß in diesem Molekulargewichtsbereich keine universelle Eichbeziehung existiert. Die Gele, die man zur Trennung von Oligomeren verwendet, unterscheiden sich in ihrem strukturellen Aufbau stark von Gelen, die für Polymer-trennungen geeignet sind (vgl. Abschnitt 4). Es ist daher durchaus kein Widerspruch, wenn nachgewiesen wird, daß eine solche Beziehung für Polymere existiert oder zumindest annähernd gültig ist.

Trägt man die Länge der gestreckten Molekülkette unter Berücksichtigung der Bindungswinkel und Bindungsabstände (gestreckte Zickzack-Kette) als Logarithmus gegen das Elutionsvolumen auf, so erhält man eine Eichkurve, die nach Multiplikation mit dem Molekulargewicht pro Längeneinheit eine Molekulargewichtsangabe für beliebige Polymere gestatten sollte^[1, 26, 27]. Mehrere Autoren zeigten jedoch, daß diese Beziehung nicht allgemeingültig ist^[28-34]. Auch die Viskositätszahl [η] und der Diffusionskoeffizient D sind keine normierenden Parameter^[29, 30].

[*] Hersteller: Pressure Chemical Co., Pittsburgh, Pennsylvania, USA.

[**] Hersteller: Waters Ass., Framingham, Massachusetts, USA.

[25] M. R. J. Cantow, R. S. Porter u. J. F. Johnson, J. Polymer Sci., Part A-1 5, 1391 (1967).

[26] J. C. Moore u. J. G. Hendrickson, J. Polymer Sci., Part C 8, 233 (1965).

[27] L. E. Maley, J. Polymer Sci., Part C 8, 253 (1965).

[28] D. J. Harmon, J. Polymer Sci., Part C 8, 243 (1965).

[29] G. Meyerhoff, Makromolekulare Chem. 89, 282 (1965).

[30] G. Meyerhoff, Ber. Bunsenges. physik. Chem. 69, 866 (1965).

[31] L. Segal, J. Polymer Sci., Part B 4, 1011 (1966).

[32] N. Nakajima, J. Polymer Sci., Part A-2 4, 101 (1966).

[33] M. J. R. Cantow, R. S. Porter u. J. F. Johnson, J. Polymer Sci., Part A-1 5, 987 (1967).

[34] G. Meyerhoff u. S. Jovanovic, J. Polymer Sci. Part B 5, 495 (1967).

Es ist sicher, daß die Dimensionen der in Lösung als Knäuel vorliegenden Polymeren einen wesentlichen Einfluß auf den Verlauf der Trennung haben. Wie Meyerhoff^[29, 30] zeigte, führt aber die Verwendung des Trägheitsradius r_G (und damit auch des mittleren Fadenendenabstandes) nicht zu einer universellen Eichbeziehung. Ein solches Verhalten ist jedoch annähernd durch folgende Funktionen gegeben:

$$M^{1/2}r_G = f(V_E) \quad (10a)$$

$$M^{1/2}[\eta]^{1/3} = g(V_E) \quad (10b)$$

Nach Benoit et al.^[35] gestattet der Radius der äquivalenten hydrodynamischen Kugel r_a eine universelle Eichbeziehung zu ermitteln. Nach Einstein^[36] hängt die makroskopische Viskosität einer Suspension von Kugeln vom Volumenanteil φ der suspendierten Kugeln ab. Betrachten wir die gelösten Polymermoleküle als suspendierte Kugeln, dann gilt

$$\varphi = (Nc/M)V_a \quad (11)$$

N = Avogadrosche Zahl, c = Gewichtskonzentration (g/ml), V_a = äquivalentes hydrodynamisches Volumen des Polymermoleküls; der Klammerausdruck ist die Zahl der Polymermoleküle pro Volumeneinheit.

Durch Einsetzen von Gl. (11) in die Einsteinsche Gleichung erhalten wir

$$M[\eta] = k V_a = k' r_a^3 \quad (12)$$

$$k, k' = \text{Konstante}, [\eta] = \text{Staudinger-Index} \left([\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0 c} \right)$$

Nach Gl. (12) trägt man $\log M[\eta]$ gegen das Elutionsvolumen V_E auf und erhält innerhalb der experimentellen Fehler eine universelle Eichkurve (Abb. 3). Die Gültigkeit dieser Beziehung wurde von mehreren Autoren geprüft^[35, 37–42]. Insbesondere lassen sich Werte für verzweigte Polymere auf der Eichkurve, die mit linearen Polymeren bestimmt wurde, abbilden. Daher ist es möglich, für ein Polymeres mit bekannter Viskositätszahl $[\eta]_{\text{verzweigt}}$ aus der Eichkurve $M_{\text{verzweigt}}$ zu entnehmen und für das gleiche M den Wert $[\eta]_{\text{linear}}$ zu berechnen^[43]. Aus dem Verhältnis $[\eta]_{\text{verzweigt}}/[\eta]_{\text{linear}}$ kann die durchschnittliche Anzahl der Verzweigungsstellen im Polymermolekül ab-

[35] H. Benoit, Z. Grubisic, P. Rempp u. J. Zilliox, J. Chim. physique Physico-Chim. biol. 63, 1507 (1966).

[36] A. Einstein, Ann. Physik [4] 19, 289 (1906).

[37] Z. Grubisic, P. Rempp u. H. Benoit, J. Polymer Sci., Part B 5, 753 (1967).

[38] Z. Grubisic, L. Reibel u. G. Spach, C. R. hebdo. Séances Acad. Sci., Sér. C 264, 1690 (1967).

[39] L. Wild u. R. Guliana, J. Polymer Sci., Part A-2 5, 1087 (1967).

[40] K. Boni, F. Sliemers u. P. Stickney, J. Polymer Sci., Part A-2 6, 1579 (1968).

[41] E. Drott, 4. Int. Gelpermeationschromatographie (GPC)-Seminar, Miami Beach, Florida 1967.

[42] H. Benoit, 5. Int. Gelpermeationschromatographie (GPC)-Seminar, London 1968.

[43] E. Drott u. R. Mendelson, 6. Int. Gelpermeationschromatographie (GPC)-Seminar, Seminar Proc., S. 101, Miami Beach, Florida 1968.

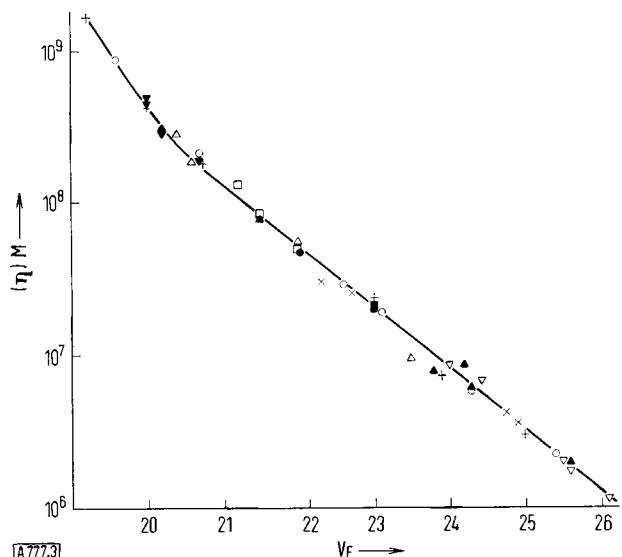


Abb. 3. Beziehung zwischen $\log [\eta] M$ und V_E nach Benoit [42]. O Polystyrol, linear; Δ Polymethylmethacrylat, linear; ▽ Polyvinylchlorid, linear; □ Polybutadien, linear; + Polystyrol, kammartig; × Polystyrol, sternförmig; ● Polystyrol/Polymethylmethacrylat, kammartiges Propfcopolymeres; ▲ Polystyrol/Polymethylmethacrylate, Propfcopolymeres; ▼ Polyphenylsiloxan; ■ Polystyrol/Polymethylmethacrylate, lineares, statistisches Copolymeres. $[\eta]$ angegeben in cm^3/g , V_E angegeben in willkürlichen Einheiten (Siphons).

geschätzt werden^[44–47]. Das Molekulargewicht einer unbekannten Probe (I) läßt sich aus einer mit Polystyrol bestimmten Eichkurve ermitteln, wenn man die Konstanten der Gl. (13) kennt:

$$[\eta] = FM^s \quad (13)$$

Nach Gleichung (12) gilt dann

$$F_I M_I^{sI+1} = F_{II} M_{II}^{sII+1} \quad (14)$$

oder

$$\lg M_I = \frac{1}{s_I + 1} \lg F_{II}/F_I + \frac{s_{II} + 1}{s_I + 1} \lg M_{II} \quad (15)$$

Die Untersuchungen von Benoit et al. zeigen, daß spezifische Wechselwirkungen zwischen gelöster Substanz und Gelmatrix bei der gelchromatographischen Trennung von Polymeren vernachlässigbar gering sind. Andere Autoren^[48–51] fanden jedoch, daß $\lg M[\eta]$ nicht immer eine normierende Darstellung gestattet.

3.3. Die Trennleistung

Bei der Gelchromatographie steht für die Trennung nur ein begrenztes Volumen zur Verfügung. Die Breite der Bande jeder Substanz bestimmt, wieviel Substan-

[44] B. H. Zimm u. W. H. Stockmayer, J. chem. Physics 17, 130 (1949).

[45] B. H. Zimm u. R. W. Kilb, J. Polymer Sci. 37, 19 (1959).

[46] R. W. Kolb, J. Polymer Sci. 38, 413 (1959).

[47] T. A. Orofino u. F. Wenger, J. chem. Physics 67, 566 (1963).

[48] G. Meyerhoff: Microsymposium on Polymer Characterisation. Prag 1968.

[49] G. Meyerhoff, Pure appl. Chem., im Druck.

[50] M. le Page, R. Beau u. A. J. de Vries, J. Polymer Sci., Part C 21, 119 (1968).

[51] W. Scholtan u. D. Kranz, Makromolekulare Chem. 110, 150 (1967).

zen in diesem Volumen getrennt untergebracht werden können. Das Ausmaß der Trennung zweier benachbarter Banden läßt sich durch das Auflösungsvermögen R [52] beschreiben:

$$R = \Delta V_E / (4\sigma) \quad (16)$$

ΔV_E = Unterschied im Elutionsvolumen; die mittlere Abweichung σ der beiden Banden wurde gleichgesetzt.

Mehrere Autoren beschäftigen sich mit dem Einfluß der Versuchsvariablen auf die Breite der Banden bei der Gelchromatographie [15, 50, 53–57]. Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß die für andere chromatographische Verfahren abgeleiteten Beziehungen [58, 59] auch bei der Gelchromatographie gültig sind.

Die Teilprozesse i in der Säule führen zu einer Wahrscheinlichkeitsverteilung der Substanzen um den Schwerpunkt der Bande, deren Varianz σ_i^2 additiv ist.

$$\sigma^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 + \dots \quad (17)$$

Die theoretische Bodenhöhe H ergibt sich zu

$$H = l/n = \sigma^2/l \quad (18)$$

l = Säulenlänge.

Die Additivität der Einzelbeträge gilt daher auch für H .

$$H = H_1 + H_2 + \dots \quad (19)$$

Es ist bekannt und ohne weiteres verständlich, daß die Partikelgröße der stationären Phase einen entscheidenden Einfluß auf die Trennleistung ausübt. Diesen Einfluß kann man eliminieren, wenn man reduzierte Größen einführt [15, 58, 59].

$$h = H/d_p; v = u d_p/D \quad (20)$$

h = reduzierte Bodenhöhe; v = reduzierte Geschwindigkeit; d_p = Partikeldurchmesser des gequollenen Gels; u = lineare Elutionsgeschwindigkeit der mobilen Phase; D = Diffusionskoeffizient der gelösten Substanz in der mobilen Phase.

Unter Verwendung reduzierter Größen lautet die van-Deemter-Gleichung

$$h = a + b/v + cv \quad (21)$$

Die drei Glieder auf der rechten Seite der Gleichung werden durch die Unregelmäßigkeit des Lösungsmittels bestimmt.

[52] H. Desty: Gas Chromatogr., Proc. 2. Sympos. Butterworth, London 1958.

[53] W. Smith u. A. Kollmansberger, J. physic. Chem. 69, 4157 (1965).

[54] F. W. Billmeyer jr., G. W. Johnson u. R. N. Kelley, J. Chromatogr. 34, 316 (1968).

[55] F. W. Billmeyer jr. u. R. N. Kelley, J. Chromatogr. 34, 322 (1968).

[56] W. Heitz u. J. Coupek, Makromolekulare Chem. 105, 280 (1967).

[57] J. Coupek u. W. Heitz, Makromolekulare Chem. 112, 286 (1968).

[58] J. J. van Deemter, F. J. Zuiderweg u. A. Klinkenberg, Chem. Engng. Sci. 5, 271 (1956).

[59] J. C. Giddings u. K. L. Mallik, Analytic. Chem. 38, 997 (1966).

mitteleinflusses, die Diffusionsverbreiterung der Substanzzone und den Austauschprozeß bedingt. Die Größe a beschreibt die Regelmäßigkeit der Packung. Für gute Packungen hat a einen Wert von 2 bis 3. Die Partikelgrößenverteilung des Gels übt einen starken Einfluß auf die Regelmäßigkeit der Packung aus. Für gute Packungen soll die Standardabweichung 5% des mittleren Partikeldurchmessers nicht übersteigen. Kleinere Partikeln lassen sich jedoch nur schwierig in so engen Grenzen separieren. Auch bei einheitlicher Partikelgröße erhält man eine statistische Kugelschüttpackung ($V_0 \approx 0.37 \cdot$ Gesamtsäulenvolumen) und keine dichteste Kugelpackung ($V_0 \approx 0.26 \cdot$ Gesamtsäulenvolumen) [60].

Die Größe b wird durch die Diffusionsverbreiterung der Zone verursacht. Der Einfluß dieses Gliedes wird um so unbedeutender, je größer die Elutionsgeschwindigkeit ist. Der Wert von b schwankt zwischen 0.8 und 1.8 [61]. Da bei üblichen gelchromatographischen Experimenten $v > 10$ (meist sogar $v > 100$) ist, kann der Effekt der longitudinalen Diffusion vernachlässigt werden.

c wird nur durch den Austauschprozeß bedingt. Dies muß sich mit Substanzen nachweisen lassen, die am Verteilungsprozeß nicht teilnehmen, da für diesen Fall $c = 0$ ist. Die reduzierte Bodenhöhe muß dann für reduzierte Geschwindigkeiten $v > 10$ konstant, d.h. unabhängig von der Elutionsgeschwindigkeit sein.

Nach Giddings [62] sind die Beiträge, die die Unregelmäßigkeit der Packung und die Unregelmäßigkeit des Zonenprofils in der mobilen Phase liefern, keine unabhängigen Größen. Ihre Varianz σ^2 ist nicht additiv, sondern gekoppelt.

$$h = B/v + C_S + \sum_i \frac{1}{1/A_i + 1/C_{mi}v} \quad (22)$$

Die Größen B , C_S und A_i entsprechen den Größen b , c bzw. a in der van-Deemter-Gleichung, C_{mi} spiegelt den Substanzaustausch in der mobilen Phase wider.

Giddings unterscheidet fünf Störeffekte ($i = 5$), von denen jedoch nur vier für die Gelchromatographie von Bedeutung sind (Abb. 4). Die theoretische Abschätzung der Größe der einzelnen Effekte ist unsicher. Die Größe der Störeffekte, die den Summenterm in Gl. (22) bestimmen, hängt stark von den experimentellen Bedingungen ab, vor allem von der Güte der Packung. Der Transkolonnen-Effekt sollte mit wachsendem Säulenquerschnitt an Bedeutung gewinnen. Es konnte jedoch experimentell gezeigt werden, daß diese Störung auch bei Kolonnendurchmessern von $d = 5$ cm ($d/d_p \approx 10^3$) vernachlässigbar klein gehalten werden kann [63, 64].

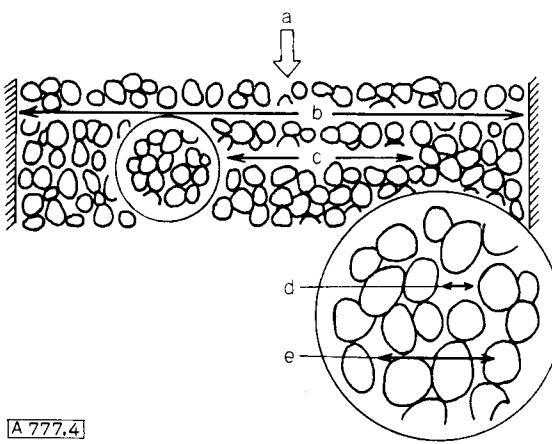
[60] S. Debas u. H. Rumpf, Chem. Engng. Sci. 21, 583 (1966).

[61] J. H. Knox u. L. MacLaren, Analytic. Chem. 36, 1477 (1964).

[62] J. C. Giddings: Dynamics of Chromatography I. Marcel Dekker, New York 1965.

[63] W. Heitz u. H. Ullner, Makromolekulare Chem. 120, 58 (1968).

[64] W. Heitz, B. Bömer u. H. Ullner, Makromolekulare Chem. 121, 102 (1969).



A 777.4

Abb. 4. Vergrößerter Ausschnitt aus einer chromatographischen Säule; Bereich verschiedenartiger Austauschprozesse (nach *Giddings* [62]).
 a = Fließrichtung, b = Transkolumnen-Effekt, c = Interkanal-Fern-
 effekt, d = Intrakanal-Effekt, e = Interkanal-Naheffekt.

Abbildung 5 zeigt die reduzierte Trennleistung (reduzierte Bodenhöhe $h = H/d_p$ in Abhängigkeit von der reduzierten Geschwindigkeit $v = ud_p/D$) zweier Polyvinylacetale mit verschiedenen Partikeldurchmessern. Auch Polystyrole geßen quantitativ den gleichen Kurvenverlauf. Die Verwendung reduzierter Größen führt zu einer normierten Darstellung der Trennleistung, die unabhängig ist von der chemischen Natur der Gels, der Testsubstanz, der Partikelgröße des Gels und der Strömungsgeschwindigkeit. Abweichungen von diesem Verhalten treten bei homogenvernetzten Gelen (vgl. Abschn. 4.1) mit einem Vernetzergehalt über etwa 5 % auf; in diesem Falle erhält man substanzabhängige Kurven, die jedoch unabhängig von der Partikelgröße des Gels sind [56, 57]. Bei Substanzen, die vom Gel ausgeschlossen werden und

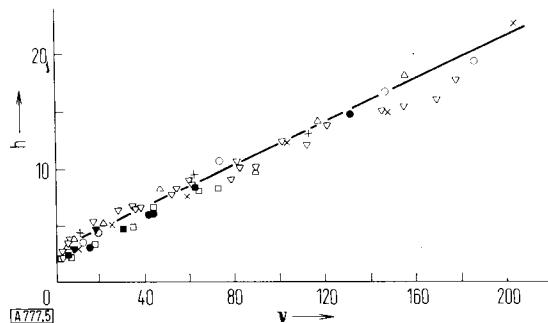
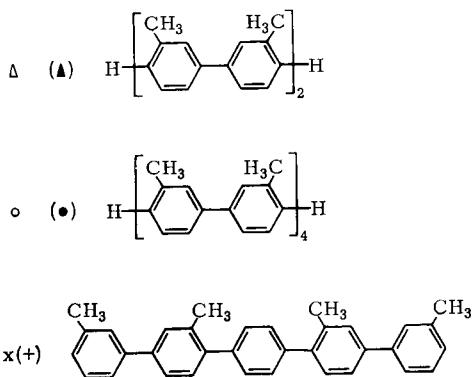


Abb. 5. Reduzierte Trennleistung des Systems Polyvinylacetatgel (vernetzt mit 5 Mol-% Butandioldivinyläther); THF; methylsubstituierte *p*-Oligophenylen [15]; $\bar{d}_p = 0.0191 \text{ cm}$ (0.0382 cm). □ (■) Benzol, ∇ (▲) *m*-Bitolyl.



die damit am Trennprozeß nicht teilnehmen, hängt die Breite der Banden in Übereinstimmung mit der Theorie nicht von der Elutionsgeschwindigkeit ab [15, 57].

Die verwendeten Gele haben stets eine Partikelgrößenverteilung. Zur Auswertung der Gleichungen (21) und (22) wird im allgemeinen das arithmetische Mittel gebildet; da bei größeren reduzierten Geschwindigkeiten annähernd $H \sim d_p^2$ gilt, ist unter der Voraussetzung, daß Gl. (19) angewendet werden darf,

$$\bar{d}_p \approx \sqrt{\sum m_i d_{pi}^2}$$

zu bilden. (m_i = Mengenanteil mit dem Partikeldurchmesser i .) Bei sehr enger Partikelgrößenverteilung liegt der Unterschied innerhalb der Fehlergrenze. Bei breiteren Verteilungen ergibt sich jedoch ein größerer Wert für \bar{d}_p ; bei Gelen mit gleicher mittlerer Partikelgröße (arithmetisches Mittel), aber unterschiedlicher Partikelgrößenverteilung hat das Gel mit breiterer Partikelgrößenverteilung eine geringere Trennleistung.

Bei der Gelchromatographie werden die Substanzen in der Reihenfolge abnehmender Molekulargewichte eluiert. Da der Diffusionskoeffizient mit sinkendem Molekulargewicht zunimmt, verringert sich bei konstanter linearer Elutionsgeschwindigkeit die reduzierte Geschwindigkeit im Verlauf der Elution; die reduzierte Bodenhöhe wird damit kleiner und die Trennleistung besser. Dies erklärt die bekannte Erscheinung, daß bei der Gelchromatographie die Banden der zuletzt eluierten Verbindungen im Vergleich zu denen der zuerst eluierten Verbindungen zu schmal sind, wenn man einen Verteilungsprozeß mit konstanter Trennstufenzahl zugrunde legt.

Bei der Trennung von Polymeren treten Störungen auf, die bei niedermolekularen Verbindungen nicht nachweisbar sind. Bei hohen Molekulargewichten ist das Elutionsvolumen linear abhängig von der Probenmenge^[65,66]. Der Effekt wird mit wachsendem Molekulargewicht größer.

3.4. Die Auswertung

Bei molekulareinheitlichen Substanzen kann aus dem Maximum der Elutionskurve und der zugehörigen Eichkurve (Abb. 2) das Molekulargewicht ermittelt werden. Die Mengen oder Mengenverhältnisse sind bei Verwendung eines Differentialrefraktometers durch Integration der Schreiberkurve zu erhalten, da die Anzeige proportional der Konzentration ist. Bei hohen Molekulargewichten kann die Abhängigkeit des Brechungsindex vom Molekulargewicht vernachlässigt werden, solange ein hinreichender Unterschied zum Brechungsindex des Lösungsmittels besteht. Bei UV-Geräten ist wegen der logarithmischen Konzentrationsabhängigkeit und der notwendigen Differenzbildung der Fehler bei der Mengenbestimmung etwas größer. Polymere erzeugen eine breite Bande, die als dichte Folge von überlagerten Gauß-

[65] K. A. Boni, F. A. Sliemers u. P. B. Stickney, J. Polymer Sci., Part A-2 6, 1567 (1968).

[66] K. Berger, Dissertation, Universität Mainz 1969.

schen Verteilungskurven aufgefaßt werden kann. Im einfachsten Fall ermittelt man aus dem Maximum der Bande und aus der Eichkurve einen Molekulargewichtsmittelwert. Dieser ist aber nur bei engen Molekulargewichtsverteilungen richtig, bei breiten liegt er zwischen \bar{M}_w und \bar{M}_n ^[67]. Für Polymere mit Schulz-Verteilung^[68] entspricht das Maximum \bar{M}_w ^[67, 69].

Durch Angabe der Uneinheitlichkeit $U = \bar{M}_w/\bar{M}_n$ ist das Polymere zusätzlich zu charakterisieren. Bly^[70, 71] konnte experimentell zeigen, daß die Breite der Bande für ein gegebenes Polymeres proportional der Uneinheitlichkeit ist, d. h.

$$U_1/b_1 = U_2/b_2 \quad (23)$$

Die Uneinheitlichkeit einer unbekannten Probe kann also aus der Uneinheitlichkeit einer bekannten Probe ermittelt werden. Gl. (23) wurde für den Bereich $1.3 < U < 3.6$ überprüft: der Fehler von U/b beträgt maximal 10 %. Die Berücksichtigung des Ordinatenabschnittes in einem Diagramm b gegen U (Abb. 6)

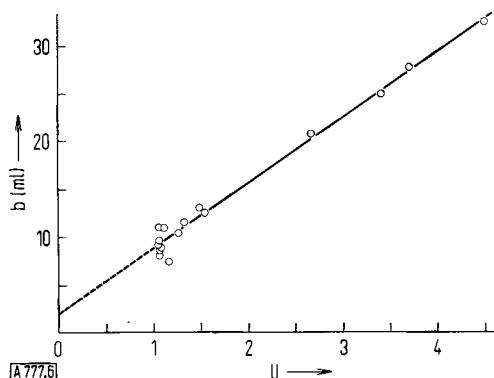


Abb. 6. Breite b einer Bande in Abhängigkeit von der Uneinheitlichkeit U eines Polymeren nach Werten von Bly^[71].

führt zu einer besseren Näherung. Bei Polymeren ist die Breite der Bande durch zwei Effekte gegeben: Die Breite der Bande eines Polymeren mit $U = 1$ (Ordinatenwert für $U = 1$) und die Molekulargewichtsverteilung. Gl. (23) ist unter folgenden Voraussetzungen anwendbar:

1. Das Polymere hat eine Normalverteilung.
2. Die chemische Zusammensetzung ist einheitlich.
3. Die Bande liegt im linearen Teil der semilogarithmischen Eichkurve.
4. Die Trennleistung der Kolonnen ist hoch.

Wenn die Polymerprobe und der Standard auf verschiedenen Eichkurven liegen, kann die Uneinheitlichkeit ebenfalls ermittelt werden^[70, 71].

Die Molekulargewichtsverteilung läßt sich aus der Schreiberkurve durch schrittweise Integration^[28, 30, 72]

[67] H. L. Berger u. A. R. Shultz, J. Polymer Sci., Part A 3, 3643 (1965).

[68] G. V. Schulz, Z. physik. Chem., Abt. B 43, 25 (1939).

[69] G. Meyerhoff, J. Polymer Sci., Part C 21, 31 (1968).

[70] D. Bly, J. Polymer Sci., Part C 21, 13 (1968).

[71] D. Bly, Analytic. Chem. 41, 477 (1969).

[72] J. C. Moore u. J. G. Hendrickson, J. Polymer Sci., Part C 8, 233 (1965).

berechnen, wobei vorausgesetzt wird, daß die Auflösung [Gl. (16)] sehr groß ist. Die endliche Breite der Banden bedingt jedoch, daß der Schreiberausschlag nicht nur durch eine Substanz mit bestimmtem Molekulargewicht, sondern auch durch die Anteile benachbarter Gaußkurven verursacht wird. Die endliche Breite der Banden wird nach Methoden von Tung^[73–75], Hess und Kratz^[76] sowie Pierce und Armonas^[77] mit einem Computerprogramm berücksichtigt^[78, 79]. Die in den korrigierten Chromatogrammen auftretenden, mathematisch bedingten Oszillationen sind zu vermeiden, wenn zunächst die Momente der korrigierten Chromatogramme ermittelt werden^[80].

4. Die stationäre Phase

4.1. Das Herstellungsprinzip

Mit kugelförmigen Teilchen lassen sich gute Packungen erzielen. Die als stationäre Phase verwendeten vernetzten Copolymeren werden meist durch Perlpolymerisation hergestellt. Dazu wird die Monomerphase in Wasser mechanisch zu Tröpfchen zerteilt und diese Suspension während der Polymerisation durch ein Schutzkolloid stabilisiert^[81]. Den Einfluß der Versuchsbedingungen auf die Partikelgröße des Perlpolymersates untersuchten Hopff et al.^[82, 83].

Polymerisiert man eine Monovinylverbindung unter Zusatz einer Divinylverbindung, so bestimmt die Menge dieses Vernetzers die Maschenweite des gebildeten vernetzten Copolymeren. Im trockenen Zustand sind diese Copolymeren nicht porös. Läßt man sie aber in einem Quellungsmittel quellen, so werden die Molekülketten solvatisiert und bilden ein lockeres, statisches Netzwerk; die Porosität ist also nur im gequollenen Zustand vorhanden (Quellungsporosität).

Der mittlere Anwendungsbereich dieser Gele ist größtenteils durch die mittlere Maschenweite gegeben, die sich aus dem Vernetzgehalt ergibt. Dies erlaubt den Schluß, daß die Gele (im statistischen Sinne) homogen-vernetzt sind. Mit sinkender Ver-

[73] L. H. Tung, J. appl. Polymer Sci. 10, 375 (1966).

[74] L. H. Tung, J. C. Moore u. G. W. Knight, J. appl. Polymer Sci. 10, 1261 (1966).

[75] L. H. Tung, J. appl. Polymer Sci. 10, 1271 (1966).

[76] M. Hess u. R. F. Kratz, J. Polymer Sci., Part A-2 4, 731 (1966).

[77] P. Pierce u. J. Armonas, Amer. chem. Soc. Polymer Preprints (2) 8, 1319 (1967).

[78] J. H. Duerksen u. A. E. Hamielec, J. Polymer Sci., Part C 21, 83 (1968).

[79] H. E. Pickett, M. R. J. Cantow u. J. F. Johnson, J. Polymer Sci., Part C 21, 67 (1968).

[80] A. Hamielec, 6. Int. Gelpermeationschromatographie (GPC)-Seminar, Seminar Proc. S. 312, Miami Beach, Florida 1968.

[81] H. Logemann in Houben-Weyl-Müller: Methoden der organischen Chemie. Thieme, Stuttgart 1961, Bd. XIV/1, S. 406.

[82] H. Hopff, H. Lüssi u. P. Gerspacher, Makromolekulare Chem. 78, 24, 37 (1964).

[83] H. Hopff, H. Lüssi u. E. Hammer, Makromolekulare Chem. 82, 184 (1965).

netzermenge wird das Ausschlußmolekulargewicht größer^[*]. Solche Gele sind jedoch nur für die Trennung von Oligomeren geeignet; mit sinkender Vernetzermenge nimmt die Quellung zu, und die mechanische Stabilität wird geringer. Ähnliche Probleme bestehen auch bei der Darstellung von Ionen austauschern, die für voluminöse Ionen zugänglich sind.

Dies führte zur Entwicklung von Polymerisationstechniken, nach denen Produkte mit heterogener Struktur und hoher mechanischer Stabilität erzeugt werden^[10], 84, 85]. Grundlage dieses Verfahrens ist die Polymerisation von Gemischen vernetzungsfähiger Monomeren in Gegenwart inerter und löslicher Komponenten, die aus dem Endprodukt entfernt werden können. Die inerten Komponenten dürfen nicht polymerisieren oder in das sich bildende Netzwerk eingebaut werden und müssen mit dem Monomeren mischbar oder darin löslich sein. Bei der Herstellung durch Perlpolymerisation ist es vorteilhaft, wenn die inerte Komponente in Wasser unlöslich oder nur begrenzt löslich ist. Diese Bedingungen werden von einer Reihe organischer Stoffe erfüllt. Meist werden organische Flüssigkeiten verwendet, die für das entstehende vernetzte Polymere Quellungsmittel oder Fällungsmittel sein können. Auch Polymere lassen sich als Inertkomponente verwenden^[84, 86].

Polymerisiert man ein Gemisch aus Monovinyl- und Divinylverbindung, so tritt bei einem bestimmten Umsatz der Gelpunkt ein, bei dem Viskosität und Molekulargewicht (\bar{M}_w) gegen unendlich streben; jede Molekülkette hat dann im Durchschnitt eine Vernetzungsstelle. Dieses vernetzte Polymere besitzt ein begrenztes Aufnahmevermögen für Lösungsmittel. Bei der Polymerisation in Gegenwart einer Menge an Inertkomponente, die dieses Aufnahmevermögen überschreitet, sollte daher eine Phasentrennung eintreten, wenn man annimmt, daß sich das System im thermodynamischen Gleichgewicht befindet.

In welcher Art diese Phasentrennung erfolgt, hängt wesentlich davon ab, wann der Gelpunkt des Systems eintritt. Wenn sich zunächst ein lockeres Netzwerk über den gesamten polymerisierenden Tropfen bildet und die Vernetzung allmählich dichter wird, kann sich dieses Netzwerk kontrahieren und die gesamte Inertkomponente ausstoßen (Synärese). Die Phasentrennung kann bereits vor dem Gelpunkt eintreten. Wie bei einer Fällungspolymerisation werden dadurch vernetzte Copolymere abgeschieden (Mikrogele), die im Verlauf der weiteren Polymerisation zu einem porösen Polymerisat zusammenwachsen. Bei der Perlpolymerisation läuft dieser Vorgang in jedem Monomer tropfen ab. Nach der Polymerisation kann man die Inertkomponente aus dem vernetzten Polymerisat z.B. durch

[*] Das Ausschlußmolekulargewicht erhält man definitionsgemäß durch Extrapolation des linearen Teils der $\lg M$ gegen VE-Abhängigkeit bis zum Wert V_0 . Es entspricht etwa dem Molekulargewicht solcher Moleküle, die gerade nicht mehr in die Poren eindringen können.

[84] J. Abrams, Ind. Engng. Chem. 48, 1469 (1956).

[85] H. Corte u. A. Mayer, DBP 1045102 (1958).

[86] J. Seidl u. J. Malinsky, Tschechoslow. Pat. 102478 (1960).

Wasserdampfdestillation entfernen. Dieses Polymerisat ist häufig auch im ungequollenen Zustand porös (permanente Porosität) und besitzt außerdem Quellungs- porosität. Wegen des heterogenen Aufbaues der Produkte bezeichnet man diese Polymerisationstechnik als heterogen-vernetzende Polymerisation. Die wesentlichen Faktoren, die die Heterogenität beeinflussen, sind der Vernetzeranteil sowie Art und Menge der Inertkomponente in der polymerisierenden Phase.

Perlpolymersate, die nach einer dieser beiden Methoden hergestellt werden, haben eine Partikelgrößenverteilung, die für gelchromatographische Zwecke zu breit ist. Bei Teilchengrößen über $50 \mu\text{m}$ erfolgt die Aufbereitung durch Naßsieben. Kleinere Teilchen werden durch Sedimentation separiert. Nach dem Stockesschen Gesetz gilt für die Absinkgeschwindigkeit v

$$v = \frac{2 \Delta \rho \cdot r^2 g_n}{9 \eta} \quad (24)$$

$\Delta \rho$ = Dichteunterschied zwischen Polymerisat und Umgebung

r = Radius der Polymerperlen

g_n = Erdbeschleunigung

η = Viskosität der Umgebung

Erzeugt man mit einer Kolben- oder Schlauchquetschpumpe einen konstanten Flüssigkeitsstrom, so nimmt die lineare Strömungsgeschwindigkeit entsprechend dem Quadrat der Behälterdurchmesser ab. Die Sedimentation wird meist in Wasser durchgeführt; bei Copolymeren mit permanenter Porosität wird die Oberflächenspannung des Wassers durch Tenside herabgesetzt. Für die meisten Trennungen werden $40-80 \mu\text{m}$ große Partikeln verwendet.

4.2. Hydrophile Gele

Die stürmische Entwicklung der Gelchromatographie ist durch die kommerzielle Herstellung vernetzter Dextrans^[86a] wesentlich gefördert worden. In Wasser gelöste Dextrans werden unter Einwirkung von Alkali mit Epichlorhydrin vernetzt. Die Netzwerkstruktur wird durch Menge und Molekulargewicht des Ausgangsdextrans sowie die Menge des Vernetzers bestimmt. Die im Handel befindlichen Typen lassen bei Proteinen Trennungen bis zu Molekulargewichten von ca. $5 \cdot 10^5$ zu.

Mit *N,N'*-Methylenbis(acrylamid) vernetztes Acrylamid ist ebenfalls in mehreren Typen im Handel^[86b]. Auch hier sind Trennungen bis zu Molekulargewichten von ca. $5 \cdot 10^5$ möglich.

Die poröse Struktur kann auch durch Vernetzung über Nebenvalenzen ausgebildet werden. Entsprechende Gele können aus Agarose erzeugt werden^[86a, 86b]; Determann beschreibt die Herstellung von Cellulosegelen durch Regenerieren von Visko^[87]. Beide Gele können mit Ausschlußmolekulargewichten über 10^6 hergestellt werden.

Mit Ausnahme des von Determann hergestellten Cellulosegels haben die hier beschriebenen hydrophilen Gele bei hohen Ausschlußmolekulargewichten große Gelbettvolumina und

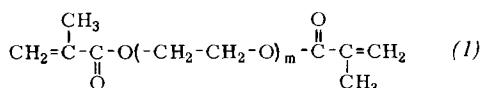
[86a] Sephadex und Sepharose der Firma Pharmacia, Uppsala (Schweden).

[86b] Biogel P und A der Firma Bio-Rad-Laboratories, 8 München 13.

[87] H. Determann, H. Rehner u. Th. Wieland, Makromolekulare Chem. 114, 263 (1968).

damit eine geringe mechanische Stabilität. Dies verhindert die Durchführung der Trennungen unter Druck.

Hydrophile Gele mit hoher mechanischer Stabilität, die nach dem Prinzip der heterogen-vernetzenden Polymerisation hergestellt wurden, gewinnt man durch Peripherpolymerisation von Polyäthylenoxid-dimethacrylaten (1) in Gegenwart von Inertkomponenten [88].



Polyäthylenoxide sind bis zu hohen Molekulargewichten in Wasser löslich; setzt man die OH-Endgruppen dieser Polydiele mit Methacrylsäurechlorid um, so erhält man vernetzungsfähige Substanzen. Durch das Molekulargewicht des Polyäthylenoxids sowie Art und Menge der Inertkomponente kann das Ausschlußmolekulargewicht in weiten Grenzen variiert werden (Tabelle 1). Vernetzte Polyäthylenoxide können in Wasser und organischen Lösungsmitteln verwendet werden; zum Vergleich sind in Tabelle 1 die in THF

bestimmten Ausschlußmolekulargewichte für Polystyrol angegeben.

Abbildung 7 zeigt die überlagerten Elutionskurven von Dextranen. Die breite Bande des Dextrans $\bar{M}_w \approx 2 \cdot 10^6$ (Kurve 4) ist auf eine breite Molekulargewichtsverteilung zurückzuführen (Zusammenfassungen über hydrophile Gele s. [12, 8, 14]).

4.3. Organophile Gele

Es ist naheliegend, die bei vernetzten Dextranen gewonnenen Erfahrungen zu nutzen und diese hydrophilen Gele durch Reaktion der OH-Gruppen in Derivate zu überführen, die in organischen Lösungsmitteln quellen. Die Herstellung und Verwendung von Acetyl-[8], Methoxy-[89] und Urethanderivaten [5] wurde beschrieben. Im Handel befindet sich ein Hydroxypropyloxyderivat [*]. Diese Umsetzungen sind jedoch nur bei Gelen mit niedrigem Ausschlußmolekulargewicht (Sephadex G 25®, Sephadex G 50®) leicht durchzuführen.

Tabelle 1. Gelchromatographische Daten von Gelen, die aus Dimethacrylaten von Polyäthylenglykolen und Polyäthylenoxiden hergestellt wurden [88]. V_{Sch} = spezifisches Schüttvolumen, V_G = spezifisches Gelbettvolumen, M_{lim} = Ausschlußmolekulargewicht.

Monomere (Gewichtsverhältnis)	Inertkomponenten (Volumenanteil in der gesamten org. Phase)	V_{Sch} (ml/g)	V_G (ml/g)		M_{lim}	
			H_2O	THF	H_2O	THF
Tetraäthylenglykoldimethacrylat	n-Butylacetat (0.66)	2.0	4.05	5.55	10^6 [a]	$5 \cdot 10^6$ [c]
Tetraäthylenglykoldimethacrylat	Isoamylalkohol (0.66)	1.65	2.3	2.6	10^4 [a]	$5 \cdot 10^4$ [c]
Tetraäthylenglykoldimethacrylat	Isoamylalkohol (0.75)	1.5	2.7	5.0	6500	$1.2 \cdot 10^3$
Tetraäthylenglykoldimethacrylat	Isoamylalkohol (0.80)	keine Quellung im Wasser				
Tetraäthylenglykoldimethacrylat	Isooctanol (0.80)	1.55	3.1	5.4	8500 [a]	$8.5 \cdot 10^5$
Tetraäthylenglykoldimethacrylat	Amylalkohol/ Di-n-Butyl- äther (3/1)	1.65	4.75	6.35	$5 \cdot 10^8$ [b]	10^9 [c]
Tetraäthylenglykoldimethacrylat	n-Butylacetat (0.66)	1.9	4.2	4.8		$5 \cdot 10^4$ [c]
Polyäthylenglykol-($\bar{M}_n = 420$)- dimethacrylat	Toluol (0.66)	1.65	3.2	3.4	4000 [a]	7000 [c]
Polyäthylenoxid-($\bar{M}_n = 1000$)- dimethacrylat/ Äthylenglykoldimethacrylat (10 : 3)	Isoamylalkohol (0.66)	1.6	5.5	5.5	1500 [a]	1200 [c]
Polyäthylenoxid-($\bar{M}_n = 1000$)- dimethacrylat/ Äthylenglykoldimethacrylat (10 : 1)						

[a] Bestimmt mit Polyäthylenoxiden.

[b] Bestimmt mit Dextranen.

[c] Bestimmt mit Polystyrolen.

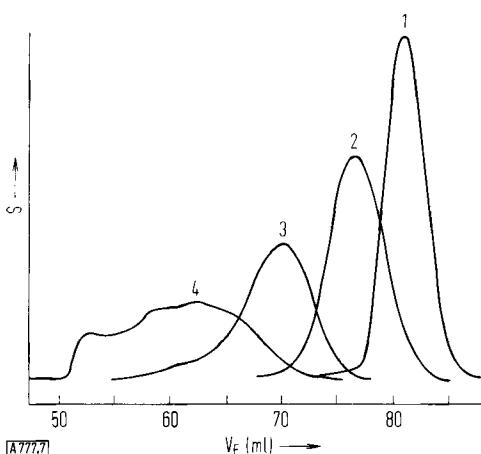


Abb. 7. Überlagerte Elutionsdiagramme von Polyäthylenoxid $\bar{M}_w = 400$ (Kurve 1), $\bar{M}_w = 10000$ (Kurve 2) und Dextran $\bar{M}_w = 243000$ (Kurve 3), $\bar{M}_w = 2 \cdot 10^6$ (Kurve 4), getrennt in Wasser an einem Polyäthylenoxidgel [88]. S = Schreiberausschlag.

Durch homogen-vernetzende Copolymerisation von Styrol mit Divinylbenzol [5, 90], von Methylmethacrylat mit Glykoldimethacrylat [5, 88, 91] und Vinylacetat mit Divinyladipat [92] erhält man Gele, die sich für die Trennung von Oligomeren eignen. Abbildung 8 zeigt die Elutionsdaten von verschiedenen stark vernetzten Polyvinylacetatgelen. Die Geraden verlaufen nahezu parallel, d.h. für einen gegebenen Unterschied im

[88] W. Heitz u. H. Winau, Makromolekulare Chem. 131, 75 (1970).

[89] E. Nyström u. J. Sjövall, Analyt. Biochem. 12, 235 (1965).

[*] Sephadex LH 20® der Firma Pharmacia.

[90] C. L. Tripton, J. W. Paulis u. M. D. Pierson, J. Chromatogr. 14, 486 (1964).

[91] H. Determann, G. Lüben u. Th. Wieland, Makromolekulare Chem. 73, 168 (1964).

[92] W. Heitz u. K. L. Platt, Makromolekulare Chem. 127, 113 (1969).

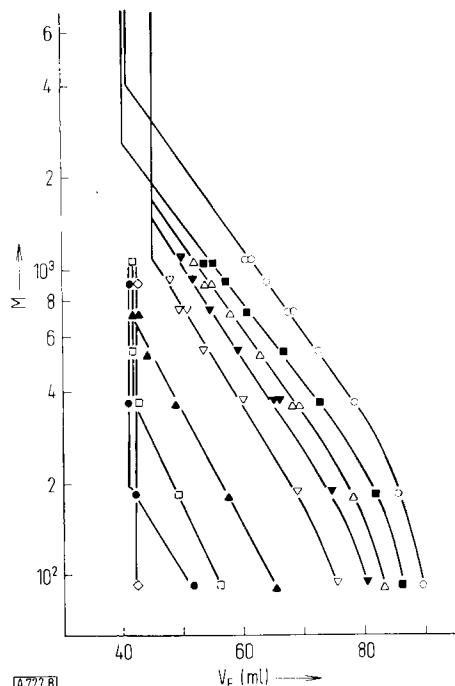


Abb. 8. Elutionsverhalten von homogen-vernetzten Copolyvinylacetaten [92] in THF. Gew.-% Divinyladipat: ○ 0.5; ■ 1; △ 2; ▼ 3; ▽ 5; ▲ 10; □ 20; ● 30; ◇ 63; Testsubstanzen: Methylsubstituierte Oligo-*p*-phenylene.

Molekulargewicht erhält man bei allen Gelen etwa den gleichen Unterschied im Elutionsvolumen. Das Auflösungsvermögen bei kleinen Molekulargewichten läßt sich demnach durch Erhöhung der Vernetzermenge zumindest nicht wesentlich steigern. Wegen der geringeren Quellung nimmt die Menge an vernetzten Copolymeren, die zum Füllen der Säulen notwendig ist, mit steigender Vernetzerkonzentration zu; das für die Trennung zur Verfügung stehende Volumen wird dadurch kleiner.

Das Ausschlußmolekulargewicht ist proportional dem spezifischen Gelbettvolumen. Diese Beziehung ist unabhängig von der chemischen Natur des Gels. Man kann daraus schließen, daß alle diese Gele ähnliche Strukturen haben. Die Kettensegmente werden bei gleicher Quellung etwa gleich weit voneinander entfernt, so daß Gele mit ähnlicher Porengrößenverteilung entstehen.

Die Grenze der Verwendbarkeit dieser Gele ist durch die mechanische Stabilität bedingt. Sehr schwach vernetzte Gele quellen stark und führen schon bei geringer Druckbelastung zum Verstopfen der Säule. Gele mit Ausschlußmolekulargewichten von etwa 4000 sind jedoch noch ohne größere experimentelle Schwierigkeiten zu handhaben.

Einen wesentlichen Fortschritt brachte die Verwendung heterogen-vernetzter Polystyrolgele durch Moore [11]; diese Gele sind ebenfalls inzwischen handelsüblich [*]. Durch die Wahl der Polymerisationsbedingungen lassen sich die Gele praktisch jedem Verwendungszweck anpassen. Mit ähnlicher Variationsbreite können auch Polymethylmethacrylatgele [88, 93, 94] und

Polyvinylacetatgele [92] hergestellt werden. Auch die Polyvinylacetatgele sind im Handel [*].

Durch Copolymerisation von Styrol mit Divinylbenzol in Gegenwart guter Lösungsmittel wie Toluol oder Diäthylbenzol entstehen Gele mit Ausschlußmolekulargewichten bis etwa $2 \cdot 10^3$ (Tabelle 2). Vermindert man

Tabelle 2. Ausschlußmolekulargewichte M_{lim} von heterogen-vernetzten Styrol-Divinylbenzol-Copolymeren (3 : 1), hergestellt in Gegenwart von 60% Inertkomponente in der organischen Phase nach Moore [1].

Inertkomponente (Anteil in %)	M_{lim}
60 Toluol	$7 \cdot 10^3$
30 Toluol; 30 Diäthylbenzol	$1.5 \cdot 10^4$
60 Diäthylbenzol	$1.2 \cdot 10^4$
45 Toluol; 15 n-Dodecan	$1 \cdot 10^5$
30 Toluol; 30 n-Dodecan	$3 \cdot 10^5$
15 Toluol; 45 n-Dodecan	$2 \cdot 10^6$
10 Toluol; 50 n-Dodecan	$2 \cdot 10^3$
40 Diäthylbenzol; 20 Isoamylalkohol	$3.6 \cdot 10^3$
20 Diäthylbenzol; 40 Isoamylalkohol	$8 \cdot 10^6$
13.3 Diäthylbenzol; 46.7 Isoamylalkohol	10^{10}
60 Isoamylalkohol	sehr hoch

die Lösungsmittelqualität durch Zusatz eines unpolaren Fällungsmittels, dann steigt das Ausschlußmolekulargewicht zunächst an und fällt dann wieder ab. Mit polaren Fällungsmitteln wird diese Erscheinung nicht beobachtet; hier werden außerordentlich hohe Ausschlußmolekulargewichte erzielt, die zum Teil wegen der Größe der korrespondierenden Molekülnäuel

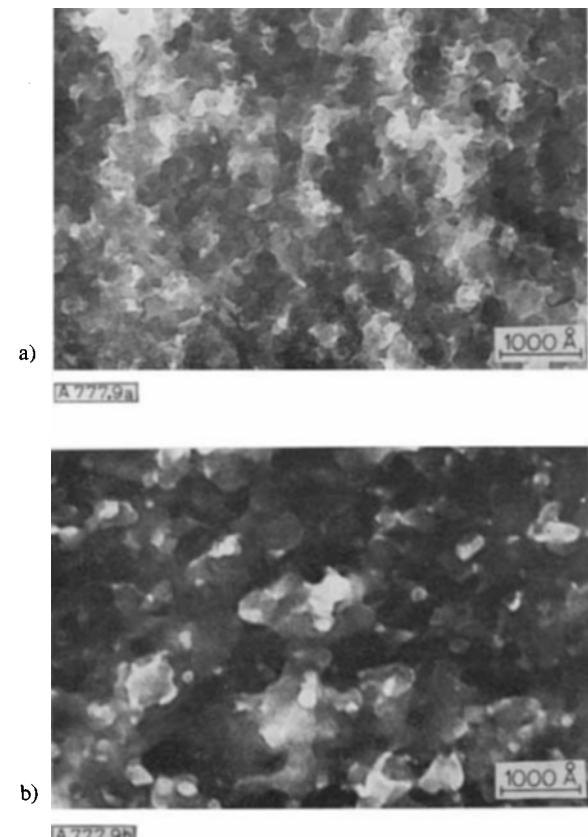


Abb. 9. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von heterogen-vernetzten Styrol-Divinylbenzol-Copolymeren, hergestellt in Gegenwart von Toluol (Abb. 9a) sowie von Heptan (Abb. 9b) nach Millar [95, 96].

[*] Styragel von Waters Ass., Framingham, Mass. (USA). [93] G. Heufer u. D. Braun, J. Polymer Sci., Part B 3, 495 (1965).

[94] H. Determann, M. Kriewen u. Th. Wieland, Makromolekulare Chem. 114, 256 (1968).

[*] Merckogel OR von Merck, Darmstadt.

nur als formale Größen betrachtet werden können. Das Außenvolumen V_0 kann in diesen Fällen mit einem vernetzten Emulsionspolymerisat bestimmt werden [92].

Die Heterogenität solcher Copolymerer lässt sich elektronenmikroskopisch sichtbar machen. Die Abbildungen 9a und 9b zeigen deutlich die unterschiedliche Struktur, die durch gute Lösungsmittel bzw. durch Fällungsmittel erzeugt wird [95, 96].

Polystyrolgele mit einem Vernetzgehalt von 55% haben noch einen geringen Anteil an Quellungsporosität. Die innere Oberfläche solcher Gele liegt zum Teil über $500 \text{ m}^2/\text{g}$ [97].

Bei Vinylacetatgelen führt die Technik der heterogen-vernetzenden Polymerisation ebenfalls zu Gelen mit hohen Ausschlußmolekulargewichten. Die Heterogenität solcher Netzwerke ist auch bei lichtmikroskopischer Betrachtung sichtbar (Abb. 10). Mit wachsender Heterogenität werden die vernetzten Copolymeren zunächst opak, behalten aber noch einen gewissen Oberflächenglanz. Stark heterogen-vernetzte Copolymeren haben schließlich ein kreideartiges Aussehen.

Bei Vinylacetatgelen tritt mit guten Lösungsmitteln wie Butylacetat als Inertkomponente auch mit 40% Divinyladipat als Vernetzer keine permanente Porosität auf. Die scheinbare Dichte ρ_0 (= Dichte der Polymermatrix und der in den Poren

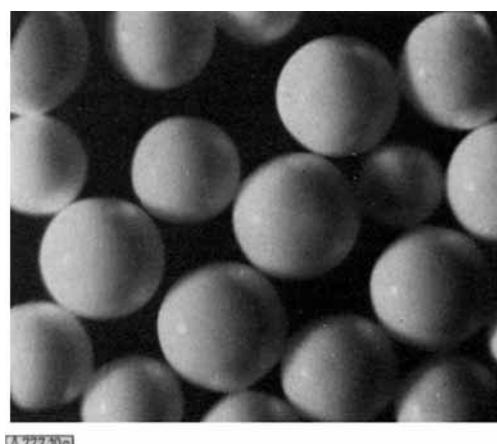
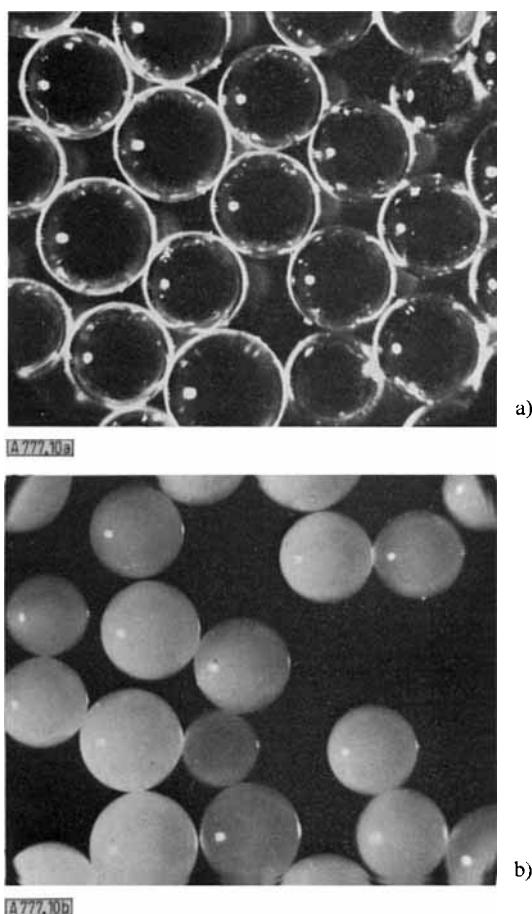


Abb. 10. Lichtmikroskopische Aufnahmen von Polyvinylacetatgelen. Homogen-vernetzt (Abb. 10a), mit 20 Vol.-% n-Octan heterogen-vernetzt (Abb. 10b), mit 30 Vol.-% n-Octan heterogen-vernetzt (Abb. 10c). Vergrößerung 175-fach.

enthalteten Luft) wird durch Zusatz von Butylacetat nicht geändert, d.h., daß im trockenen Zustand keine Poren vorhanden sind. Setzt man dagegen n-Octan zu, so fällt innerhalb eines relativ engen Bereiches die scheinbare Dichte stark ab. Aus der Tatsache, daß beim Zusatz von Butylacetat kein Unterschied in der scheinbaren Dichte auftritt, folgt nicht, daß kein heterogener Aufbau des Netzwerkes vorliegt. Zwischen 40 und 50 Vol.-% zugesetzten Butylacetats tritt ein kräftiger Sprung im Ausschlußmolekulargewicht auf; diese Gele sind also offensichtlich heterogen. Aber weder lichtmikroskopisch noch durch die scheinbare Dichte ist diese Heterogenität zu erkennen.

Die permanente Porosität von vernetzten Copolymeren bedeutet nicht, daß auch das Ausschlußmolekulargewicht groß ist (Abb. 11). Obwohl die größte Dichteänderung zwischen 30 und 40 Vol.-% zugesetzten n-Octans stattfindet, nimmt das Ausschlußmolekulargewicht wieder ab. Diese Gele, die rechts vom Maximum der Abbildung 11 liegen, zeigen alle ein ähnliches Verhalten. Sie sind außerordentlich spröde und können leicht zu einem Pulver zerrieben werden. Einen gewissen Einblick in ihren Aufbau gibt ihr gelchromatographisches Verhalten (Abb. 12). Aus dem Elutionsvolumen der niedermolekularen Verbindung würde man ein Ausschlußmolekulargewicht von 10^4 extrapolieren, aber ab einem Molekulargewicht von etwa



[95] J. R. Millar, D. G. Smith, W. E. Marr u. T. R. E. Kressman, J. chem. Soc. (London) 1963, 218.

[96] J. R. Millar, D. G. Smith u. T. R. E. Kressman, J. chem. Soc. (London) 1965, 304.

[97] W. Heitz, Angew. makromolekulare Chem. 10, 115 (1970).

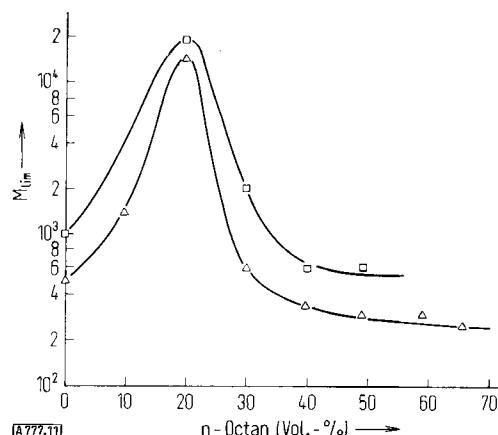


Abb. 11. Ausschlußmolekulargewichte M_{lim} von heterogen-vernetzten Copolymeren aus Vinylacetat und Divinyladipat in Abhängigkeit von der n-Octankonzentration (bez. auf die gesamte organische Phase); Vernetzungskonzentration (bez. auf die Monomerlösung): □ 10 Gew.-%, △ 20 Gew.-%.

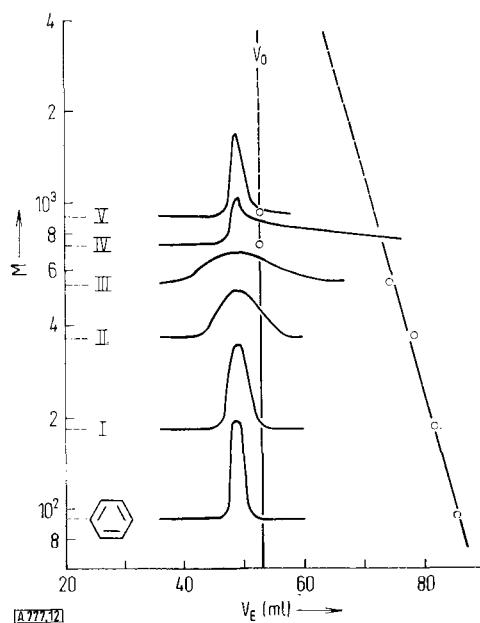


Abb. 12. Elutionsverhalten eines heterogen-vernetzten Copolyvinylacetats, hergestellt mit 40 Vol.-% n-Octan (bez. auf die gesamte organische Phase) und 10 Gew.-% Divinyladipat (bez. auf die Monomeremischung). In der Mitte ist die Form der Banden wiedergegeben.

800 erscheinen alle Verbindungen bei V_0 . Besonders aufschlußreich ist die Form der Elutionskurven. Nur Verbindungen mit sehr kleinen und sehr großen Molekülen ergeben symmetrische Banden; alle dazwischenliegenden Verbindungen zeigen mit steigendem Molekulargewicht zunächst breitere und dann unsymmetrische Banden. Dieses Verhalten ist zu erwarten, wenn die Gleichgewichtseinstellung stark gestört ist [98, 99].

Als Erklärung für diese Eigenschaften kann man annehmen, daß die Gelpartikel eine stark vernetzte Oberfläche haben. Diese engporige Haut kommt zustande, wenn die bei der Polymerisation entstehenden Mikrogelteilchen eine größere Affinität zu Wasser haben als die Inertkomponente und sich deshalb an der Phasengrenze anreichern. Mit polaren Inertkomponenten werden diese Erscheinungen nicht beobachtet.

5. Die Optimierung des Verfahrens

Chromatographische Verfahren können im Hinblick auf die Auflösung oder die Analysenzeiten optimiert werden.

Das Auflösungsvermögen R [Gl. (16)] kann über die Unterschiede im Elutionsvolumen und die Bandenbreite der Substanzen beeinflußt werden. Für den linearen Teil der Abhängigkeit von $\log M$ von V_E gilt nach Gl. (9)

$$\frac{d V_E}{d M} = -\frac{1}{BM} \quad (25)$$

Zusammen mit Gl. (16) erhalten wir

$$\Delta M/M = -R 4\sigma B \quad (26)$$

[98] H. Vink, J. Chromatogr. 18, 25 (1965).

[99] T. C. Laurent u. E. P. Laurent, J. Chromatogr. 16, 89 (1964).

Wenn eine Trennung einer polymerhomologen Reihe in vollständig aufgelöste Banden ($R = 1$) gefordert wird, ist die Grenze gegeben durch

$$P = 1/(4 \sigma B)$$

P = Polymerisationsgrad

Die gefundene Bandenbreite in einer polymerhomologen Reihe ist näherungsweise konstant. Etwa bis zum Polymerisationsgrad acht sollte mit üblichen experimentellen Anordnungen eine vollständige Trennung möglich sein. Aber auch bei $R = 1/2$ ist eine quantitative Bestimmung noch gut möglich, und bei geeigneter Wahl der Fraktion sind die Oligomeren noch rein zu isolieren. Für Oligomerentrennungen sollte das Ausschlußmolekulargewicht etwa 2000 betragen.

Polymere haben kleine Diffusionskoeffizienten; die reduzierten Geschwindigkeiten sind daher hoch, so daß näherungsweise gilt

$$H = d_p^2 u$$

Bei Verdoppelung der linearen Elutionsgeschwindigkeit kann eine vorgegebene Trennzeit nur nach Verdoppelung der Säulenlänge erhalten werden, d.h. nur die Gesamtanalysenzeiten und nicht die Anzahl der Säulen ist für die Trennung von Polymeren wesentlich. Hier ist eine Optimierung im Hinblick auf die Analysenzeiten durch Verringerung des Partikeldurchmessers des Gels möglich. Wenn die Partikelgröße um den Faktor zwei reduziert wird, kann bei gleicher linearer Elutionsgeschwindigkeit die Säulenlänge 1 um den Faktor vier reduziert werden, wenn die gleiche Trennung erzielt werden soll. Da für den Druckabfall entlang der Säule gilt

$$\Delta p \sim 1/d_p^2$$

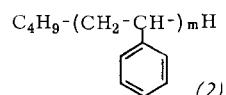
ist der Arbeitsdruck in beiden Fällen gleich.

6. Trennbeispiele

6.1. Oligomere

Die Trennung von Oligomeren [63, 64] hat wissenschaftliche und technische Bedeutung. Molekulareinheitliche Oligomere sind für manche Untersuchungen ideale Modellsubstanzen. Bei technischen Polymeren ist die Kenntnis des Oligomerengehaltes wichtig; einige technische Produkte (Epoxidharz, Tenside) bestehen praktisch ausschließlich aus Oligomeren.

Abbildung 13 zeigt die Trennung eines Polystyrols mit $M_n = 583$ (dampfdruckosmometrisch). Die Polymerisation wurde mit Butyllithium gestartet; die Oligomeren haben Struktur (2). Die angegebene Zuordnung der Banden ist durch präparative Isolierung und Molekulargewichtsbestimmung der Oligomeren sowie durch Zumischen von Hexylbenzol ($n = 1$) gesichert. Aus den Flächen der Banden erhält man $M_n = 580$,



wenn man die Anzeigeempfindlichkeit für alle Oligomeren gleichsetzt. Bei einem analog hergestellten Polystyrol mit $\bar{M}_n = 1050$ wird der höhermolekulare Anteil im Chromatogramm nicht aufgelöst, obwohl er deutlich unter der Ausschlußgrenze des Gels liegt.

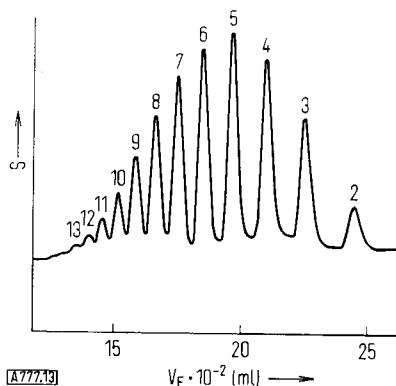


Abb. 13. Gelchromatographische Trennung von Oligostyrolen $C_6H_5(CH_2CHC_6H_5)_nH$ [64]. Die Zahlen an den Banden entsprechen dem Polymerisationsgrad n . Säule: 5×200 cm, Elutionsmittel: THF, Polystyrolgel (2% Divinylbenzol), $d_p = 74 \mu\text{m}$, $\bar{M}_n = 583$. S = Schreiberausschlag.

Die Trennung von technischen Polyäthylenoxiden ist ein weiteres interessantes Beispiel. Da molekulareinheitliche Oligoäthylenoxide bis zum Polymerisationsgrad 45 zugänglich sind^[100], ist eine eindeutige Identifizierung der Banden möglich. Technische Polyäthylenoxide werden im Molekulargewichtsbereich von 300 und 400 in die Oligomeren zerlegt (Abb. 14a). Die unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Anzeigeempfindlichkeit für die einzelnen Oligomeren erhaltenen Molekulargewichtsverteilung ist enger als sie nach Flory^[101] durch eine Poisson-Verteilung zu berechnen ist. Dies ist in Übereinstimmung mit den gaschromatographisch erhaltenen Befunden von Törnquist^[102] und den durch Geigenstromverteilung ermittelten Ergebnissen^[103]. Offensichtlich sind die Voraussetzungen für die Anwendung der Floryschen Gleichungen — gleiche Reaktivität aller Endgruppen —

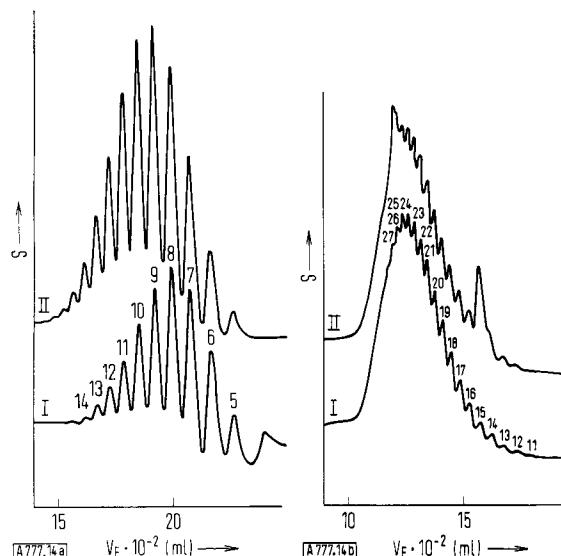


Abb. 14. Gelchromatographische Trennung von Oligoäthylenoxiden; experimentelle Angaben s. Abb. 13. Abb. 14a: $\bar{M}_n \approx 300$ (Kurve I); $\bar{M}_n = 430$ (Kurve II); Abb. 14b: $\bar{M}_n \approx 1000$ (Kurve I); $\bar{M}_n \approx 1000$, zugemischt: Polymerisationsgrade 15 und 27 (Kurve II).

- [100] B. Bömer, Dissertation, Universität Mainz 1968.
- [101] P. J. Flory, J. Amer. chem. Soc. 62, 1561 (1940).
- [102] J. Törnquist, Acta chem. scand. 21, 2095 (1967).
- [103] K. E. Almin, Acta chem. scand. 13, 1293 (1959).

in diesem Molekulargewichtsbereich bei Polyäthylenoxid nicht gegeben. Eine größere Reaktivität der niedermolekularen Glieder der polymerhomologen Reihe würde die gefundene Molekulargewichtsverteilung erklären.

Der nicht aufgelöste Untergrund wächst mit zunehmendem Molekulargewicht (Abb. 14b). Durch Zumischen von molekulareinheitlichen Polyäthylenoxiden lassen sich die Banden, die diesen Oligomeren zuzuordnen sind, entsprechend vergrößern. Polyäthylenoxide mit $\bar{M}_n \approx 1000$ werden auf der höhermolekularen Seite nicht mehr in einzelne Banden getrennt.

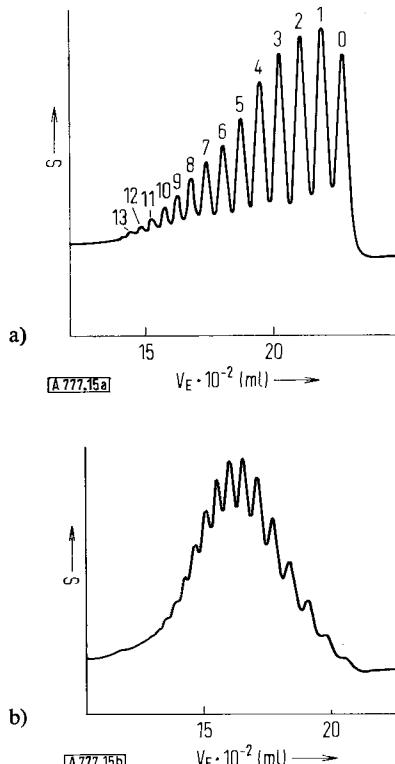


Abb. 15. Gelchromatographische Trennung von Tensiden; experimentelle Angaben s. Abb. 13. Dodecyl-polyglykoläther $C_{12}H_{25}O(CH_2CH_2O)_mH$ (Abb. 15a), Alkylphenol-polyglykoläther (Abb. 15b).

Die gelchromatographische Trennung von Tensiden erlaubt Rückschlüsse auf den molekularen Aufbau der Produkte. Abbildung 15a zeigt die Trennung eines technischen Fettalkoholpolyglykoläthers, der durch Anlagerung von Äthylenoxid an einen höheren Alkohol hergestellt wurde. Dies ist deutlich im Chromatogramm durch das scharfe Abbrechen der Kurve zu erkennen. Durch Chromatographieren mehrerer höherer Alkohole lässt sich zeigen, daß diese letzte Bande das gleiche Elutionsvolumen wie ein Dodecylalkohol hat. Abbildung 15b zeigt die Trennung eines technischen Alkylphenol-polyglykoläthers. Im Mittel sind etwa zehn Äthylenoxidreste an das Alkylphenol gebunden. Aus der vergleichsweise schlechten Auflösung kann man schließen, daß das Ausgangsphenol nicht einheitlich war.

Technische Polyepoxide besitzen häufig ein niedriges Molekulargewicht und lassen sich in Oligomere auftrennen. Abbildung 16 zeigt das Chromatogramm eines Polyepoxids aus Bisphenol A und Epichlorhydrin^[104]. Aus den abwechselnden starken und schwachen Banden im Chromatogramm kann man schließen, daß sich zwei Reihen von Oligomeren bilden. Die Hauptserie entspricht den Verbindungen mit zwei Epoxid-Endgruppen.

Die angegebenen Beispiele zeigen, daß es nicht möglich ist, z. B. die Verbindung mit dem Polymerisationsgrad 50 aus einer kontinuierlichen polymerhomologen

- [104] D. Braun, H. Cherdron u. W. Kern: Praktikum der makromolekularen organischen Chemie. Hüthig, Heidelberg 1966.

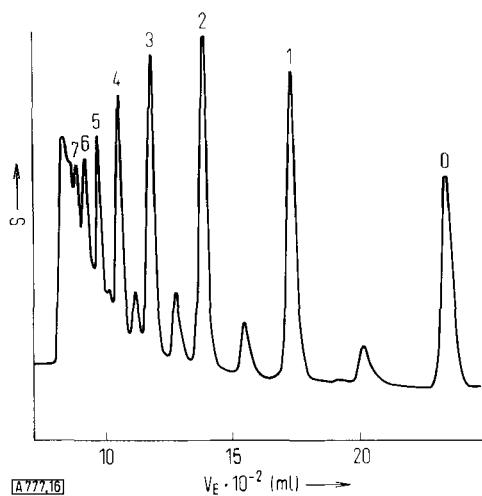
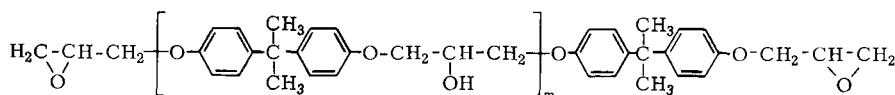
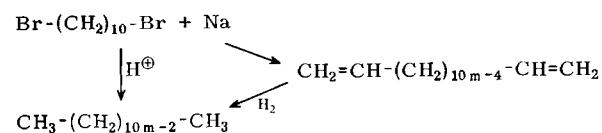


Abb. 16. Gelchromatographische Trennung eines Polyepoxides aus Bisphenol A und Epichlorhydrin; experimentelle Angaben s. Abb. 13. Die Zahlen an den Bändern entsprechen dem Wert m in der polymerhomologen Reihe



Reihe auf gelchromatographischem Wege zu isolieren. Solche molekulareinheitlichen Polymeren sollten aber durch die Trennung einer diskontinuierlichen polymerhomologen Reihe zugänglich werden, d.h. einer Reihe, bei der nur bestimmte Vielfache des Polymerisationsgrades vorkommen. Es muß durch die Synthese ge-

währleistet werden, daß eine solche Molekulargewichtsverteilung vorliegt. Das erste Beispiel dafür stammt von Carothers [105]. Durch Kondensation von



1,10-Dibromdecan erhielt er ein Paraffingemisch, dessen C-Atomzahl nur Vielfache von zehn betragen kann. Durch eine Nebenreaktion entstehen Produkte mit endständigen Doppelbindungen, die durch katalytische Hydrierung in die gleichen Paraffine überführt werden [106]. Diese Paraffine lassen sich bis $\text{C}_{90}\text{H}_{182}$ trennen. Geht man von einem Paraffingemisch aus, das aus 1,20-Dijodeicosan hergestellt ist, so sind die Paraffine bis $\text{C}_{120}\text{H}_{242}$ im Chromatogramm zu erkennen [107].

Triäthylenglykol läßt sich durch eine Williamsonsche Äthersynthese in ein Polymäthylenoxidgemisch überführen, das nur Vielfache des Polymerisationsgrades drei enthält.

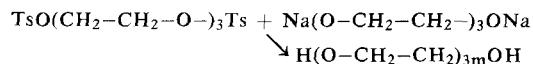


Tabelle 3. Arbeitsbedingungen bei der Trennung von Polymeren durch Gelchromatographie.

Polymeres	Molekulargewichtsbereich $\cdot 10^3$	Lösungsmittel	Stationäre Phase [a]	Temp. (°C)	Lit.
Polystyrol	13–3500	Toluol	PS	90	[1]
	82–3500	<i>o</i> -Dichlorbenzol	PS	25	[28]
	119–267	1,2,4-Trichlorbenzol	PS	130	[24]
	0.9–540	THF	PS	23	[29, 37, 69, 108]
	0.6–1800	THF	PVA	23	[92]
	0.6–1800	THF	PMMA	23	[88]
	0.6–1800	THF	SiO_2	25	[50, 109]
Polymethylmethacrylat	2–12000	THF	PS	23	[29, 30, 37, 110]
	0.1–10000	1,2,4-Trichlorbenzol, <i>o</i> -Dichlorbenzol	PS	130, 135	[27, 32, 111–113]
Polyäthylen					
Polypropylen	230–520	1,2,4-Trichlorbenzol	PS	130	[114]
Polyisobuten	0.1–1000	1,2,4-Trichlorbenzol	PS	35–150	[33]
Poly-1-butene	100–1500	1,2,4-Trichlorbenzol	PS	135	[115]
Polybutadien	1–2000	THF	PS	—	[27, 28, 37]
Polyisopren	120–170	CHCl_3	PS	—	[116]
Polyvinylchlorid	1–2000	THF	PS	25	[27, 37, 117]
	6–250	THF	SiO_2	25	[50, 109]
Cellulosetrinitrat	50–4200	THF	PS	25	[34, 118, 119]
Polyäthylenoxide	30–200	THF	PS	—	[120]
Polypropylenoxide	0.1–6	THF, Toluol	PS	25	[51]
Epoxidharze	0.2–20	THF	PS	—	[64, 121, 122]
Phenol-Formaldehyd-Kondensat	—	THF	PS	25	[123]
aliphat. Polyester	5–20	THF	PS	37	[124]
Polyäthylenglykoltetraphthalat	0.2–30	<i>m</i> -Kresol	PS	125	[125]
Polysulfon	40	THF, DMF	PS	—	[126]
Polydimethylsiloxane	0.8–145	Toluol	PS	20	[127, 128]
Dextrane	11–2000	H_2O	SiO_2	25	[50, 109]
	11–2000	H_2O	PÄO	25	[88]
Polyphosphat	—	H_2O	$\text{H}_2\text{O}-\text{PS}$	25	[129]
Nylon 6	9–27	<i>m</i> -Kresol	PS	110	[130]
Nylon 66	—	Trifluoräthanol	PS	43	[131]

[a] PS = Polystyrolgel, PVA = Polyvinylacetatgel, PMMA = Polymethylmethacrylatgel. SiO_2 = Sphärosil von Pechiney-Saint-Gobain. $\text{H}_2\text{O}-\text{PS}$ = modifiziertes, wassertrügliches Polystyrolgel, PÄO = Polymäthylenoxidgel.

[105] W. H. Carothers, J. W. Hill, J. E. Kirby u. R. A. Jacobson, J. Amer. chem. Soc. 52, 5279 (1930).

[106] T. Wirth, Dissertation, Universität Mainz 1968.

[107] R. Peters, Diplomarbeit, Universität Mainz 1969.

Aus diesem Gemisch kann das Nona-äthylenglykol durch Molekulardestillation abgetrennt werden. Eine erneute Äthersynthese führt zu einem Gemisch, das nur Vielfache des Polymerisationsgrades neun enthält^[100] und durch präparative Gelchromatographie die Isolierung bis $m = 45$ erlaubt.

- [108] H. W. Osterhoudt u. L. N. Ray, J. Polymer Sci., Part C 21, 5 (1968).
- [109] R. Beau, M. Le Page u. A. J. DeVries, Appl. Polymer Sympos. 8, 137 (1969).
- [110] W. B. Smith, J. A. May u. C. W. Kim, J. Polymer Sci., Part A-2 4, 365 (1966).
- [111] N. Nakajima, J. Polymer Sci., Part C 21, 153 (1968).
- [112] R. Salovey u. M. Y. Hellman, J. Polymer Sci., Part A-2 5, 333 (1967).
- [113] L. Wild u. R. Giuliana, J. Polymer Sci., Part A-2 5, 1087 (1967).
- [114] A. Auano u. P. Mercier, J. Polymer Sci., Part C 21, 309 (1968).
- [115] W. Ring u. W. Holtrup, Makromolekulare Chem. 103, 83, (1967).
- [116] J. V. Dawkins, R. Denyer u. J. W. Maddock, Polymer 10, 154 (1969).
- [117] C. L. Rohn, J. Polymer Sci., Part A-2 5, 547 (1967).
- [118] L. Segal, J. Polymer Sci., Part C 21, 267 (1968).
- [119] T. Muller u. W. J. Alexander, J. Polymer Sci., Part C 21, 283 (1968).
- [120] G. Delmas, J. appl. Polymer Sci. 12, 839 (1968).
- [121] B. H. Miles, Amer. chem. Soc. Div. Org. Coatings and Plast. Chem. 24/2, 273 (1965).
- [122] F. Larsen, 6. Int. Gelpermeationschromatographie (GPC)-Seminar, Seminar Proc., S. 111, Miami Beach, Florida 1968.
- [123] E. J. Quinn, H. W. Osterhoudt, J. S. Heckles u. D. C. Ziegler, Analyt. Chem. 40, 547 (1968).
- [124] F. Billmeyer u. J. Katz, Macromolecules 2, 105 (1969).

6.2. Polymere

Die gelchromatographische Trennung von Polymeren gelingt, wenn ein geeignetes Lösungsmittel für das Polymere vorhanden ist, in welchem zugleich die stationäre Phase ausreichend quillt. Bei Gelen mit permanenter Porosität sind auch in Fällungsmitteln noch Poren vorhanden; Störungen durch Adsorption werden dann häufiger beobachtet. In Tabelle 3 sind Arbeitsbedingungen für einige Polymere zusammengestellt.

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat die zitierten eigenen Untersuchungen dankenswerterweise finanziell unterstützt. Meinen Mitarbeitern, insbesondere den Herren Dr. Bömer, Dr. Coupek, Dr. Platt, Dr. Ullner, Dr. Winau und Dr. Wirth, danke ich für die gute Zusammenarbeit. Herrn Professor Dr. Kern danke ich für die Förderung der Arbeit.

Eingegangen am 21. Oktober 1969 [A 777]

- [125] J. R. Overton, J. Rash u. L. D. Moore, 6. Int. GPC-Seminar, Seminar Proc., S. 422, Miami Beach, Florida 1968.
- [126] R. M. Scream u. R. W. Seemann, Appl. Polymer Sympos. 8, 81 (1969).
- [127] T. C. Kendrick, J. Polymer Sci., Part A-2 7, 297 (1969).
- [128] M. T. Shaw u. F. Rodriguez, J. appl. Polymer Sci. 11, 991 (1967).
- [129] K. J. Bombaugh, W. A. Dark u. R. N. King, J. Polymer Sci., Part C 21, 131 (1968).
- [130] L. A. Prince u. H. E. Stapelfeldt, 6. Int. Gelpermeationschromatographie (GPC)-Seminar, Seminar Proc., S. 78, Miami Beach, Florida 1968.
- [131] W. Dark, R. Levangie u. K. J. Bombaugh, 6. Int. Gelpermeationschromatographie (GPC)-Seminar, Seminar Proc. S. 414, Miami Beach, Florida 1968.

Regulation der Glutamin-Synthetase durch enzymatisch katalysierte Strukturmodifikation^[**]

Von Bennett M. Shapiro^[*]

Der Stoffwechsel des Glutamins in Escherichia coli wird sehr sinnvoll reguliert. Wesentlich für diesen Vorgang ist eine Modifikation der Glutamin-Synthetase durch kovalente Verknüpfung mit einem Adenylylrest und dessen Abspaltung. Adenylylierung und Desadenylylierung der Glutamin-Synthetase werden durch verschiedene Enzyme katalysiert, die einer reziproken Kontrolle durch die Stickstoffversorgung der Zelle unterliegen. Durch die Strukturänderungen der Glutamin-Synthetase werden die katalytischen Eigenschaften des Enzyms in hohem Maße den wechselnden Bedürfnissen der Zelle angepaßt, so daß im Stickstoff-Stoffwechsel die Homöostase aufrechterhalten bleibt.

1. Einleitung

Glutamin dient in Mikroorganismen als Stickstoffquelle für die Synthese zahlreicher Stoffwechselprodukte und nimmt damit eine Schlüsselstellung im Zell-

stoffwechsel ein. Die Amidgruppe des Glutamins ist die bevorzugte Stickstoffquelle bei der Biosynthese von Tryptophan (Trp), Histidin (His), Cytidin-5'-triphosphat (CTP), Adenosin-5'-monophosphat (AMP), Glucosamin-6-phosphat (GA-6-P) und Carbamylphosphat (CP) (Abb. 1). Die α -Aminogruppe des Glutamins kann für die Synthese anderer Aminosäuren durch

[*] Dr. B. M. Shapiro
Laboratory of Biochemistry, National Heart Institute,
National Institutes of Health,
Bethesda, Maryland 20014 (USA)

[**] Nach einem Vortrag auf der Wintertagung der Gesellschaft für Biologische Chemie, Freiburg, 7.-9. Januar 1969.