

Anlage III:**Entwicklung neuer Methoden aus der Verbindung von Chemie und Technik****Inhaltsverzeichnis**

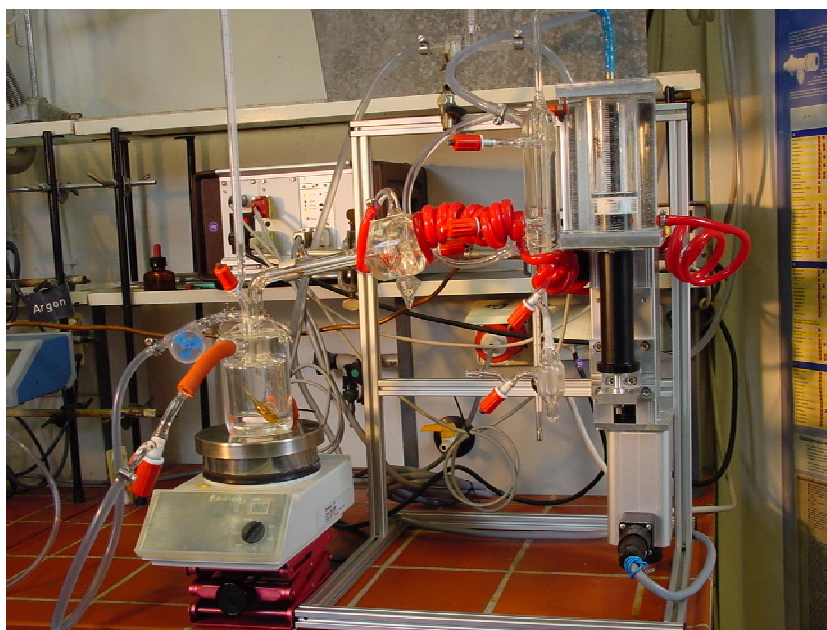
Projektbereich A: Nachhaltige katalytische Reaktionen	2
Apparatur zur automatischen Erfassung von Gasverbräuchen bzw. Gasentwicklungen unter Normaldruck (A3 Heller).....	2
Anpassung an unendliche Gasverbräuche bzw. Gasentwicklungen (A3 Heller)	4
NMR-spektroskopische Verfolgung von gasverbrauchenden Reaktionen unter katalytischen Bedingungen (operando) (A3 Heller)	5
UV/Vis-Spektroskopie unter anaeroben operando Bedingungen (A3 Heller)	6
UV/Vis-Spektroskopie unter anaeroben operando Bedingungen: sehr schnelle Reaktionen Diodenarray-stopped flow Technik (A3 Heller).....	8
Projektbereich B: Alternative Reaktionsmedien	9
Prozess zur Herstellung von enantiomerenreiner Milchsäure im „grünen“ Lösungsmittel Propylencarbonat (PC) (B1 Börner)	9
Neue Methoden für Dampfdruckmessungen (B2 Verevkin).....	10
Neue Methoden für die Verbrennungskalorimetrie (B2 Verevkin).....	13
Entwicklung der Ab-initio und Gruppen-Beitrags-Methoden für die Berechnung thermodynamischen Eigenschaften der „Green-Solvents“ (B2 Verevkin).....	15
Neue thermodynamische Methoden für Untersuchungen der Phasen-Gleichgewichte in Mischungen mit Green Solvents. (B2 Verevkin)	17
Enzymkatalysierte Polykondensation in wasserhaltigen binären Reaktionssystemen (B3 Kragl).....	18
Projektbereich C: Neue Methoden in der Analytik und Automation.....	20
Autoklav für simultane ATR/UV/vis/Raman-Untersuchungen von Mehrphasensystemen (C4 Brückner).....	20
Simultankopplungen verschiedener Röntgenmethoden mit Methoden der optischen Spektroskopie bei BESSY (C4 Brückner)	21
Simultane operando-EPR/UV/vis/Raman-Spektroskopie zur Verfolgung heterogenkatalytischer Gasphasen-Reaktionen unter Normaldruck (C4 Brückner)	22
Ein Multiparallelreaktionssystem für katalytische Screeninguntersuchungen (C2 Stoll / C1 Thurow).....	23
Algorithmierung und automatisierte Datenauswertung für die hochauflösende und ultrahochauflösende Massenspektrometrie (C1 Thurow / C2 Stoll)	25
Automatische Volumenbestimmung für Nanodosiersysteme auf Basis der Piezotechnologie (C2 Stoll / C1 Thurow).....	27

Projektbereich A: Nachhaltige katalytische Reaktionen

Apparatur zur automatischen Erfassung von Gasverbräuchen bzw. Gasentwicklungen unter Normaldruck (Heller)

Für z. B. Hydrierungen unter Normaldruck und isobaren Bedingungen verwenden wir eine automatisch registrierende Gasmessapparatur, die in der Abbildung dargestellt ist. ^[1] Das Grundprinzip der Realisierung isobarer Verhältnisse der gezeigten Hydrierapparatur besteht darin, das Volumen des abgeschlossenen Reaktionsraumes mittels einer (nicht kommerziellen) gasdichten Spritze zu ändern und so ständig den Luftdruck als Referenz in der Apparatur zu gewährleisten. Dazu erfasst ein empfindlicher Drucksensor den durch Wasserstoffverbrauch verursachten Druckabfall im abgeschlossenen Reaktionssystem. Mittels einer prozessorgesteuerten Schrittmotorachse wird der Kolben der Spritze in dieselbe geschoben, bis der Ausgangsdruck erreicht ist. Die Kolbenposition wird als Funktion der Zeit erfasst und letztlich als Hydrierkurve visualisiert. Dieselbe Anordnung erlaubt auch die automatische Registrierung von Gasentwicklungen.

Die Steuerung und Datenerfassung erfolgt computergestützt. In einem dazugehörigen Auswertemodul sind neben der Berücksichtigung von Realgasverhalten (Virialgleichung) Linearisierungen und Ausgleichsrechnungen für verschiedene kinetische Modelle möglich.



Mit der gezeigten Apparatur lassen sich Gasverbräuche bis 10 ml/min ohne Transportphänomene als Funktion der Zeit erfassen. Durch eine besondere Anordnung lassen sich auch Reaktionen unter reduziertem Druck registrieren, Details finden sich in ^[1b].

^[1] a) K. Madeja, W.-H. Böhmer, D. Heller, *Wiss. Zeitschr. E.-M.-A.-Universität Greifswald*, **1986**, 35, 29 - 34. b) H.-J. Drexler, A. Preetz, T. Schmidt, D. Heller, „*Kinetics of homogeneous hydrogenations: measurement and interpretation*“, in „*Handbook of Homogeneous Hydrogenation*“, ed. H. G. deVries, C. Elsevier, 10, 257-293, **2007**. Wiley-VCH.

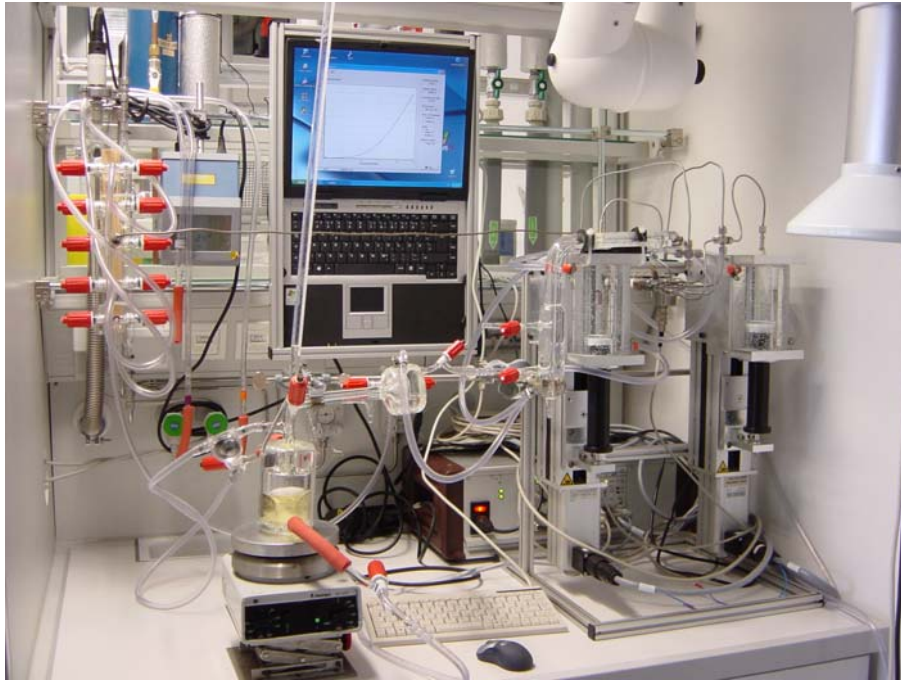
Anpassung an heterogene Reaktionsführung:

Durch spezielle Hydriergefäße mit Einbauten in Kombination mit einem effizienten Begasungsrührer (Firma Premex) lassen sich auch bei heterogener Reaktionsführung (z. B. Pd/C) Transportphänomene minimieren.

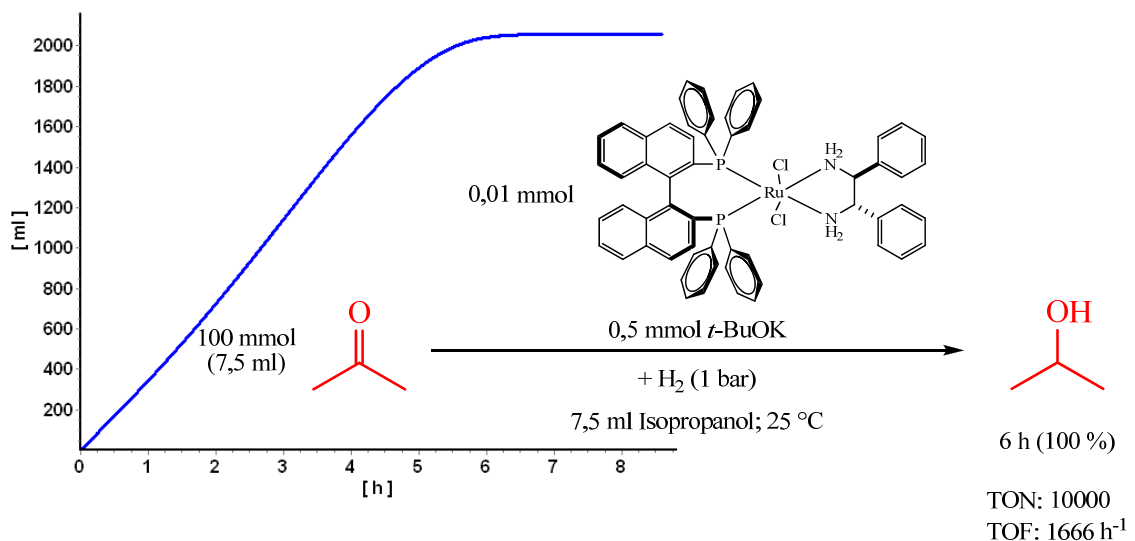


Anpassung an unendliche Gasverbräuche bzw. Gasentwicklungen (Heller)

Im Gegensatz zu der oben beschriebenen Apparatur arbeitet die neue Apparatur (völliger Neubau!) mit einem Doppelkolbensystem. Während der Hydrierung ist immer nur jeweils ein Kolben mit dem Reaktionsgefäß verbunden. Ist der Wasserstoff aus einem Kolben verbraucht, so erfolgt mittels Magnetventilsteuerng die Umschaltung auf den anderen Kolben. Anschließend wird der entleerte Kolben wieder automatisch unter isobarem Zurückfahren des Kolbens mit Wasserstoff befüllt.

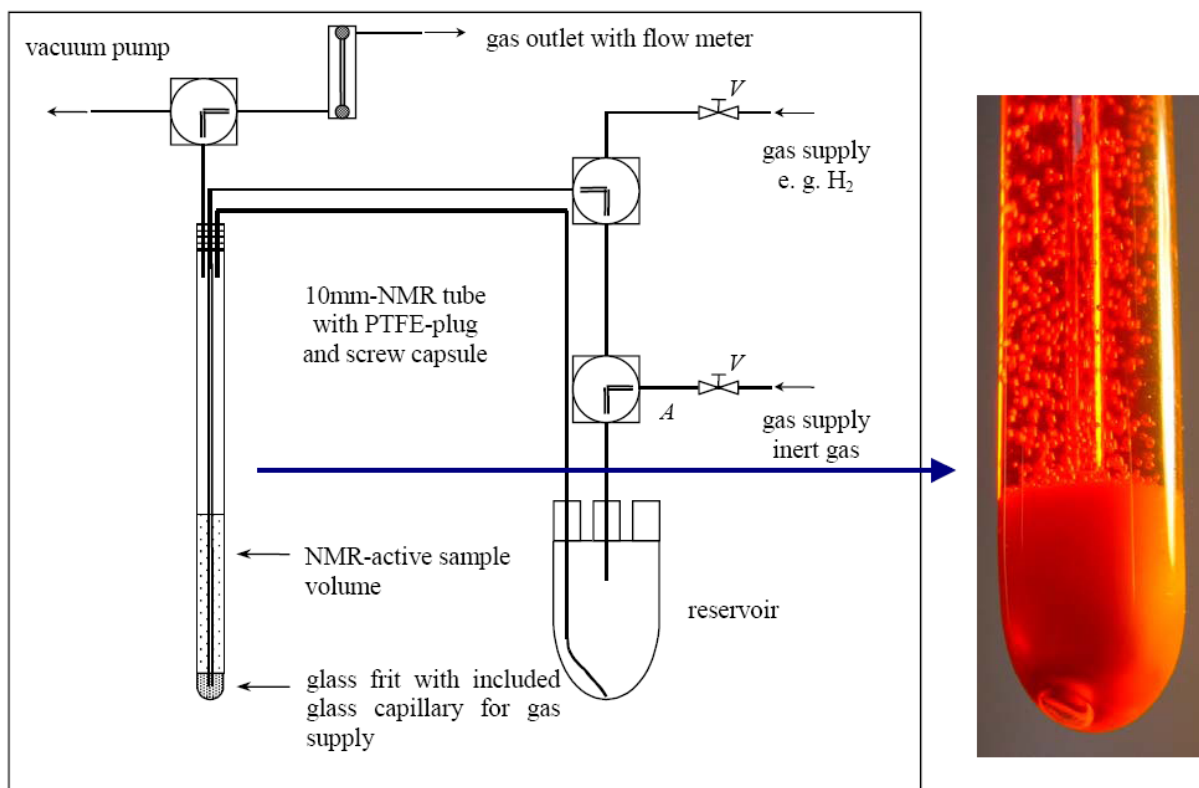


Es lassen sich auf diesem Wege größere Gasverbräuche registrieren, die untenstehende Abbildung zeigt die Wasserstoffaufnahme (im Beispiel ca. 2000 ml H₂) für die Hydrierung von Aceton mit einem Noyori-System.



NMR-spektroskopische Verfolgung von gasverbrauchenden Reaktionen unter katalytischen Bedingungen (*operando*) (Heller)

Die folgende Abbildung zeigt die von uns entwickelte Möglichkeit für Experimente unter Normaldruck.^[2] Das reaktive Gas wird unterhalb der Messzone während der Spektrenregistrierung kontinuierlich in die Reaktionslösung eingeleitet und damit Diffusionsprobleme für nicht zu schnelle Katalysen praktisch ausgeschlossen. Trotz Gaseinleitung während der Messung und einer damit verbundenen Verschlechterung der Magnetfeldhomogenität lassen sich mit dem nichtrotierenden NMR-Röhrchen ausreichend gute Spektren (^1H , ^{13}C , ^{31}P) unter Katalysebedingungen *in-situ* registrieren. Eine ausführlichere Darstellung mit Beispielen findet sich in ^[1b].



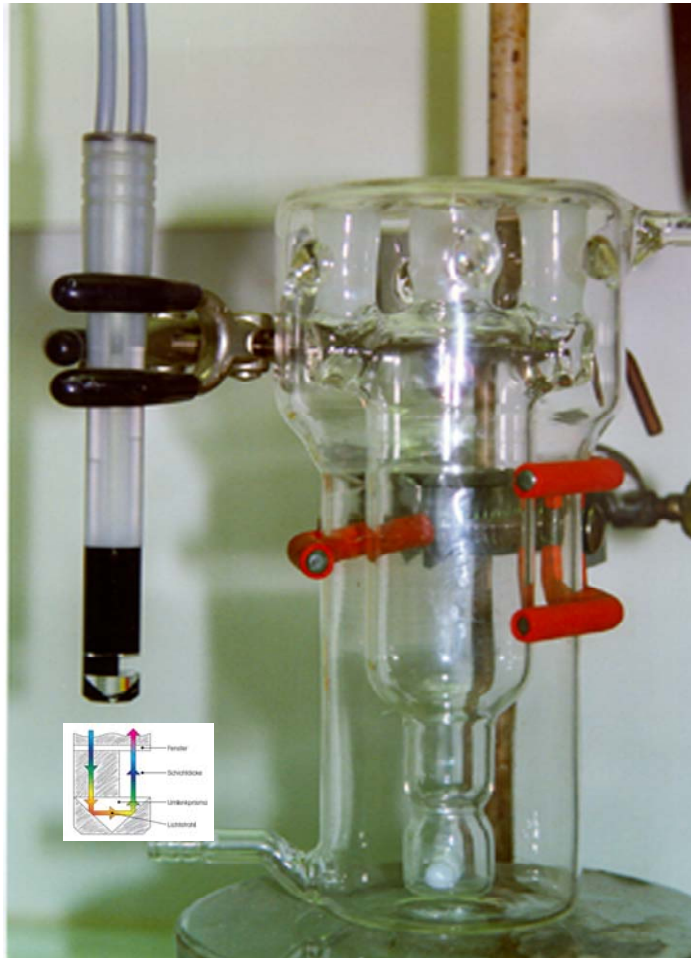
Eine Möglichkeit, bei Drucken bis 50 bar mit einem kommerziellen Saphir-Röhrchen zu arbeiten, wurde kürzlich beschrieben.^[3] Durch eine außerhalb des Magneten positionierte elektronisch gesteuerte Kombination von Pumpe und Magnetventilen für den Gastransport erfolgt eine Kreislaufführung des Reaktionsgases.

^[2] a) W. Baumann, S. Mansel, D. Heller, S. Borns, *Mag. Res. Chem.* **1997**, 35, 701-706. b) D. Heller, W. Baumann, DE 102 02 173 (17.1.2002).

^[3] D. Selent, W. Baumann, A. Börner, DE 103 33 143 A1(3.3.2005).

UV/Vis-Spektroskopie unter anaeroben operando Bedingungen (Heller)

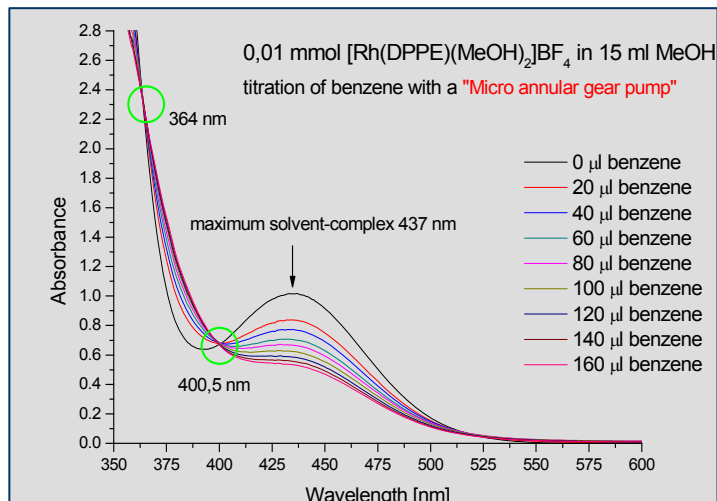
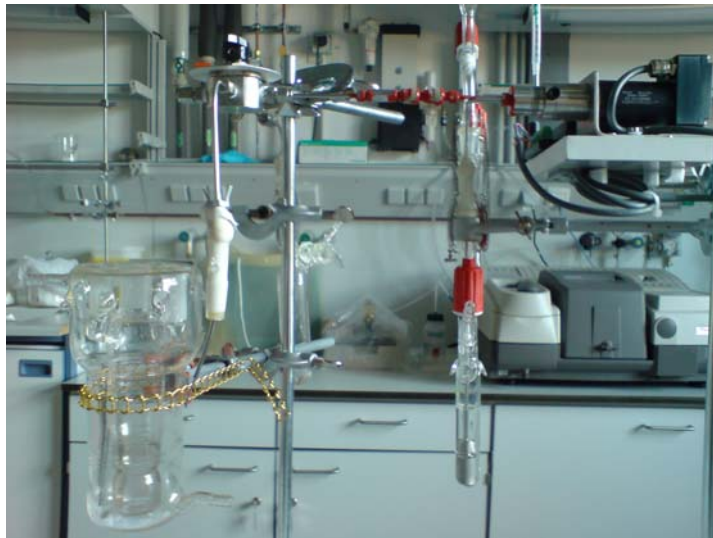
Für derartige Aufgabenstellungen führt die Verwendung von Tauchoptroden (auch als „faseroptische Sonden“ bezeichnet) anstelle üblicher Küvetten zu einer Problemlösung. Durch die nahezu beliebige Dimensionierung des Reaktionsgefäßes sowie der „ortsveränderlichen Küvette“, die folgende Abbildung zeigt ein Beispiel für Untersuchungen unter Normaldruck, lassen sich z. B. Hydrierungen in verschiedenen Druck- und Temperaturbereichen elegant in situ, sprich unter operando Bedingungen leicht verfolgen^[4]. Eine ausführlichere Darstellung mit Anwendungsbeispielen findet sich in^[1b].



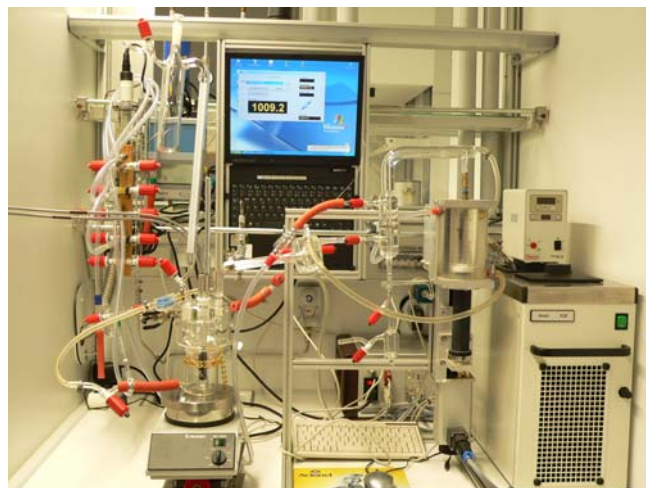
Für die Dosierung kleinster Lösungsvolumina wurde das vorhandene System mit einer Mikrozahnringpumpe für anaerobe Bedingungen gekoppelt, vergleiche die folgende Abbildung.

Auf diesem Wege ist es beispielsweise problemlos möglich, Stabilitätskonstanten zu bestimmen, die Abbildung zeigt die Spektren für die Umsetzung des $[\text{Rh}(\text{DIPAMP})(\text{MeOH})_2]\text{BF}_4$ -Komplexes mit Benzen. Die Auswertung der Spektren ergibt die Stabilitätskonstante der Aromatenkomplexe.

^[4] a) R. Emmrich, F. Fiedler, *Chemie-Technik*, **1994**, 4, 28-30. b) H. Neumann, D. Heller, *GIT Fachz. Lab.* **1998**, 11, 1168-1174.

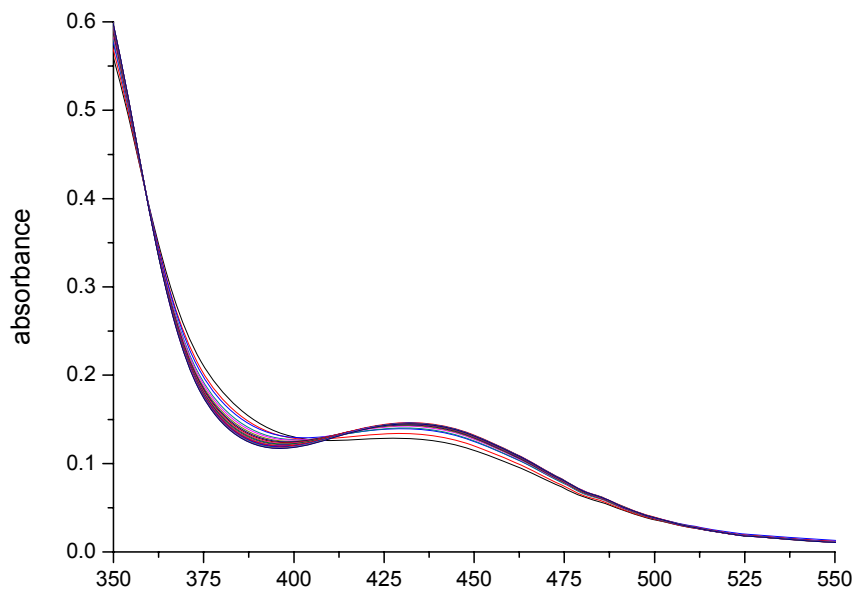


Auch die Kopplung mit anderen Methoden ist problemlos möglich, die folgende Abbildung zeigt die mögliche Anordnung für die gleichzeitige Registrierung der UV/Vis-Spektren (Lichtleiterein- und -Auskopplung sind links im Bild zu sehen) sowie der Gasaufnahme.



UV/Vis-Spektroskopie unter anaeroben operando Bedingungen: sehr schnelle Reaktionen Diodenarray-stopped flow Technik (Heller)

Für die Verfolgung sehr schneller Reaktionen wurde ein kommerzielles Diodenarray mit Lichtleitertechnik in einer Glove Box untergebracht. Somit ist es möglich, innerhalb weniger Sekunden mehrere hundert Spektren zu registrieren.



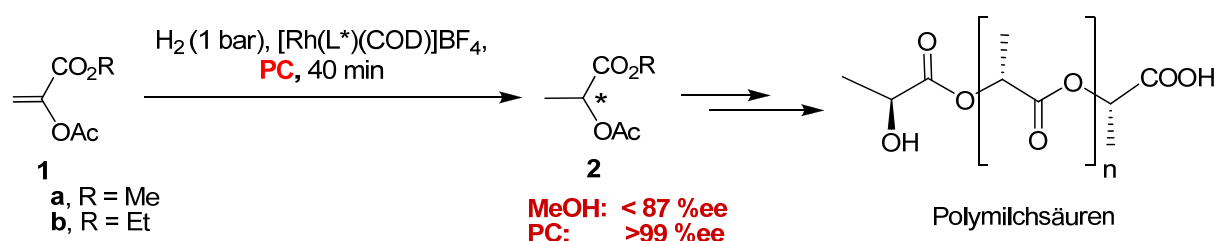
Die Abbildung zeigt das durch zwei isosbestische Punkte charakterisierte Reaktionsspektrum der Umsetzung von $[\text{Rh}(\text{DIPAMP})(\text{Benzen})]\text{BF}_4$ mit einem Überschuss an Methanol (Pseudobedingungen!) zum $[\text{Rh}(\text{DIPAMP})(\text{MeOH})_2]\text{BF}_4$. Auf diesem Wege lassen sich mit Hilfe der Auswertung über Integralgleichungen die Geschwindigkeitskonstanten für die Hin- aber auch für die Rückreaktion ermitteln; das Verhältnis ergibt die klassische Stabilitätskonstante.

Projektbereich B: Alternative Reaktionsmedien

Prozess zur Herstellung von enantiomerenreiner Milchsäure im „grünen“ Lösungsmittel Propylencarbonat (PC) (Börner)

Wie bei allen Reaktionen in Lösungsmitteln gehört die abschließende Trennung von Produkt und Lösungsmittel zur Gesamtbeurteilung eines chemischen Verfahrens aus ökonomischer und ökologischer Sicht. Das gilt auch für die Verwendung des „grünen“ Lösungsmittels Propylencarbonat (PC).^[5] Im Rahmen des Graduiertenkollegs konnten wir beispielsweise zeigen, dass sich auf Grund sehr unterschiedlicher Polaritäten ein unpolares Produkt mit Kohlenwasserstoffen aus PC extrahieren lässt.^[6]

In einem weiteren beispielgebenden Verfahren wurde die Herstellung von Milchsäure über eine hochstereoselektive Hydrierung an einem chiralen Rh-Katalysator realisiert^[7].



Optisch aktive Milchsäure dient zur Herstellung von biologisch abbaubaren Polymilchsäuren, die vergleichbare Eigenschaften wie Polyethylenterephthalat (PET) besitzen. Die katalytische Reaktion liefert im Vergleich zu anderen Lösungsmitteln (z.B. Methanol) in PC die höchsten Ausbeuten und Stereoselektivitäten. Aufgrund der sehr unterschiedlichen Siedpunkte der Milchsäureester und PC konnte in einem anschließenden verfahrenstechnischen Schritt über eine Spaltrohkolonne das Produkt in hoher Reinheit vom Lösungsmittel abgetrennt werden. Dieses Verfahren war sogar anwendbar, wenn die Reaktion nicht vollständig verlief, so dass nun Edukt, Produkt und Lösungsmittel voneinander separiert werden konnten.



Die Konzeption und erfolgreiche Durchführung des Prozesses war nur möglich durch die enge Verzahnung von Katalyse, physikalischer Chemie und Verfahrenstechnik.

^[5] B. Schäffner, S. P. Verevkin, A. Börner, *Chemie in unserer Zeit*, **2009** im Druck.

^[6] J. Bayardon, J. Holz, B. Schäffner, V. Andrushko, S. Verevkin, A. Preetz, A. Börner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5971-5947.

^[7] B. Schäffner, J. Holz, V. Andrushko, S. Verevkin, Börner, *ChemSusChem* **2008** im Druck.

Neue Methoden für Dampfdruckmessungen (Verevkin)

1. Transpirationsmethode: Dampfdrücke und Verdampfungsenthalpien von einfachen kleinen Molekülen lassen sich mit zahlreichen experimentellen Methoden gut messen, während die Messungen für die großen Moleküle oft fehlerhaft sind. Die Sättigungsdampfdrücke der meisten „green solvents“ sind so niedrig, dass sie mit der so genannten Transpirationsmethode in einem gesättigten N_2 -Strom bestimmt werden können. Diese Methode ist besonders zur Messung niedriger Dampfdrücke geeignet. Aus der Temperaturabhängigkeit der Sättigungsdampfdrücke wurde nach der Clausius-Clapeyron'schen-Gleichung die molare Verdampfungsenthalpie ermittelt.

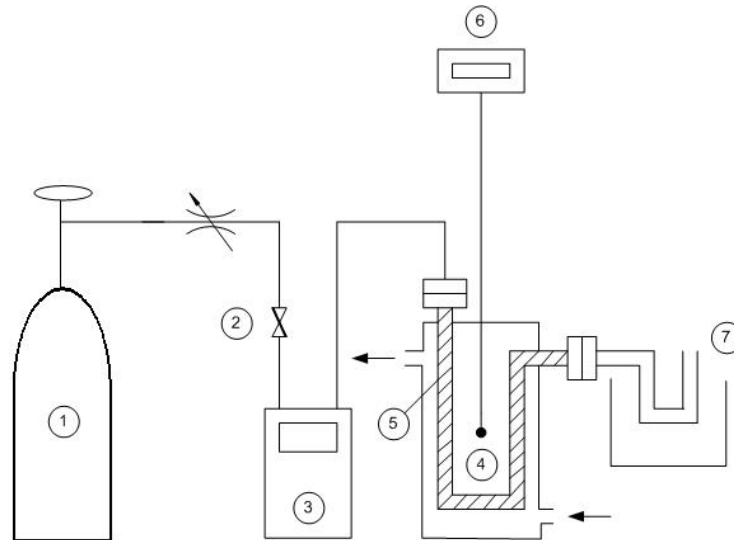


Figure. 1. Schema der Apparatur zur Durchführung des Transpirationsexperimentes. (1) Trägergasflasche; (2) Präzisionsnadelventil; (3) Durchflussmesser; (4) thermostatisierte Messzelle; (5) U-Rohr, gefüllt mit der Probe; (6) Thermometer; (7) Kühlfalle, $T = -30^\circ\text{C}$.



2. Statische Methode: Bei der statischen Methode wird der Dampfdruck in einer geschlossenen Messzelle gemessen. Die Temperatur der Messzelle wird konstant gehalten, bis sich das Gleichgewicht eingestellt hat. Die Probe wird vor dem Experiment gründlich entgast. Die Zelle wird unter Vakuum gesetzt und der Dampfdruck mit Hilfe verschiedener Manometer gemessen. Die Vorteile dieser Methode bestehen in der sehr hohen Genauigkeit bei der Bestimmung der Temperatur und des Drucks. „Green Solvents“ im Vergleich zu

traditionellen Lösungsmitteln haben einen sehr kleinen Dampfdruck (besonders ionische Flüssigkeiten). Diese Eigenschaft der alternativen Reaktionsmedien machen physikalisch-chemische Untersuchungen schwer aber interessant. Zum Beispiel, haben ionische Flüssigkeiten Dampfdrücke um 0.5 - 2 Pa sogar bei Temperaturen über 150°C! Aber gerade daran sind technische Anwendungen von ILs geknüpft. Die verlässliche Bestimmung der niedrigen Dampfdrücke erfordert die Entwicklung neuer Methoden, eine sehr anspruchsvolle und präzise experimentelle Ausrüstung und auch gute Vakuumtechnik.

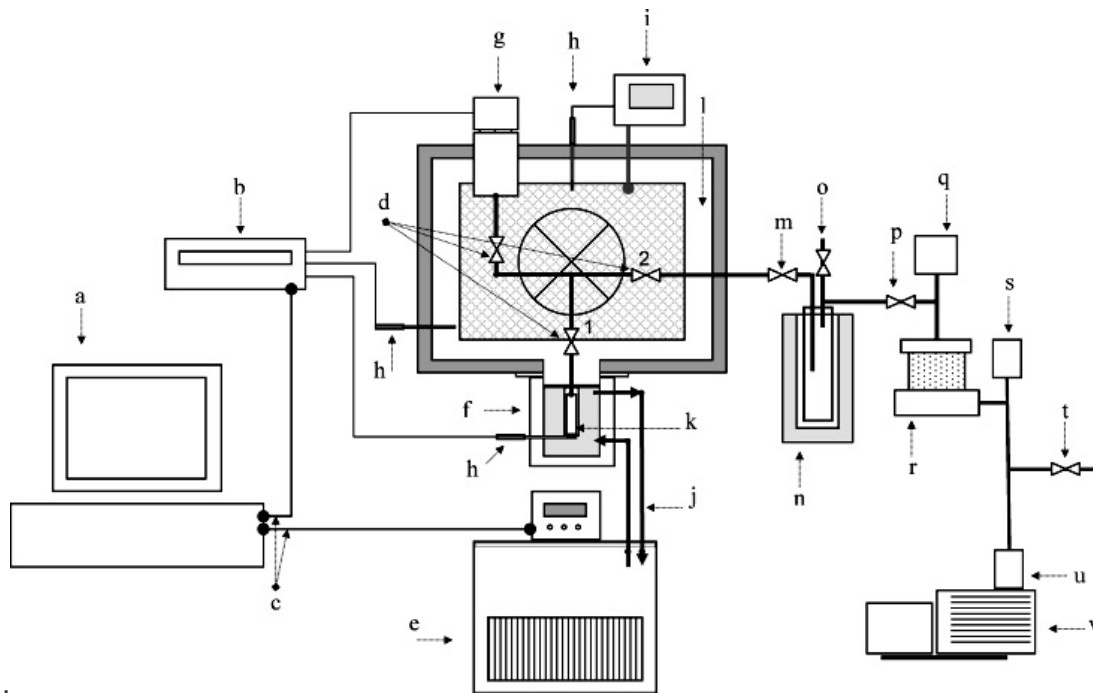


Figure 2. Schematic presentation of the measuring system for the static method

- a, computer;
- b, data logger Keithley 2700;
- c, RS 232C;
- d, high-temperature all metal electro-pneumatic valves VAT series 57;
- e, temperature-controlled bath JULABO model F33-MW;
- f, heat exchange tube cavity; g, pressure transducer, MKS Baratron model 631A01TBEH;
- g, Pressure transducer MKS Baratron 631 B
- h, temperature sensor, Pt 100;
- i, PID temperature controller;
- j, bath fluid circulation tubes;
- k, sample cell tube;
- l, forced air convection oven;
- m, Teflon greaseless valve J. Young SPOR/20;
- n, glass liquid nitrogen trap;
- o, Teflon greaseless gas admittance valve J. Young ALS1;
- p, isolation valve VAT series 010;
- q, wide range vacuum gage Edwards WRG-S;
- r, turbomolecular vacuum pump system Edwards model EXT70;
- s, Pirani gage Edwards APG-M;
- t, air admittance valve;
- u, foreline trap Edwards FL20K;
- v, rotary pump Edwards RV3.

3. Kombination der Knudsen-Effusion Technik und Quarz-Mikrowaage: Mit Hilfe der Knudsen-Effusion-Methode lässt sich der Dampfdruck von reinen Substanzen bei einer definierten Temperatur bestimmen, indem man die Masse, die durch eine Öffnung in der Zelle ins Vakuum verdampft, bestimmt. Es gibt mehrere Modifikationen dieser Methode. Zur Berechnung des Dampfdruckes wird die Knudsen-Effusion-Gleichung verwendet, die nach klassischer kinetischer Gas-Theorie entwickelt wurde. Die Möglichkeit, sehr kleine Drücke zu messen, gehört zum wesentlichen Vorteil dieser Methode. Als eine geeignete Methode für die Messungen von sehr kleinen Drücken scheint die Kombination von *Knudsen-Effusion Technik* mit einer Quarz-Mikrowaage zu sein. Dabei wird die zu untersuchende Substanz aus einer Messzelle verdampft und auf die Oberfläche eines Quarz-Kristalls als ein sehr dünner Film kondensiert. Durch die Verwendung von sehr tiefem Vakuum (10^{-10} mbar) wird es möglich, thermisch instabile (z.B. Aminosäuren) und auch sehr hochsiedende Substanzen (Carbonate, Ionische Flüssigkeiten) zu untersuchen. Aufbau und Automatisierung einer solchen komplexen Hochvakuum-Apparatur ist nur durch die Zusammenarbeit mit dem Institut für Automatisierungstechnik (Prof. Thurow und Prof. Stoll) möglich.

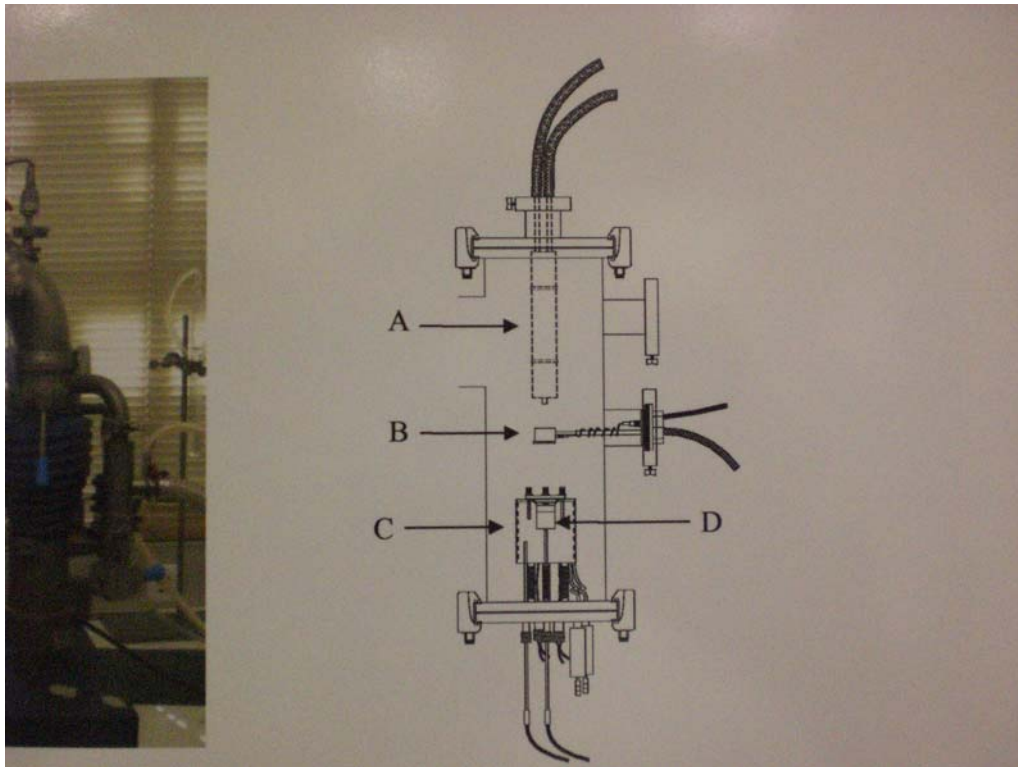


Figure 3. Schematic presentation of the measuring system for the combined *Knudsen-Effusion* and Quartz-Microbalance: A- cold finger; B- Quartz-Microbalance; C- thermostat; D- Knudsen cell.

Neue Methoden für die Verbrennungskalorimetrie (Verevkin)

Green Solvents sind im Vergleich zu traditionellen Lösungsmitteln schlecht entflammbar und schlecht brennbar (besonders ionische Flüssigkeiten). Aber Bildungsenthalpien von ionischen Flüssigkeiten sind wichtige Eckwerte, die oft durch Verbrennungskalorimetrie gemessen werden. Obwohl die Verbrennungskalorimetrie eine etablierte Methode ist, sind neue Entwicklungen erforderlich, um die vollständige Verbrennung der Probe von schlecht brennbaren Stoffe (e.g. ionischen Flüssigkeiten) zu ermöglichen. Ähnliche Komplikationen sind auch bei Untersuchungen organischer Alkylcarbonate und Polyether zu erwarten. Ein anderer wichtiger Aspekt ist die Modernisierung und Automatisierung der „hausgemachten“ Verbrennungskalorimeter, um Temperaturstabilität und die Präzision der Temperaturmessung auf einen modernen Stand zu bringen und dadurch Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Messungen zu erhöhen.

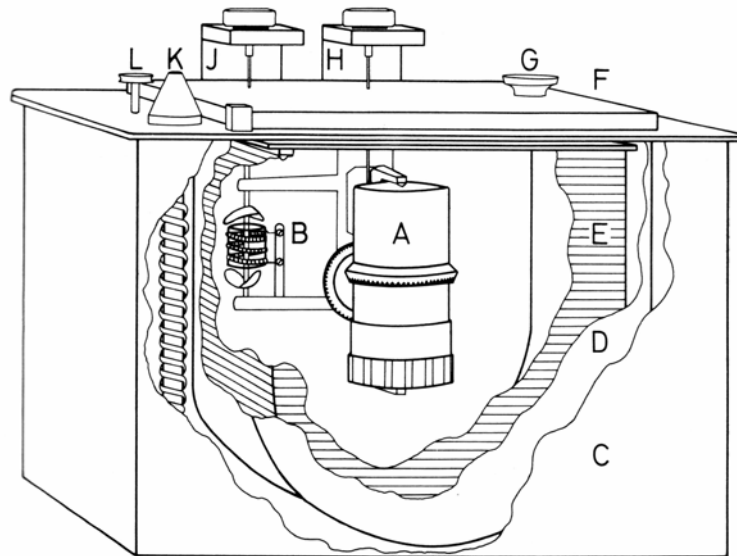


Figure 4. Rotating-bomb isoperibol calorimeter: (A) stainless steel bomb; (B) heater for adjustment of initial temperature; (C) thermostat can; (D) thermostat inner wall; (E) calorimeter can; (F) double-walled lid for circulation of thermostat water; (G) sleeve for temperature sensor; (H) synchronous motor for bomb rotation; (J) synchronous motor for calorimeter stirrer; (K) heating-cooling unit for thermostat; (L) circulation pump for stirring in thermostat bath.



Figure 5. Rotating-bomb isoperibol calorimeter

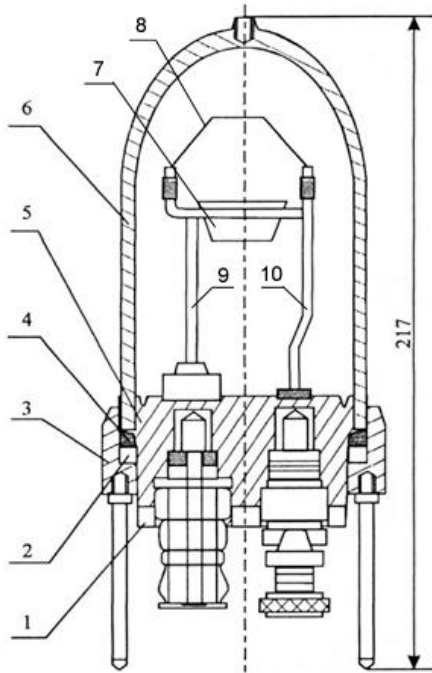


Figure 6. Static-bomb calorimeter: Kalorimetrische Bombe im Querschnitt: 1-Gegenmutter, 2- Dichtungring, 3- Überwurfmutter, 4- Gummidichtung, 5- Abdeckung, 6- Gehäuse, 7-Platintiegel, 8- Zünddraht, 9- Kathode, 10- Anode.

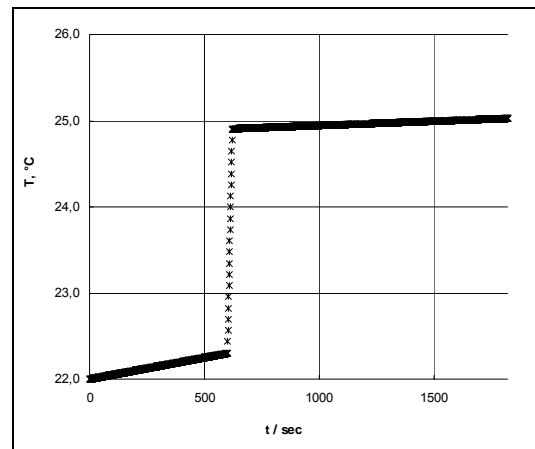


Figure 7. Temperaturänderung während eines kalorimetrischen Experimentes:

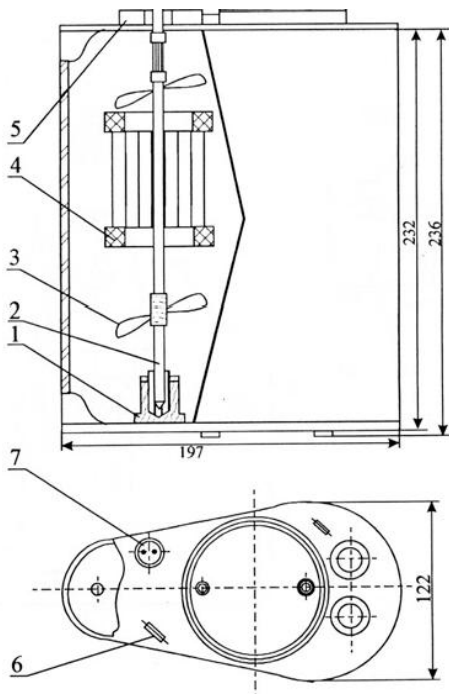
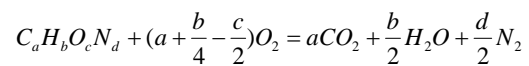


Figure 8. Static-bomb calorimeter: Kalorimetrisches Gefäß: seitliche Ansicht und Draufsicht: 1-Pfanne, 2-Achse der Rührereinheit, 3-Flügelrad, 4-Heizlamelle, 5-Buchse, 6-Öse für Henkel, 7-Anschlussstift für Motorwelle:



Figure 9. Static-bomb calorimeter.

Entwicklung der Ab-initio und Gruppen-Beitrags-Methoden für die Berechnung thermodynamischer Eigenschaften der „Green-Solvents“ (Verevkin)

Zur Bestimmung der molekularen Gleichgewichtsgeometrie wird die elektronische Energie als Funktion der Kernkoordinaten mit verschiedenen Verfahren minimiert. Die Geometrieoptimierung des elektronischen Grundzustands erfolgt in mehreren Schritten. Für solche Rechnungen sind Programmpakete GAUSSIAN erhältlich. Als Ergebnis der Ab-initio-Rechnungen sind theoretische Werte für Bildungsenthalpien, Entropien and Wärmekapazitäten des Moleküls erhältlich. Durch einen Vergleich der Ergebnisse der Ab-initio-Rechnung mit den entsprechenden Messungen ist eine weitere Entwicklung des Rechenverfahrens möglich. Der Unterschied zwischen einer Ab-initio-Rechnung und einer Auswertung der Messergebnisse kann auf einen Fehler in der Experimentdurchführung deuten, aber auch eine genauere Bestimmung der in die Rechnung einfließenden Parameter erlauben oder auch einen bisher nicht berücksichtigten Effekt zeigen. Die Konsistenz zwischen Experiment und Rechnung erlaubt es somit die Verlässlichkeit der Ergebnisse zu prüfen. Die systematische Entwicklung von einem Gruppeninkrementen-Verfahren mit Hilfe der Ab-initio-Rechnungen ist für die Vorhersage von thermodynamischen Eckwerten für die große Variabilität organischer Materialien und Werkstoffe vorgeschlagen. Besonders wichtig ist dabei die Entwicklung neuer Methoden für quantitative Bestimmungen von inter- und intramolekularen Wasserstoffbrückenenergien in komplizierten organischen Molekülen.

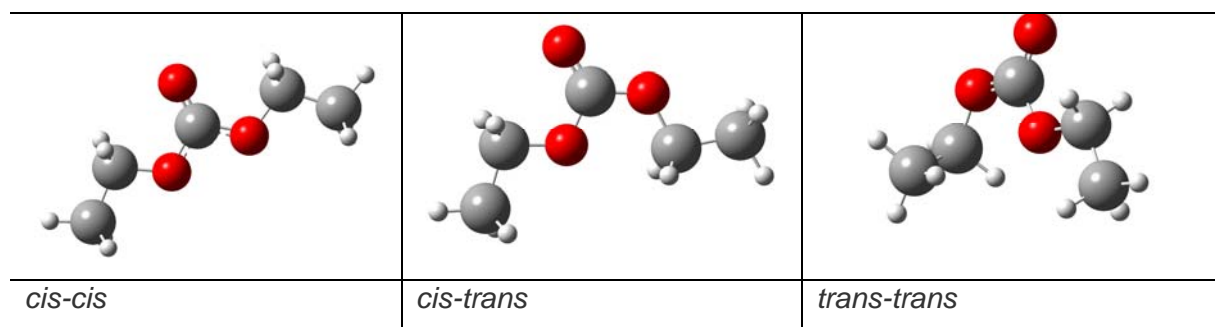


Figure 10. Conformations the di-ethyl carbonate in the gaseous phase

Aktivitätskoeffizienten verschiedener Stoffe in „Green Solvents“

Der Aktivitätskoeffizient bei unendlicher Verdünnung ist ein Maß für die Wechselwirkung zwischen einem Solut und einem Lösungsmittel. Dies spielt eine entscheidende Rolle bei der Trennung organischer Stoffe, wie z.B. Mischungen von Parafinen und Olefinen. Aufgrund der nahe liegenden Siedepunkte ist es unmöglich, diese Kohlenwasserstoffe mit einfacher Destillation abzutrennen. Somit sollen andere Verfahren verwendet werden, wie z.B. Extraktion mit Hochdruckkohlendioxid CO₂, Adsorption, Flüssig-Flüssig-Extraktion, Membranextraktion und extraktive Destillation. Die Extraktion ist dabei das am häufigsten verwendete Verfahren. Das Verhalten des zur Trennung vorliegenden Stoffgemisches bezüglich des Extraktes wird durch die Aktivitätskoeffizienten bei unendlicher Verdünnung beschrieben.

Der Aktivitätskoeffizient γ_i^∞ bei unendlicher Verdünnung der Komponente i steht in folgendem Zusammenhang mit der Henry-Konstante K_i :

$$K_i = \lim_{x_i \rightarrow 0} \frac{p_i}{x_i} = p_{i_0} \cdot \gamma_i^\infty$$

Da „green solvents“ einen sehr geringen Sättigungsdampfdruck haben, ist die am besten für diese Messungen geeignete Methode die Gas-Chromatographie mit der entsprechenden ionischen Flüssigkeit als stationärer Phase. Eine Reihe von industriell relevanten Stoffen wie Alkane, Alkene, Alkylbenzole und Alkohole lassen sich mit diese Methode untersuchen.

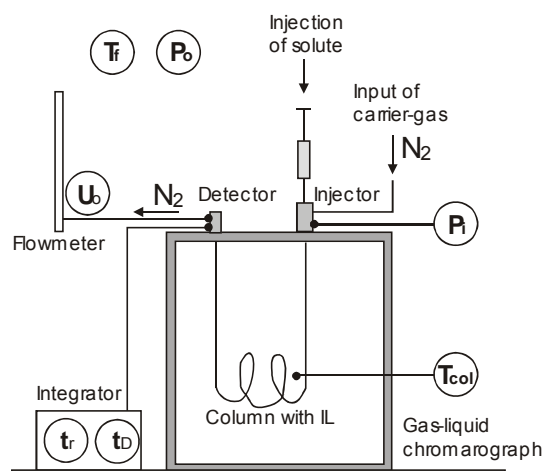


Figure 11. Gas-Chromatographie für die Bestimmung der Aktivitätskoeffizienten

Neue thermodynamische Methoden für Untersuchungen der Phasen Gleichgewichte in Mischungen mit Green Solvents (Verevkin)

Thermodynamische Daten von „green solvents“ und ihren Mischungen mit organischen Lösemitteln und Wasser spielen eine rapide steigende Rolle für die Anwendung dieser Stoffsysteme in der Reaktions- und Trenntechnik. Besondere Bedeutung kommt dabei den Aktivitätskoeffizienten des Lösemittels in den „green solvents“ zu.

Zur Bestimmung von Dampf-Flüssig-Gleichgewichten (VLE) steht eine selbst entwickelte statische Apparatur zur Verfügung. Die statische Apparatur wird für „green solvent“-Systeme eingesetzt. Der große Messbereich lässt Untersuchungen mit Flüssiggasen und leichtflüchtigen Komponenten zu. Eine Genauigkeit in allen Messgrößen ($\pm 0.01\%$ in der Gesamtzusammensetzung, ± 0.01 K in der Temperatur, ± 0.4 mbar $\pm 0.01\%$ im Druck) lässt bei gleichzeitig hoher Datendichte eine sehr sichere Bestimmung der Phasengleichgewichte binärer und ternärer Systeme sowie eine präzise Ableitung von azeotropen Punkten, Grenzaktivitätskoeffizienten und Mischungslücken zu. Die Apparatur ist computergesteuert.

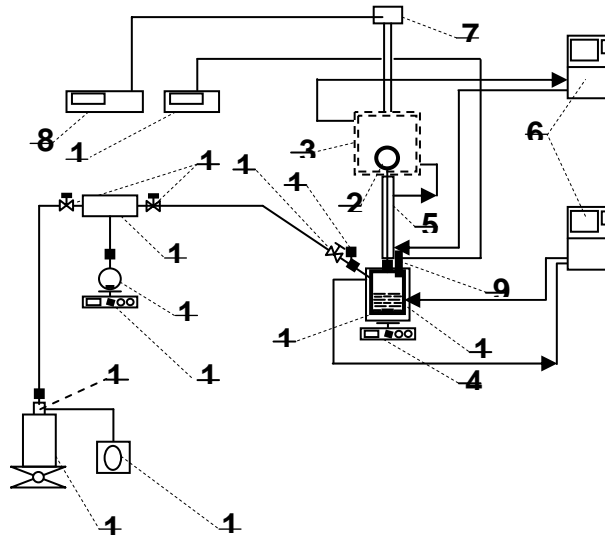


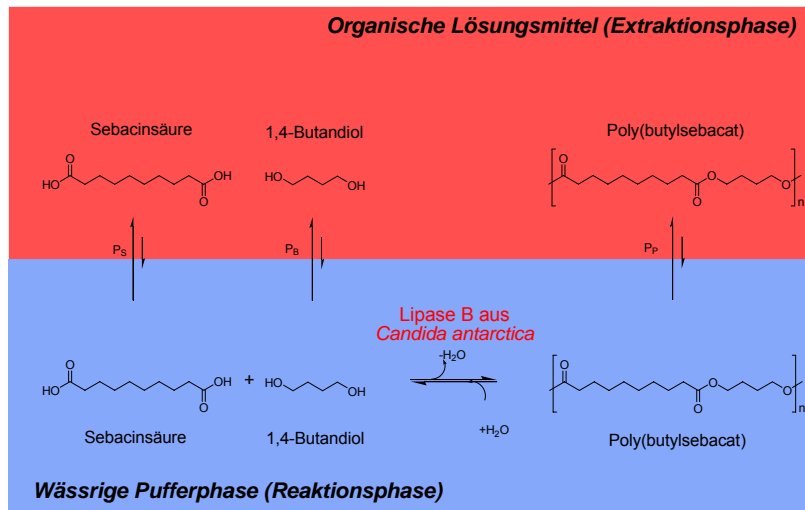
Figure 12. VLE apparatus: 1 – bolted-top cell, 2 – pressure sensor head, 3 – pressure sensor thermostat, 4 – magnetic coupling, 5 – connecting line, 6 – thermostat, 7 – pressure sensor connection, 8 – pressure signal conditioner, 9 – platinum resistance thermometer, 10 – temperature signal conditioner, 11 – injection cell (details see Fig. 2), 12 – magnetic stirrer, 13 volume buffers, 14 – valves, 15 – cooling trap, 16 – liquid nitrogen supply, 17 – vacuum pump, 18 – metal valve.



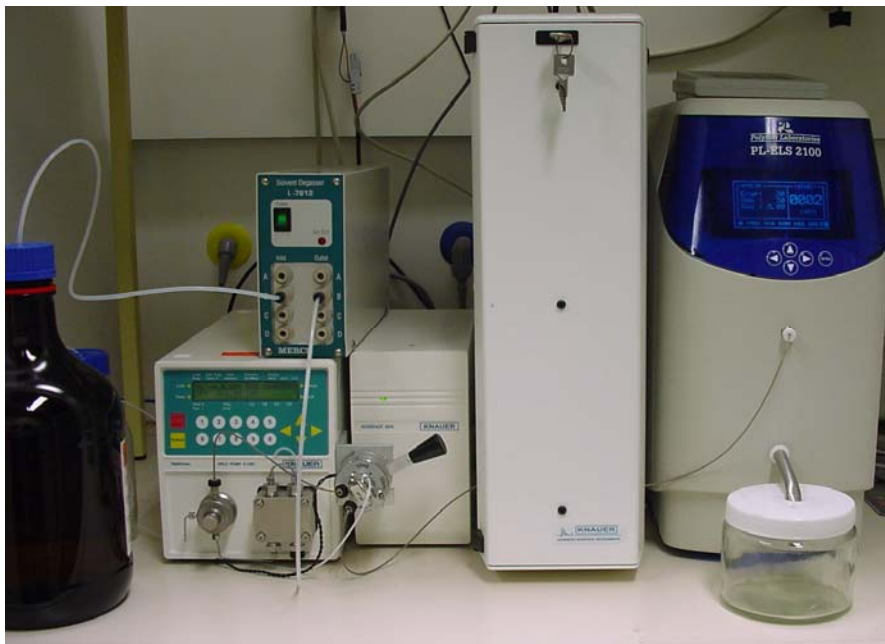
Figure 13. VLE apparatus, measuring cell.

Enzymkatalysierte Polykondensation in wasserhaltigen binären Reaktionssystemen (Kragl)

Klassischerweise werden auch enzym-katalysierte Polykondensationen von Diolen und Dicarbonsäuren unter wasserfreien Bedingungen durchgeführt, um hohe Ausbeuten und Molekularmassen zu erzielen.



Im Rahmen des Graduiertenkollegs haben wir den Weg über ein binäres Reaktionssystem gewählt, das einige Vorteile aufweist. So ist durch „**medien-engineering**“ nicht nur die gezielte Steuerung der Reaktion hinsichtlich Ausbeute und Molekularmasse möglich, sondern auch eine Ressourcenschonung verglichen mit der klassischen Methodik.^[8] In einem



^[8] S. Dreyer, J. Lembrecht, J. Schumacher, U. Kragl, in R. Patel (Ed.) *Biocatalysis in the Pharmaceutical and Biotechnology Industries* 2006 CRC-Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 791-828. Enzyme catalysis in non-aqueous media – past-present-future.

binären Reaktionssystem wurde die Herstellung von Polyestern mittels einer lipasen-katalysierten Polykondensation von Sebacinsäure und 1,4-Butandiol untersucht.^[9]

Oligoester bis zu 10 Repeating units mit definierten Molekularmassen und geringen Polydispersitäten (PDI), wie sie binären Reaktionssystem hergestellt werden konnten, können als **Weichmacher** eingesetzt werden und somit das leicht flüchtige Triethylcitrat ersetzen

Darüber hinaus ist die Verwendung des binären Reaktionssystems für Polykondensationen von **hydrophilen Monomeren** möglich, z.B. die Polykondensation von Kohlenhydraten mit biokompatiblen Dicarbonsäuren, welche wiederum in der Medizintechnik so wie auch in der Lebensmitteltechnik Verwendung finden.

Anschließend ergeben sich bei diesem Verfahren besondere Vorteile bei der **Produktisolierung**. Da die organische Phase nur das Produkt, den Polyester bzw. das Oligomer, enthält, kann diese nach der Reaktion abgetrennt werden (Phasentrennung). Durch Evaporation des Lösungsmittels lässt sich das reine Produkt erhalten.^[10]

Es war weiterhin möglich, für die binären Systeme mittels des quantenchemischen Berechnungsprogramms COSMO-RS Verteilungskoeffizienten mit einer ausreichenden Genauigkeit vorherzusagen. Diese Koeffizienten lassen eine Beurteilung der Effektivität des binären Reaktionssystems zu.

Die erfolgreiche Durchführung des Prozesses war nur möglich durch die enge Zusammenarbeit und den regen Informationsaustausch zwischen den Arbeitsbereichen Biokatalyse, physikalische Chemie und Verfahrenstechnik.

^[9] J. Duwensee, S. Wenda, W. Ruth, U. Kragl, *Org. Proc. Res. Dev.* **2008**, Polycondensation in water – a new approach for polyester synthesis. Submitted.

^[10] S.P. Verevkin, V.N. Emel'yanenko, A.V. Toktonov, J. Duwensee, U. Kragl, C. Schick, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2008**, Thermodynamics of sebacic acid and 1,4-butanediol and their biocatalytic polymerisation. Submitted.

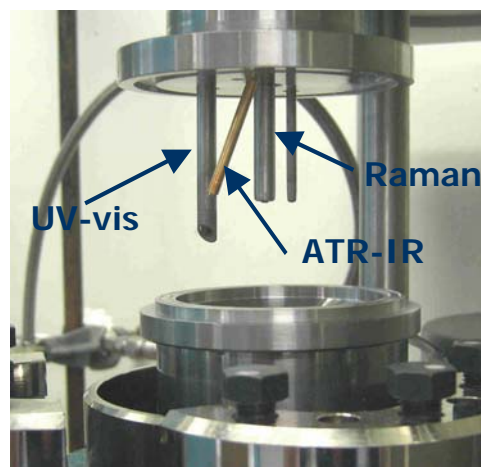
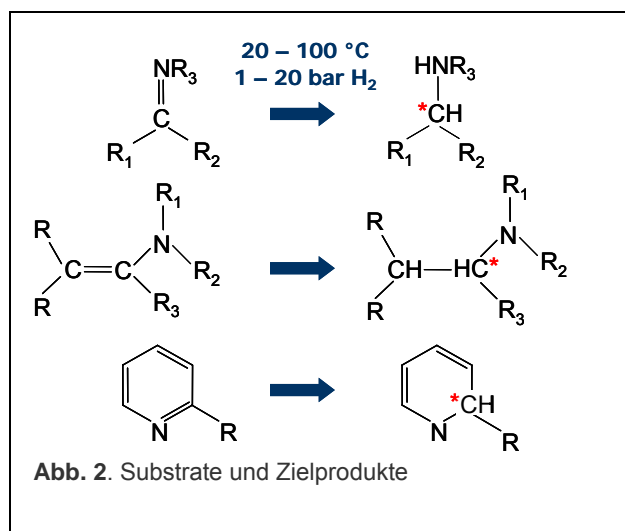
Projektbereich C: Neue Methoden in der Analytik und Automation

Autoklav für simultane ATR/UV/Vis/Raman-Untersuchungen von Mehrphasensystemen (Brückner)

Kopplungsmethoden für spektroskopische operando-Untersuchungen von Mehrphasenprozessen sind bisher kaum verfügbar. Die Entwicklung solcher Instrumentarien wurde deshalb als zukunftsweisend in die Roadmap der deutschen Katalyseforschung aufgenommen.^[11] Der seit 2008 am LIKAT verfügbare Autoklav mit implementierten faseroptischen Sonden für simultane FTIR(ATR)-, UV/Vis- und Raman-Messungen ist mit Rührer und Gasbürette für die Einleitung gasförmiger Edukte in flüssige Reaktionsmedien ausgestattet, die auch feste Katalysatoren enthalten können, und ist bis ca. 120°C und 50 bar einsetzbar.

Er wird zur Zeit zum Studium der enantioselektiven Hydrierung stickstoffhaltiger Substrate (Imine, Enamine, N-haltige Aromaten) an chiral modifizierten Edelmetall-Trägerkatalysatoren eingesetzt^[12]. Die entsprechenden chiralen Amin-Produkte können für die Entwicklung von Pharmaka wichtig sein. Die unterschiedliche Empfindlichkeit der beiden Schwingungsmethoden ATR und Raman für spezielle Bindungen in Edukt- und Produktmolekülen kann durch deren Kopplung sehr wirkungsvoll kompensiert werden und ermöglicht so ein breiteres Informationsspektrum, während mittels UV/Vis-Spektroskopie Aussagen über das Verhalten der Edelmetallpartikel anhand ihrer Plasmonbanden möglich sind.

Im Rahmen des Graduiertenkollegs soll diese Apparatur für das Studium von palladium- und eisenkatalysierten Komplexkatalysatoren in Hydroxyformylierungs- und Aminierungsreaktionen adaptiert werden.



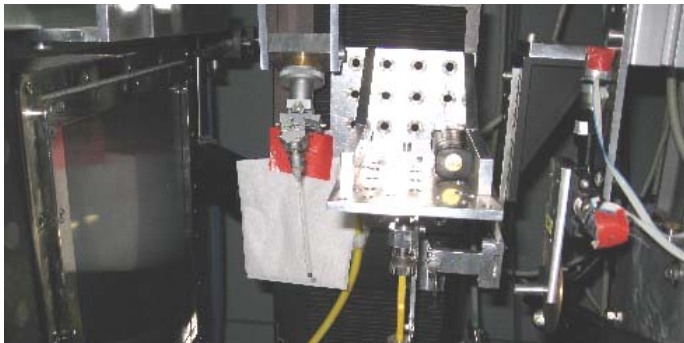
^[11] Roadmap der deutschen Katalyseforschung, 2. Auflage, 2006, S. 42

^[12] L. R. Knöpke, N. Nemat, A. Köckritz, U. Bentrup, A. Brückner, "Reaction monitoring of heterogeneously catalysed hydrogenation of imines via coupled ATR-FTIR/Raman spectroscopy", 3rd Int. Congress on operando-Spectroscopy, submitted.

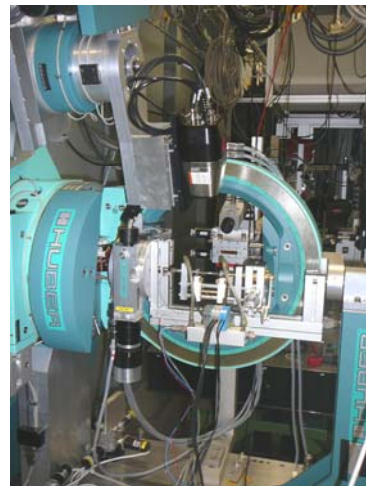
Simultankopplungen verschiedener Röntgenmethoden mit Methoden der optischen Spektroskopie bei BESSY (Brückner)

In Kooperation mit der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) wurde bei der Berliner Elektronenspeicherring-Gesellschaft für Synchrotronstrahlung (BESSY) an der μ -Spot-Beamline ein Messaufbau für simultane Messungen mittels Röntgenweitwinkel- und -kleinwinkelstreuung, UV/Vis-, FTIR(ATR)- und Raman-Spektroskopie entwickelt. Damit können Katalysatorsynthesen und heterogenkatalytische Reaktionen in flüssiger Phase untersucht werden, wobei die simultan erfassbare Informationsbreite von der molekularen Struktur bis hin zu Phasen-, Kristallwachstums- und Partikeleigenschaften reicht^[13]. An diesem Messplatz sind auch Messungen mittels Röntgenabsorptionsspektroskopie (XAS) möglich. Darüber hinaus wird im Rahmen eines gemeinsamen DFG-Projektes mit der BAM gegenwärtig ein Messplatz für simultane operando-XAS/XRD-Untersuchungen entwickelt^[14], der zur Zeit für das Studium von promotierten Pd-Trägerkatalysatoren in der Acetoxylierung von Toluol zu Benzylacetat eingesetzt wird. XAS liefert hierbei Informationen zur Nahordnung der Pd- und Promoter-Umgebung, während mit XRD Hinweise auf die Bildung von Legierungen und die Größe der Metallpartikel erhalten werden.

Im Rahmen des Fortsetzungs-Antrages sollen diese Techniken für das Studium von palladium- und eisenkatalysierten Komplexkatalysatoren in Hydroxyformylierungs- und Aminierungsreaktionen adaptiert werden.



WAXS/SAXS/UV/Vis/ATR/Raman-Kopplung an der μ -Spot-Beamline von Bessy. Die Probensuspension wird aus dem Reaktor mit implementierten UV/Vis- und ATR-Sonden durch eine Kapillare gepumpt (gelb im Bild), an der Raman- und WAXS/SAXS-Messungen durchgeführt werden.



XRD/XAS-Messplatz an der BAMline für Messungen an heterogenkatalysierten Gasphasenreaktionen bis 500°C.

^[13] U. Bentrup, J. Radnik, U. Armbruster, A. Martin, J. Leiterer, F. Emmerling, A. Brückner, *Catal. Today*, angenommen.

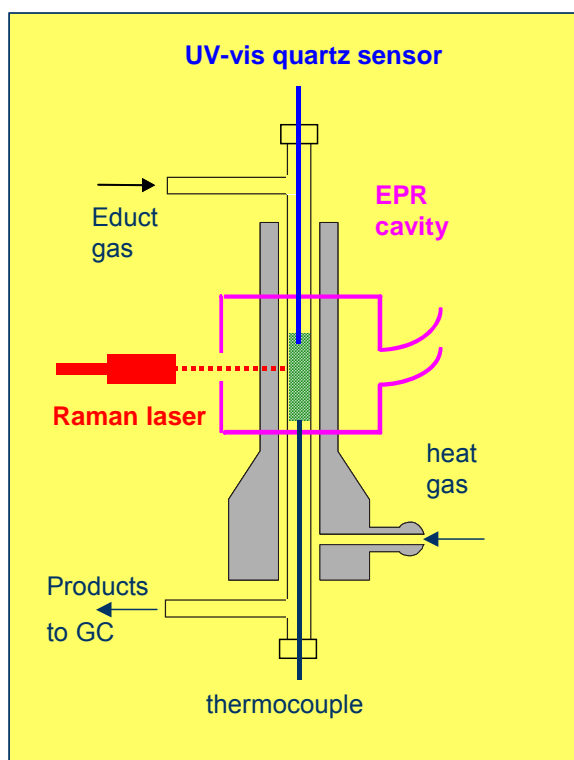
^[14] Projekt-Nr. Br 1380/13-1

Simultane operando-EPR/UV/Vis/Raman-Spektroskopie zur Verfolgung heterogenkatalytischer Gasphasen-Reaktionen unter Normaldruck (Brückner)

Bei der am LIKAT im Jahre 2005 als weltweit erster Dreifachkopplung von operando-Methoden entwickelten Apparatur ist ein Festbett-Rohrreaktor aus Quarz direkt in den Resonator eines X-Band-EPR-Spektrometers eingebaut. Reaktorein- und -ausgang sind an eine Edukt-Dosier-Einheit bzw. an einen Gaschromatographen zur on-line-Produktanalytik angeschlossen. Die Messung der UV/Vis-Spektren erfolgt über einen in das Katalysatorbett implementierten faseroptischen Sensor. Für die Aufnahme der Raman-Spektren wird der Laser (532 bzw. 785 nm) durch eine Öffnung in der Frontseite des EPR-Resonators direkt auf das Katalysatorbett fokussiert.

Die Methodik eignet sich hervorragend zur Untersuchung von Übergangsmetalloxid-Katalysatoren, in denen die aktiven Zentren während der Reaktion ihre Wertigkeit ändern, da EPR- und UV/Vis-Spektroskopie unterschiedliche Empfindlichkeiten für die Detektion der verschiedenen Valenzstufen von Übergangsmetallionen aufweisen und mittels Raman-Spektroskopie verschiedene Metall-Sauerstoff nachgewiesen werden können.

So konnten bei der oxidativen Dehydrierung von Propan an VO_x/TiO_2 -Trägerkatalysatoren^[15,16] VO_x -Zentren unterschiedlicher Aktivität und Stabilität identifiziert sowie bei der selektiven Oxidation von Isobutan^[17] die Struktur aktiver V-Zentren aufgeklärt werden.



Three-in-one spectroscopy

A way to monitor chemical reactions as they happen during catalysis has been developed.

Killing three birds with one stone, Angelika Brückner from the Institute for Applied Chemistry Berlin-Adlershof, Germany, combined three spectroscopic techniques to look at the same catalytic reaction, at the same time, in the same reactor. The techniques are usually used individually but this is not ideal because discrepancies can arise between the samples used and the reaction conditions. By using the three

techniques simultaneously identical conditions are guaranteed.

The complementary techniques are: electron paramagnetic resonance to tell how many unpaired electrons are in an atom; UV/vis spectroscopy which uses light from the ultraviolet and visible regions to see what electronic transitions a molecule is undergoing; and Raman spectroscopy which shows the energy state of a molecule. All of these properties are affected by an atom's oxidation state.

Brückner has high hopes for this new development. The ability to simultaneously analyse product composition is becoming increasingly important in catalysis research. *Lorna Jack*



Reference
A Brückner, *Chem. Commun.*, 2005 (DOI: 10.1039/b418790c)

Chemistry World 2
(April 2005), S. 25

^[15] A. Brückner, *Chem. Commun.*, **2005**, 13, 1761-1763.

^[16] A. Brückner, E. Kondratenko, *Catal. Today*, **2006**, 113, 16-24.

^[17] A. Brückner, G. Scholz, D. Heidemann, M. Schneider, D. Herein, U. Bentrup, M. Kant, *J. Catal.*, **2007**, 245, 369-380.

Ein Multiparallelsystem für katalytische Screeninguntersuchungen (Stoll / Thurow)

Für katalytische Druckreaktionen wurde ein roboterintegriertes Multiparallelsystem entwickelt, das die parallele Durchführung von 96 Reaktionen im Mikrotiterplattenmaßstab bei Drücken bis zu 50 bar und Temperaturen bis zu 100°C ermöglicht. Das in Abbildung 1 dargestellte Konzept basiert auf einem modularen Reaktoraufbau, dessen dezentrale Konzeption die Auslagerung von Steuerungsaufgaben in abgesetzte, funktionell zusammenhängende Einheiten beinhaltet. So besitzen die Baugruppen des

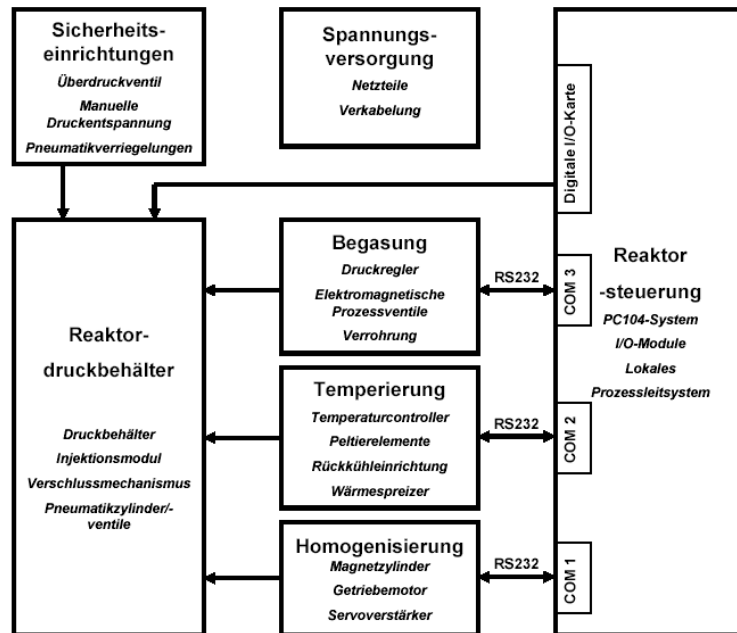


Abbildung 1: Gerätekonzept des Hochdruck-Parallelreaktors

Gasmanagementsystems (Druckregelung), der Temperierung und der Homogenisierung (Rührung) jeweils separate Controllermodule, deren Intelligenz die eigenständige Steuerung und Regelung der Baugruppen nach Übergabe der Zielparameter ermöglicht und die Belastung des zentralen Steuerrechners erheblich minimiert.

Zum Betrieb des Reaktors bedarf es lediglich eines 230V/50Hz Elektroenergieanschlusses sowie der Bereitstellung der laborüblichen Versorgung mit Druckluft, Vakuum, Inertgas und Reaktionsgas. Zusätzliche externe Systeme wie Umlaufthermostaten sind nicht erforderlich.

Als Reaktionsgefäß kommt eine Glasmikrotiterplatte (Zinsser Analytik) zum Einsatz, die 96 Kavitäten mit einem Volumen von je 530 µl besitzt. Die erforderliche Dichtigkeit (und somit die Vermeidung von Querkontaminationen) wird durch den Einsatz einer Dichtmatte aus Santoprene gewährleistet.

Der Druckbehälter stellt die zentrale Baugruppe des Reaktorsystems dar und ermöglicht durch seine spezielle Form die Aufnahme der MTP. Die angestrebte Roboterintegration des Systems wird durch die Zweiteilung des Behälters in einen beweglichen Deckel und ein statisches Unterteil sichergestellt. Die Abdichtung des Deckels im Behälterunterteil erfolgt mit Hilfe eines O-Ringes, dessen Dichtwirkung auf der Verpressung zwischen Deckel und Unterteil sowie seiner zusätzlichen Verformung durch den Innendruck beruht^[18].

Die Homogenisierung der Reagenzien wird durch den Einsatz eines Rührsystems auf Basis eines veränderlichen äußeren Magnetfeldes realisiert, das Rührgeschwindigkeiten von bis zu 500 Umin⁻¹ ermöglicht^[19,20]. Die Temperierung des Reaktionsbehälters erfolgt in einem Temperaturbereich von 0°C bis 100°C mit Hilfe von sechs Peltierelementen. Die dem Behälter entzogene Wärmeenergie wird durch ein integriertes Rückkühlsystem an die Umgebung abgeführt. Der Vergrößerung der Wärmeübergangsfläche dienen zwei speziell geformte Kupferplatten als Wärmespreizer.

^[18] B. Thier, W. H. Faragallah, *Handbuch Dichtungen*, Faragallah Verlag, Sulzbach, 1990, 89.

^[19] V&P Scientific Inc., *Patentschrift US 6176609 B1*, 2001.

^[20] P. Cleveland, *American Laboratory News Edition*, 1998, 7, 10.

Der Einsatz von Reaktionsgas (Wasserstoff oder Kohlenmonoxid) setzt ein effektives und sicheres Gasmanagementsystem voraus. Es muss Inertbedingungen bis zur Beaufschlagung mit dem Reaktionsgas sowie dessen sichere Handhabung gewährleisten. Mit dem integrierten Gasmanagementsystem können Reaktionsgasdrücke bis 50 bar_a erreicht werden. Die Verwendung eines digitalen Druckreglers mit adaptiertem Regelventil ermöglicht einen kontinuierlichen Druckanstieg im Behälter ohne Druckschläge. Die Gewährleistung der Funktionalität erfordert darüber hinaus die Sicherstellung einer Vakuumversorgung. Die Mediendrucke können separat kontrolliert werden.

Als zentrale Reaktorsteuerung, die mit allen Baugruppen des dezentralen Systems kommuniziert sowie ihre Sensoren und Aktoren bedient, wird ein PC104-System verwendet.^[21] Es unterstützt mit Hilfe der installierten Software den stand-alone als auch den roboterintegrierten Betrieb des Systems.

Bei der Konzeption der Reaktorsteuerung stand, neben der Integration der geforderten Betriebsmodi, vor allem die Flexibilität der Software in Bezug auf ihre Erweiterbarkeit und ihre Übertragbarkeit auf zukünftige Geräteplattformen im Vordergrund. Das in drei Ebenen gegliederte Steuerungskonzept erfüllt diese Forderungen auf Grund seines modularen Aufbaus und der klaren Strukturierung in Anpassung an die konkreten Aufgaben. Die Steuerung des Ablaufs basiert auf einer zuvor mit dem Leitsystem erstellten Methode. Der Betrieb des Reaktors in einem übergeordneten System wird durch die Auswahl und den Start einer Methode aus dem zur Verfügung stehenden Methodenpool realisiert.

Zur Dateneingabe und -visualisierung steht eine graphische Oberfläche zur Verfügung. Neben der Anzeige der Versuche des aktuellen Experiments mit Angabe der Parameter, unterstützt die Software auch die Überwachung der Reaktion. Hierzu werden die aktuellen Werte von Druck, Temperatur und Rührerdrehzahl angezeigt. Darüber hinaus kann der Bearbeitungsfortschritt der Versuche kontrolliert werden.

Der Multiparallelreaktor HPMR 50-96 stellt eine wesentliche Weiterentwicklung im Bereich der Reaktionstechnik für chemische Applikationen dar. Aufgrund seines konstruktiven Aufbaus sowie des modularen Aufbaus und der Strukturierung der Steuersoftware kann er sowohl im stand-alone-Betrieb als auch als integrierte Komponente in komplexeren, roboterunterstützten Laborautomationssystemen betrieben werden. Die applikative Ausrichtung ist nicht auf die Durchführung katalytischer Hochdruckreaktionen beschränkt; das System kann vielmehr für unterschiedliche Aufgaben in den Bereichen Syntheseoptimierung oder kombinatorische Chemie eingesetzt werden.

Die Erweiterung auf die parallele Verarbeitung von bis zu 384 Proben sowie eine Erhöhung des möglichen Druckbereiches sind zukünftige Forschungsaufgaben.



Abbildung 2: Multiparallelreaktorsystem roboterintegriert.

^[21] H. J. Blank, *Das Embedded PC Handbuch*, Franzis Verlag GmbH, Poing, 2000, 66.

Algorithmierung und automatisierte Datenauswertung für die hochauflösende und ultrahochauflösende Massenspektrometrie (Thurow / Stoll)

Die Entwicklungen auf dem Gebiet der Massenspektrometrie in den letzten drei bis vier Dekaden sind durch eine zunehmende Automatisierung und einen signifikanten Anstieg der instrumentellen Auflösung im Massenbereich gekennzeichnet. Die Auswertung der massenspektrometrischen Daten zur chemischen Charakterisierung erzeugter Verbindungen ist mit den herkömmlichen Verfahren zeitaufwändig und stellt zurzeit den limitierenden Faktor bei der Steigerung der Durchsatzrate dar.

Im Rahmen des Graduiertenkollegs wurden Algorithmen entwickelt und umgesetzt, die es, unter Ausnutzung der vorteilhaften Eigenschaften hoch- und ultrahochauflösender Massenspektrometer, ermöglichen, die anfallenden Daten automatisiert mit minimaler Interaktion des Nutzers auszuwerten.

Die bisherigen Arbeiten auf diesem Gebiet konzentrierten sich auf die kombinatorische Zuordnung von Elementarkombinationen (EK) für exakt bestimmte Massen ($\Delta m \leq \pm 5$ ppm) von Massenspektren und der Reduktion der Lösungsmenge durch Definition verschiedener Ausschlusskriterien und deren Umsetzung in entsprechende Filter^[22]. Einen viel versprechenden Ansatz stellt hierbei auch die Auswertung spektraler Isotopenmuster dar. Das massenspektrometrisch ermittelbare Isotopenmuster einer Verbindung resultiert aus den relativen Auftretswahrscheinlichkeiten der enthaltenden Elemente und deren Anzahl und ist deshalb eng mit der EK einer Verbindung korreliert. Die Auswertung der spektralen Isotopenmuster nach dem „Pattern Matching“ Verfahren erfolgt nach der kombinatorischen Zuordnung möglicher EK für einen Peak eines Massenspektrums durch Simulation der theoretischen Isotopenmuster für alle dem Peak zugeordneten EK und anschließenden Vergleich des theoretisch berechneten Musters mit dem experimentellen Muster.

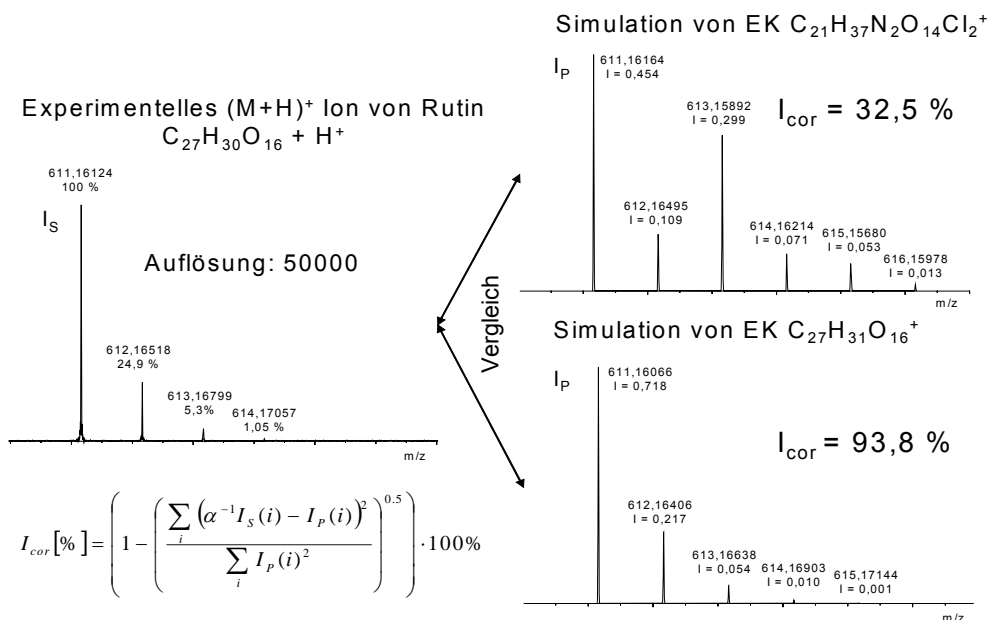


Abbildung 1: Prinzip des Muster Vergleichs („Pattern Matching“) bei der Isotopenmuster Analyse. Links ist ein Ausschnitt eines experimentellen Spektrums abgebildet, der das Isotopenmuster des Molekülions (M+H)⁺ der untersuchten Substanz Rutin zeigt. Rechts sind die simulierten Muster für zwei EK abgebildet, die der exakten Masse 611,16124 Da im Intervall von +/- 5 ppm aus den Elementen C, H, N, O, Cl und Br zugeordnet werden können.

^[22] Dromey, R. G.; Foyster, G. T.: Calculation of Elemental Compositions from High Resolution Mass Spectral Data. *Anal. Chem.*, **1980**, *52*, 394-398.

Der entwickelte Algorithmus zur Simulation theoretischer Isotopenmuster erzeugt alle möglichen Isotopenkonfigurationen einer EK inklusive deren relativer Auftretswahrscheinlichkeiten (Intensitäten) und deren exakter Massen. Die Berücksichtigung der jeweils intensivsten Isotopenkonfiguration pro Massenpeak ist für kleine Moleküle hinreichend genau, bei denen die relative Intensität eines Isotopenpeaks hauptsächlich durch ein Element bestimmt wird. Sie führt aber mit ansteigender Molekülgröße zu einer zunehmenden Verzerrung des berechneten Musters und schränkt dadurch die Vergleichbarkeit der Muster ein.

Aus diesem Grund wurde eine Erweiterung des Verfahrens zur Berechnung des theoretischen Isotopenmusters beliebiger EK implementiert, das eine auflösungstreue Simulation ermöglicht. Dazu wird das simulierte Isotopenmuster als eine Summe von Impulsfunktionen mit der Höhe P_i und der Position m_i der bestimmten Isotopenkonfigurationen i aufgefasst.

$$IP(m) = \sum_i P_i \delta(m - m_i) = P_1 \delta(m - m_1) + P_2 \delta(m - m_2) + \dots$$

Dieses Strichspektrum beschreibt die theoretische spektrale Darstellung des Isotopenmusters in einem Massenspektrum mit unendlicher Auflösung. Jeder Summand des Musters wird mit einer dem Instrument entsprechenden Hüll- oder „Peak Shape“ Funktion überlagert. Die für ein Ion bestimmten Massenwerte sind, unabhängig vom eingesetzten Analysortyp, bei einer ausreichenden Anzahl an Messwerten (Ionen) um den realen Wert normal verteilt angeordnet.

Für die Computergestützte Berechnung des Isotopenmusters ist es erforderlich, den relevanten Massenbereich auf eine endliche Anzahl von Datenpunkten j abzubilden. Dazu wird die Anzahl der Punkte w festgelegt, mit der ein Peak im Bereich $\Delta m_{50\%}$, also der Spitze eines Peaks, diskretisiert werden soll. Für eine akkurate Abbildung des gesamten Peaks sind im Allgemeinen 20 Punkte ausreichend und damit genügen ca. $w = 10$ Datenpunkte für den Bereich der Peakspitze um $\pm \Delta m_{50\%} / 2$. Der für die Berechnung relevante Massenbereich eines Musters wird durch die leichteste (m_{\min}) und die schwerste (m_{\max}) Isotopenkonfiguration bestimmt. Die Anzahl der Datenpunkte NP berechnet sich dann zu $NP = (\text{int})((m_{\max} - m_{\min}) / \Delta m_{50\%} * w)$ und die lineare Abbildung der Datenpunkte j auf den Massenbereich erfolgt nach der Gleichung:

$$m(j) = m_{\min} + j(m_{\max} - m_{\min}) / (NP - 1) \quad \text{Gl.1}$$

Die Berechnung der Hüllkurve einer Isotopenkonfiguration kann auf einen kleinen Bereich um ihr globales Maximum (m_i) beschränkt werden. Im Intervall von $\pm 10 * \sigma$ um die Masse m_i fällt die Gaußfunktion auf den $\exp(-100) = 3.72 * 10^{-44}$ -ten Teil der maximalen Peakintensität P_i und wird damit vernachlässigbar klein^[23].

Der berechnete Intensitätsverlauf ($j, I(j)$) einer einzelnen Isotopenkonfiguration wird anschließend zum resultierenden Muster addiert. Dieser Vorgang wird sukzessive für alle Isotopenkonfigurationen wiederholt. Das resultierende Muster ergibt sich aus der additiven Überlagerung der separaten Intensitätsverläufe der einzelnen Isotopenkonfigurationen.

^[23] a) R. C. Werlen, Effect of Resolution on the Shape of Mass Spectra of Proteins: Some Theoretical Considerations. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1994**, *8*, 976-980.

b) N. Stoll, E. Schmidt, K. Thurow, Isotope Pattern Evaluation for the Reduction of Compositons Assigned to High Resolution Mass Spectral Data from Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2006**, 1692-1699.

Automatische Volumenbestimmung für Nanodosiersysteme auf Basis der Piezotechnologie (Stoll / Thurow)

Die zunehmende Miniaturisierung im Bereich der Automation biologischer und chemischer Screeningverfahren führt u.a. auch zur Forderung nach der genauen Dosierung immer kleinerer Volumina unterschiedlichster Lösungen. Eine geeignete Methode für die Erzeugung sehr kleiner Flüssigkeitstropfen zwischen 50 pl und 500 pl ist die Drop-on-Demand-Technologie. Die hohe Reproduzierbarkeit des Verfahrens ist nur unter konstanten Bedingungen gegeben. Das Tropfenvolumen hängt von den Dosierparametern, der Flüssigkeit und der verwendeten Nozzle ab. Für die Anwendung dieser Technologie im Bereich der Laborautomation ist die Frage der Bestimmung des Tropfenvolumens von entscheidender Bedeutung. Klassische Verfahren der Volumenmessung eignen sich nicht für den konkreten Anwendungsfall, da sie keine zeitnahe Messung ermöglichen. Die Verfahren aus der Partikelmesstechnik eignen sich für eine sehr präzise automatisierte Messung des Tropfenvolumens in Echtzeit. Es handelt sich jedoch dabei um sehr aufwändige Messtechnik, welche für die Integration in kommerzielle Geräte unter Umständen einen nicht vertretbaren Aufwand darstellt.^[24,25,26]

Im Rahmen einer Promotionsarbeit wurde ein Verfahren zur automatischen Bestimmung des Tropfenvolumens bei Verwendung unterschiedlichster Lösungsmittel entwickelt.

Grundlage für die Bestimmung des Tropfenvolumens ist die Erfassung des Dosiervorgangs. Im Einzelnen sind dabei die Präsenz von Tropfen, eine Positionsbestimmung, der Zeitindex sowie das Volumen des Tropfens von Interesse. Die Einspeisung des Kamerabilds in die Dosiersoftware erfolgt in digitalisierter Form. Die synchrone Auslösung des Stroboskops mit Ansteuerung des Piezokristalls liefert bei kontinuierlichem Betrieb ein Bild von sich überlagernden Tropfen²⁷.

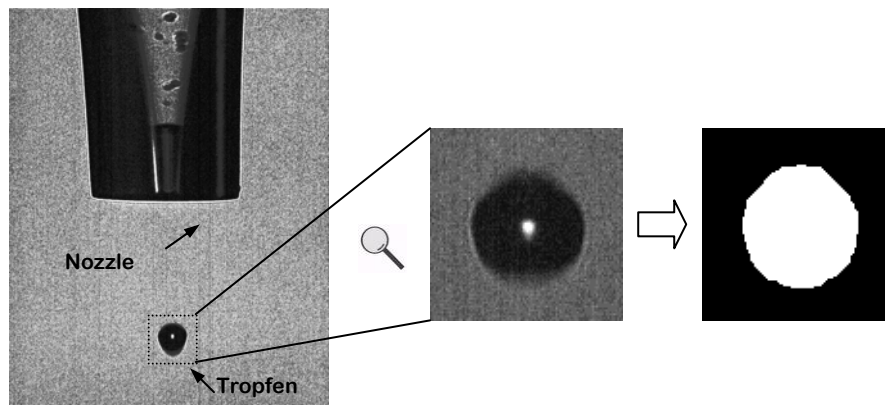


Abbildung 1: Extraktion des Tropfens aus dem Kamerabild

Mithilfe von Bildverarbeitungsalgorithmen werden aus dem erzeugten Bild des Visualisierungssystems die Daten des Tropfens gewonnen. Die eigentliche Bestimmung der Tropfenparameter setzt die optimale Fokussierung des Tropfens voraus. Die Tropfenbestimmung erfolgt in den folgenden Teilschritten:

^[24] G. Porter, *American Biotechnology Laboratory* **2006**, 20, 71-72.

^[25] P. Cooley, D. Wallace, B. Antohe, *JALA - Journal of the Association for Laboratory Automation*, **2002**, 7, 33-39.

^[26] A. V. Lemmo, D. J. Rose, T. C. Tisone, *Current Opinion in Biotechnology* **1998**, 9, 615-617.

^[27] H. M. Dong, W. W. Carr, J. F. Morris, *Review of Scientific Instruments*, **2006**, 77, 85-93.

- Isolation der „Region of Interest“: Festlegung des Bereiches, in dem nach einem Tropfen untersucht wird.
- Erstellung des Binärbildes: bestehend aus den Pixelwerten von 0 für schwarz und 255 für weiß.
- Präparation der Tropfenkontur: Glättung der unscharfen Ränder der Konturen des Binärbildes und Eliminierung einzelner störender Pixel über morphologische Operationen.
- Filterung der verbleibenden Konturen: Einzelne Konturen, die nicht den Tropfen darstellen, müssen gefiltert werden.
- Projektion der Tropfenerkennung in das Kamerabild: Visualisierung der Bilderkennung im Originalbild für den Benutzer.

Um aus der zweidimensionalen Tropfenkontur einen dreidimensionalen Körper zu berechnen, wurde eine Methode verwendet, die von der Annahme einer rotationssymmetrischen Gestalt des Tropfens in Flugrichtung ausgeht. Für die Volumenberechnung des Rotationskörpers wird die Kontur in senkrecht zur Symmetrieachse verlaufende Streifen mit der Dicke eines Pixels geschnitten. Aus diesen Streifen erfolgt anschließend die Berechnung von Scheiben gleicher Dicke. Danach werden die Volumina der einzelnen Scheiben aufsummiert. Das Resultat dieser Summierung entspricht dem Volumen des Tropfens. Das berechnete Volumen liegt in der Einheit Voxel (Pixel^3) vor. Für die weitere Verwendung erfolgt die Umwandlung in Pikoliter mithilfe der Kennwerte des optischen Systems.^[28]

Für die praktische Testung des entwickelten Verfahrens wurden Messreihen für Wasser, DMSO und NMP durchgeführt. Die Messungen erfolgten sowohl optisch als auch gravimetrisch. Die Dosierparameter wurden so abgestimmt, dass eine stabile Tropfenbildung erfolgt. Als Dosierfrequenz wurde stets 500 Hz verwendet.^[29]

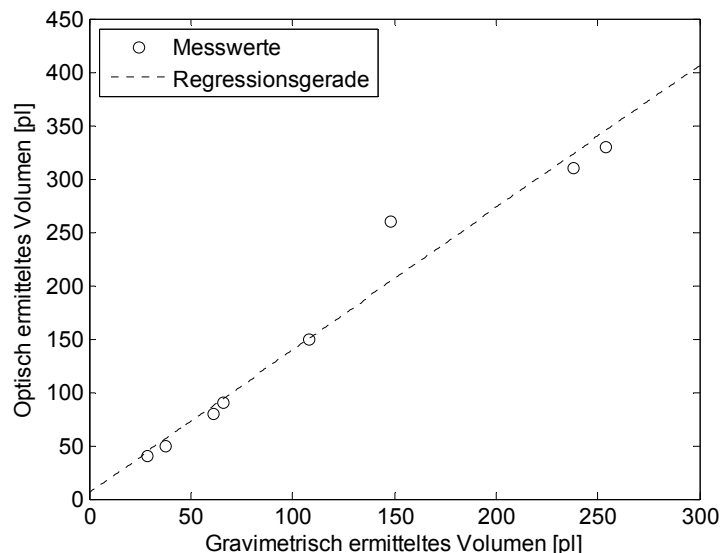


Abbildung 2: Diagramm der Messergebnisse mit Regressionsgerade

Im Ergebnis zeigte sich, dass das gemessene Volumen der Bildverarbeitung größer ist als das der gravimetrischen Bestimmung. Dieser systematische Fehler ist anhängig von der Belichtungszeit, der Bildrate der Kamera und der Frequenz von Tropfenerzeugung. In einem

^[28] G. J. Awcock, R. Thomas, *Applied image processing*, McGraw-Hill, 1995.

^[29] J. Burgold, F. Weise, M. Fischer, G. Schlingloff, T. Henkel, J. Albert, G. Mayer, A. Schober, *Macromolecular Rapid Communications*, 2005, 26, 265-280.

Bereich mit konstanter Beleuchtung und konstanter Dosierfrequenz bleibt der systematische Fehler ebenfalls konstant. Für die verwendete Tropfenfrequenz von 500 Hz mit einer Bildrate von 30 Bildern pro Sekunde ist das optisch ermittelte Volumen um den Faktor 1,35 größer; die Messunsicherheit beträgt ca. $\pm 8\%$.