

CHROMATOGRAPHISCHE EIGENSCHAFTEN VON KIESELGELEN UNTERSCHIEDLICHER POREN-STRUKTUR

H. HALPAAP UND K. KLATYK

Chemische Forschung, E. Merck AG, Darmstadt (Deutschland)

SUMMARY

Chromatographic properties of silica gels with different pore structures

Separations of polystyrenes and steroids on silica gels with pore diameters of 10 Å, to 1000 Å by adsorption respectively partition chromatography and by means of the molecular sieve effect, on columns and layers are described and discussed. The use of silica gels of various pore sizes offers the possibility of new separation effects.

Die für das chromatographische Verhalten wichtigen Eigenschaften eines Kieselgels werden einerseits von der Struktur der festen Gerüstsubstanz Siliciumdioxid, andererseits von der Struktur des Hohlraumsystems bestimmt¹⁻⁵. Die chemische Funktion der Oberfläche beruht auf den Strukturelementen der Polysiliciumsäure, also der tetraedrischen Koordination der Sauerstoffatome um das Siliciumatom, den Siloxanbrücken und den Silanol-Endgruppen, während die Molekularsiebfunktion auf den Wirkungen des Kapillarsystems zwischen den Körnern und dem Hohlraumsystem in den Körnern beruht⁵.

Die chromatographischen Anwendungsmöglichkeiten zur Trennung von niedermolekularen Substanzen auf Grund chemischer Bindungen an der Oberfläche des Kieselgels sind allgemein bekannt. Untersuchungen über die Trennwirkung des Hohlraumsystems vorwiegend an hochmolekularen Stoffen sind vereinzelt säulenchromatographisch durchgeführt worden⁶⁻¹², während Trennungen von niedermolekularen Substanzen an Kieselgelen mit unterschiedlichen Hohlraumstrukturen¹³ und von hochmolekularen Stoffen durch Bindungskräfte der Oberfläche bisher wenig erforscht sind. Auch die Übertragung der gelchromatographischen Trennung von hochmolekularen Verbindungen von der Kieselgelsäule auf die Kieselgelplatte ist bisher nicht beschrieben worden.

Für unsere Untersuchungen wurden Kieselgele mit systematisch abgeänderten Hohlraumstrukturen in unterschiedlichen Korngrößen für Säulen- und Dünnschichtchromatographie eingesetzt. Als charakteristische Größen für die Gerüstsubstanz gelten der mittlere Durchmesser der Primärteilchen und die Zahl der oberflächenständigen (SiOH)-Gruppen pro Flächeneinheit. In Tabelle I sind weitere, für die Hohlraumstruktur der Kieselgele bezeichnende Kennzahlen, wie Porenvolumen, spez. Oberfläche und mittlerer Porendurchmesser angegeben. Das Porenvolumen V_p (in ml/g) wurde nach MOTT LAU UND FISHER¹⁴ bestimmt, die spez. Oberfläche O_{sp} (in

TABELLE I

KENNZAHLEN VON KIESELGELEN UNTERSCHIEDLICHER STRUKTUREIGENSCHAFTEN

| Poren- volumen | Oberfläche | | | Poren- durch- messer (Å) |
|-------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | Methode | BET-Methode | | |
| | Sears Fisher, Mottlau (ml/g) | Getrocknet (m ² /g) | Luftfeucht (m ² /g) | |
| 0.23 | 990 | — | — | 9 |
| 0.40 | 720 | — | — | 22 |
| 0.76 | 560 | 502 | 326 | 54 |
| 0.81 | 196 | 173 | 128 | 165 |
| 0.78 | 69 | 52 | 38 | 452 |
| 0.70 | 28 | 23 | 19 | 1000 |

m²/g) wurde nach dem Näherungsverfahren von SEARS¹⁶ ermittelt. Aus beiden Daten wurde unter Annahme von zylindrischen Poren ein mittlerer Porendurchmesser $D = 4 V_p / O_{sp}$ errechnet¹⁶. Die spez. Oberfläche wurde noch zusätzlich nach der BET-Methode¹⁷ bestimmt, die auf der Messung der monomolekularen Belegung der Oberfläche mit Stickstoff aus Adsorptionsisothermen beruht. Dabei wurde nicht nur in trockenem Zustand, sondern in Angleichung an die Normalbedingungen der Dünnschichtchromatographie auch in luftfeuchter Atmosphäre gemessen. Auftretende Unterschiede der drei nach verschiedenen Verfahren ermittelten Oberflächenwerte sind verständlich.

In Fig. 1 sind die Porenverteilungsfunktionen der drei weitporigsten Kieselgele von 1000 Å Porendurchmesser (0324), von 450 Å (0326) und von 165 Å (0325) dargestellt. Sie wurden nach dem Quecksilberpenetrationsverfahren¹⁸ mit einem Queck-

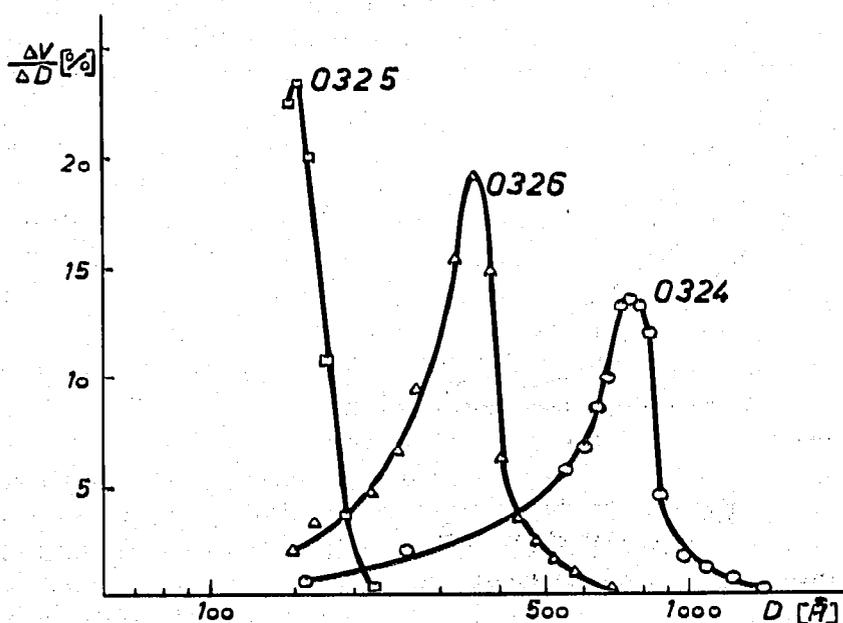


Fig. 1. Porenverteilung von Kieselgelen.

silber-Druckporosimeter* gemessen, dessen Leistungsgrenze bei 150 Å liegt. Die Maxima der drei Verteilungskurven liegen bei 750 Å (0324), bei 360 Å (0326) und bei 150 Å (0325). Bei den höheren Porendurchmessern wird ein grösserer Bereich überstrichen als bei den niederen; so reicht das Porenspektrum des Kieselgels mit dem Maximum bei 750 Å von etwa 1500 Å bis unter 150 Å, während das Kieselgel mit dem Maximum bei 150 Å bereits bei 220 Å deutlich seine obere Grenze erreicht hat. Es muss berücksichtigt werden, dass die Quecksilberporosimetrie jeweils die mittleren Durchmesser der Porenöffnungen erfasst unabhängig von Form und Grösse der Poren selbst. Differenzen zu den errechneten Werten für den mittleren Porendurchmesser sind erklärlich (Tabelle I).

Es wurden zunächst die Trennwirkungen der vier weitporigsten Kieselgele auf Grund ihrer unterschiedlichen Hohlraumstrukturen säulenchromatographisch an Polystyrolen überprüft. Die Versuche wurden an 50 cm langen, temperierten Glas-säulen von 15 mm Durchmesser ausgeführt. Um eine gleichmässige Packung des Gels zu erreichen, wurden die Säulen mit dem in Benzol angeschlämmten Kieselgel von 100–200 μ Korngrösse unter Vibrieren gefüllt. Als Detektor diente ein Differentialrefraktometer**. Es wurden je 4 mg der Polystyrol-Standardpräparate mit Molekulargewichten von 5,000 bis 867,000 ($M_w/M_n \sim 1$)** in 0.4%iger Lösung aufgegeben; eluiert wurde mit destilliertem, getrocknetem Benzol.

In Fig. 2 sind die Versuchsergebnisse aufgezeichnet, wobei für jedes der Kieselgele die Elutionsvolumina V_e der einzelnen Polystyrole gegen den Logarithmus des zugehörigen Molekulargewichtes aufgetragen sind¹². Als Elutionsvolumen gilt dabei die Menge Lösungsmittel, die notwendig ist, um die jeweilige Probe durch die Säule zu transportieren. Aus der Darstellung erkennt man die unterschiedlichen Trennlei-

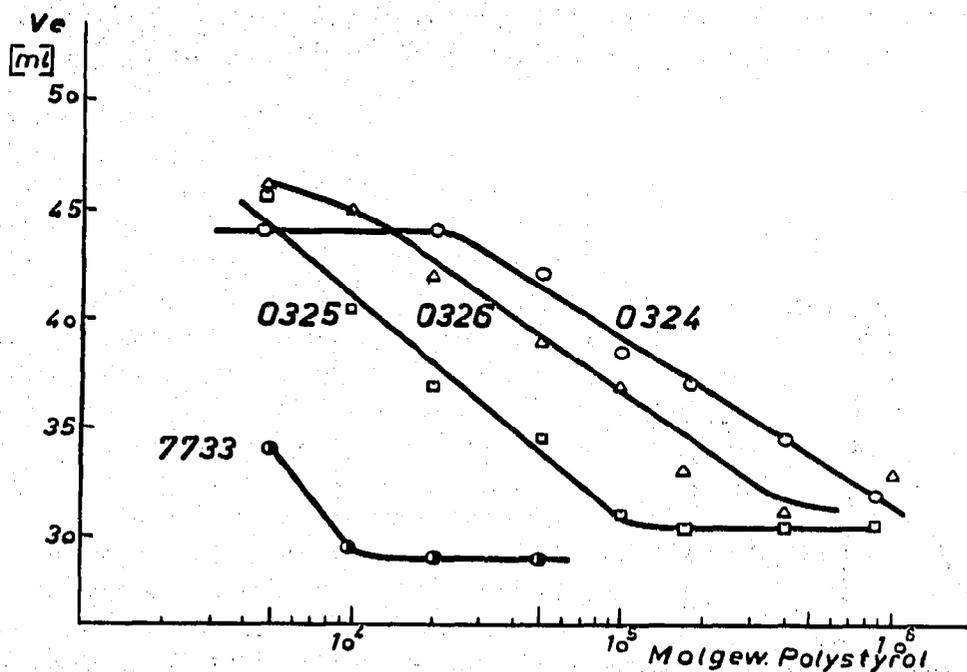


Fig. 2. Gelchromatographischer Trennbereich von Kieselgelen.

* Firma Carlo Erba, Mailand.

** Firma Waters Associater, Framingham, Mass., U.S.A.

stungen der Kieselgele. Der Molekulargewichtsbereich, in dem Polystyrole fraktio- niert werden, erstreckt sich bei dem Kieselgel von 1000 Å Porendurchmesser (0324) von $2 \cdot 10^4$ bis $> 10^6$, während für das Kieselgel von 450 Å (0326) der Trennbereich bei $4 \cdot 10^5$, für das Gel von 165 Å (0325) bei 10^5 und für das üblicherweise gebräuch- liche Gel von 50–60 Å (7733) bereits bei 10^4 Molgewichtseinheiten endet. Bei den an- gegebenen Molekulargewichtswerten wird das Porensystem für die entsprechende Polystyrol-Molekülgrösse sterisch unzugänglich, man bezeichnet diese Grösse als Ausschlussgrenze. Die ermittelten Daten (Tabelle II) stehen mit den Werten für die mittleren Porendurchmesser bzw. mit den Aussagen der Porenverteilungskurven (Fig. 1) in Einklang. Die Versuche zeigen, dass bei einer Trennung nach dem Prinzip der Gelchromatographie, die im Idealfall eine Trennung ausschliesslich nach Mole- külgrosse und -form ist, die Hohlräumstruktur der Kieselgele der ausschlaggebende Faktor ist.

TABELLE II

STRUKTURKENNZAHLEN VON VERSCHIEDENEN KIESELGELEN

| Vers.-Nr. | V_{sp} (ml/g) | O_{sp} (m ² /g) | D (Å) | Maximum $\Delta V/\Delta D$ (Å) | Gelchromato- graphische Aus- schlussgrenze für Polystyrole |
|-----------|--------------------|---------------------------------|------------|---------------------------------------|---|
| 7733 | 0.76 | 560 | 54 | — | 10^4 |
| 0325 | 0.81 | 196 | 165 | 155 | 10^5 |
| 0326 | 0.78 | 69 | 450 | 360 | $4 \cdot 10^5$ |
| 0324 | 0.70 | 28 | 1000 | 750 | $> 10^6$ |

Bei dem Versuch, unter Anwendung der gleichen Kieselgele sowie zweier weiterer, engporiger Proben die an der Säule gewonnenen Ergebnisse auf die Schicht zu übertragen, erzielten wir Resultate, die mit dem Prinzip einer Molekularsiebwirkung nicht zu erklären sind. In Fig. 3 sind die an den Kieselgelproben von 9 Å–1000 Å Porendurchmesser ermittelten R_F -Werte der acht Polystyrole (Molekulargewichte zwischen 5,000 und 867,000) als Kurven wiedergegeben. Die Dünnschichtplatten wurden unter Zusatz von 10% Gips und einem Fluoreszenzindikator hergestellt und nach dem Trocknen in luftfeuchtem Zustand eingesetzt; Cyclohexan–Benzol (40:60) dienten als Fliessmittel. Es wurden gleiche Versuchsbedingungen eingehalten. Unter- schiede ergaben sich nur in den Laufzeiten; diese waren bei den Kieselgelen von 450 Å und von 1000 Å um das 1.8- bzw. 2.5-fache zu den übrigen verlängert.

Bei allen Kieselgelen zeigte sich eine deutliche R_F -Wert-Abstufung, die Poly- styrole mit kleineren Mol.gewichten ergaben höhere Laufstrecken als die mit grösse- ren. Unter den angegebenen Versuchsbedingungen muss daher die Trennung der Polystyrole vorwiegend als Adsorptions- bzw. Verteilungsvorgang betrachtet werden. Auffällig ist die sehr geringe Bindung selbst der hochmolekularen Polystyrole an dem engporigen Kieselgel von 9 Å. Mit Ausnahme der Proben von 9 Å und von 1000 Å zeigen die übrigen Kieselgele R_F -Wert-Kurven, die mit zunehmendem Molekular- gewicht zunächst stark abfallen, um sich dann fast parallel zur Abszisse zu bewegen. Aus dem Verlauf dieser Kurven, die denen der Elutionsvolumen/Molgewichtsbe- ziehungen (Fig. 2) ähneln, lassen sich die Bindungsgrenzen der Polystyrole an den

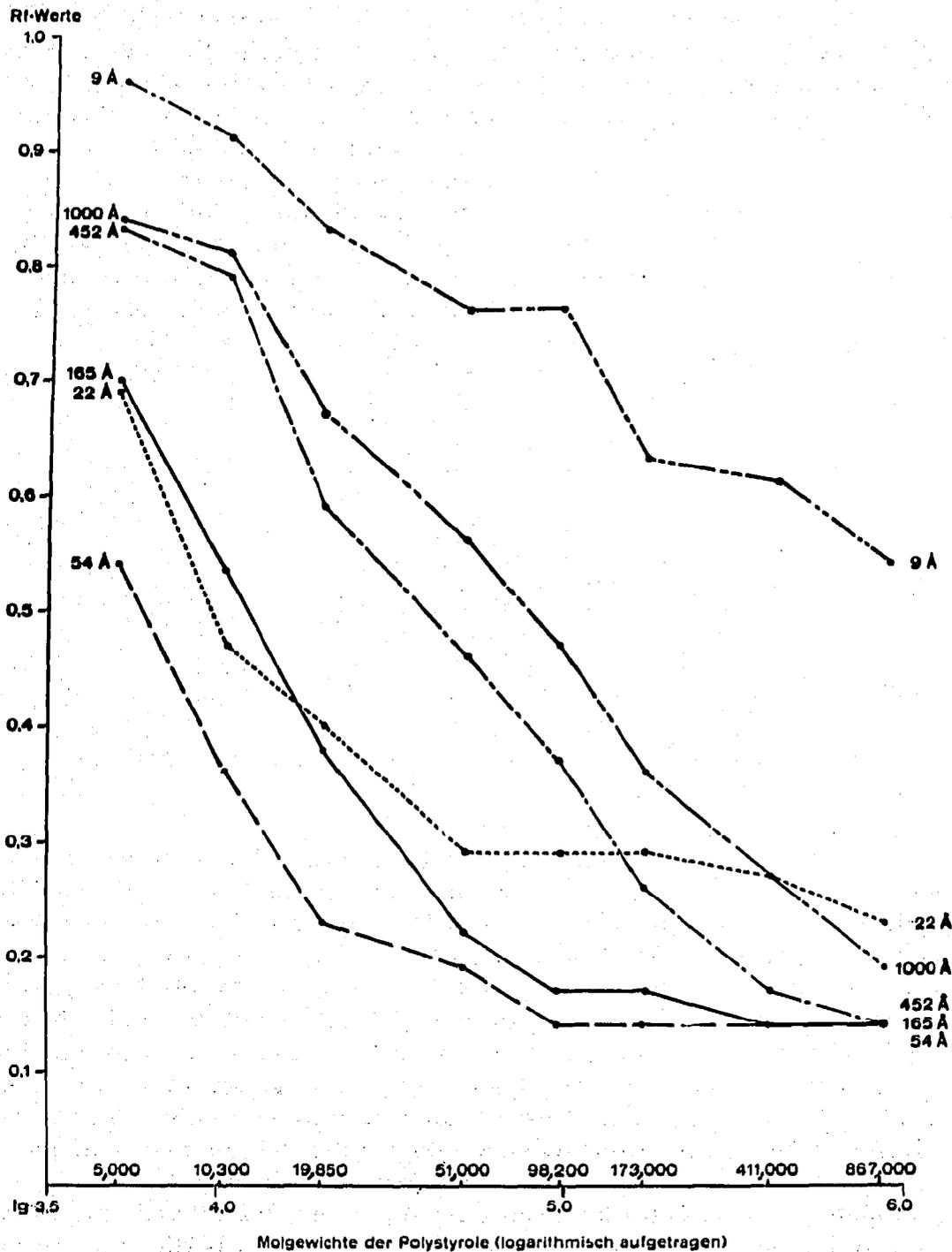


Fig. 3. Dünnschichtchromatographie von Polystyrolen an Kieselgelen unterschiedlicher Struktureigenschaften. Fließmittel: Cyclohexan-Benzol (40:60).

einzelnen Kieselgelen ermitteln. Diese steigen von dem 22 Å Kieselgel bis zu dem 1000 Å Kieselgel an, sind aber besonders hoch bei dem engporigsten Material von 9 Å.

In Tabelle III sind die Zahlenwerte dieser Bindungsgrenzen angeführt, sie geben den Molekulargewichtsbereich an, bis zu welchem Polystyrole fraktioniert werden können. Aus der weitgehenden Übereinstimmung dieser Zahlen mit den

TABELLE III

DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE VON POLYSTYROLEN AN KIESELGELEN UNTERSCHIEDLICHER STRUKTUREIGENSCHAFTEN

Fließmittel: Cyclohexan-Benzol (40:60).

I. Mittlere R_F -Werte der Polystyrole

| Molgewichte der Polystyrole | Porendurchmesser der Kieselgele (Å) | | | | | |
|-----------------------------|-------------------------------------|------|------|------|------|------|
| | 9 | 22 | 54 | 165 | 452 | 1000 |
| 5,000 | 0.96 | 0.69 | 0.54 | 0.70 | 0.83 | 0.84 |
| 10,300 | 0.91 | 0.47 | 0.36 | 0.54 | 0.79 | 0.81 |
| 19,850 | 0.83 | 0.40 | 0.23 | 0.38 | 0.59 | 0.67 |
| 51,000 | 0.76 | 0.29 | 0.19 | 0.22 | 0.46 | 0.56 |
| 98,200 | 0.76 | 0.29 | 0.14 | 0.17 | 0.37 | 0.47 |
| 173,000 | 0.63 | 0.29 | 0.14 | 0.17 | 0.26 | 0.36 |
| 411,000 | 0.61 | 0.27 | 0.14 | 0.14 | 0.17 | 0.27 |
| 867,000 | 0.54 | 0.23 | 0.14 | 0.14 | 0.14 | 0.19 |

II. Berechnete Bindungsgrenzen der Polystyrole

| Porendurchmesser der Kieselgele (Å) | 9 | 22 | 54 | 165 | 452 | 1000 |
|-------------------------------------|---------------------|--------|--------|--------|---------|------------------|
| Molgewichte der Polystyrole | [>10 ⁸] | 18,000 | 32,000 | 74,000 | 330,000 | >10 ⁶ |

Werten der Ausschlussgrenzen bei der Gelchromatographie (Tabelle II) muss man schliessen, dass die beschriebene Trennung der Polystyrole adsorptions- bzw. verteilungschromatographisch im Hohlräumssystem der Kieselgele erfolgt. Eine Ausnahme bildet nur das sehr engporige 9 Å Kieselgel mit seiner Trennung im Kapillar-

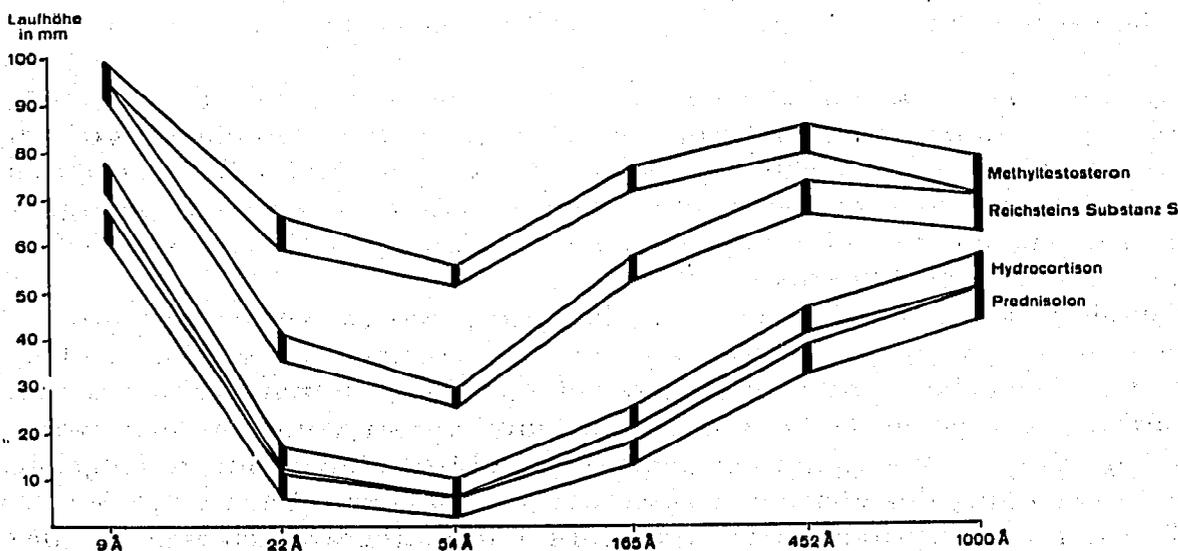


Fig. 4. Dünnschichtchromatographie von einigen Steroiden an Kieselgelen unterschiedlicher Struktureigenschaften. Jeweils gleiche Auftragsmengen des Steroidgemisches. Fließmittel: Chloroform-Methanol (95:5).

TABELLE IV

SÄULENCHROMATOGRAPHISCHE TRENNUNGEN VON POLYSTYROLEN

Sorptionsmittel: Kieselgel 165 Å Porendurchmesser, 0.2–0.5 mm Korngrösse.

Säulenfüllung: in dem betr. Elutionsmittel suspendiertes Kieselgel 75 cm Höhe, 1.5 cm Durchmesser.

Aufgegebenes Substanzgemisch: 60 mg einer Mischung gleicher Mengen von Polystyrolen der Molgewichte 5,000, 19,850, 411,000 in Lösung.

Fraktionsabnahme: automatisch.

Überprüfung der Fraktionen: durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 165 Å Porendurchmesser + 10% Gips.

Fließmittel: Cyclohexan-Benzol (40:60).

| Elutionsmittel | Durchfluss- geschwindig- keit (ml/Min.) | Volumen der Einzelfrak- tionen (ml) | Trennung | |
|--|--|--|------------------|--------------------------------|
| | | | Fraktionen | Molgewichte der Polystyrole |
| Chloroform | 0.5 | 2 | 26–32 | 411,000 |
| | | | 33–36 | 19,850 |
| | | | 37–43 | 5,000 |
| Chloroform | 4 | 2 | 25–32 | 411,000 |
| | | | 33–43 | 19,850 |
| | | | 44–50 | 5,000 |
| Benzol | 1.5 | 3 | 12–15 | 411,000 |
| | | | 16–18 | 19,850 |
| | | | 19–23 | 5,000 |
| Cyclohexan-Benzol (20:80) | 1.5 | 3 | 14–17 | 411,000 |
| | | | 18–22 | 19,850 |
| | | | 23–28 | 5,000 |
| (a) Cyclohexan-Benzol (40:60) bis Fraktion 16 | 1 | 2 | 1–2 | 5,000 |
| | | | 3–6 | 19,850 |
| (b) Benzol ab Fraktion 17 | | | 17–25 Gemisch | 411,000 |

system zwischen den Körnern, das die Eigenschaften eines sehr weiten Hohlräum-system hat.

Aus Fig. 4 ist zu entnehmen, dass sich die Porengrösse der verwendeten Kieselgele auch auf die Trennung niedermolekularer Substanzen, wie Steroide auswirkt¹³. Das üblicherweise benutzte Kieselgel von 50–60 Å Porendurchmesser zeigt dabei ein Maximum an Adsorptionsvermögen. Bemerkenswert sind die guten Trennergebnisse an den übrigen, im Porendurchmesser engeren als auch weiteren Kieselgelen mit Ausnahme des 1000 Å Materials.

Aus Tabelle IV ist ersichtlich, dass sich die adsorptiv-bzw. verteilungschromatographische Trennung von Polystyrolen von der Schicht auch auf die Säule übertragen lässt. Die Versuche wurden mit Kieselgel von 165 Å Porendurchmesser an einer Säulenfüllung von 75 cm Höhe und 15 mm Durchmesser vorgenommen, wobei 60 mg einer aus drei Komponenten bestehenden Polystyrolmischung aufgegeben wurden. Bei Verwendung des gleichen Fließmittels Cyclohexan-Benzol (40:60) erfolgte die Trennung adsorptions- bzw. verteilungschromatographisch wie bei der Dünnschichtchromatographie, wobei das höchstmolekulare Polystyrol von 411,000 übereinstimmend mit der Bindungsgrenze des angewandten Kieselgels von etwa 75,000 zunächst adsorbiert blieb. Lösungsmittel wie Chloroform, Benzol oder auch

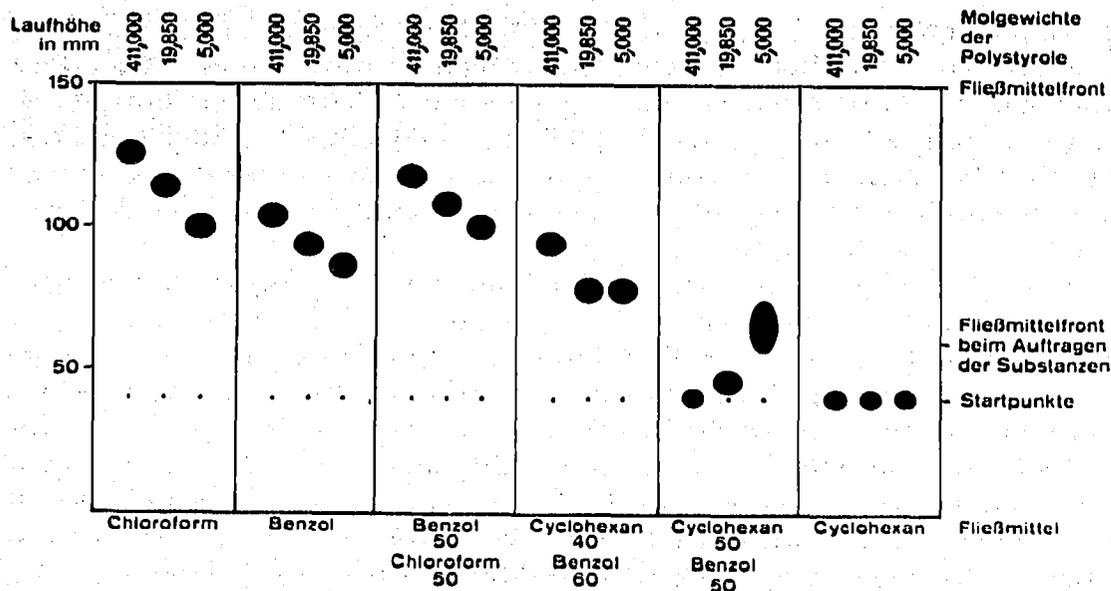


Fig. 5. Dünnschichtchromatographische Trennung von Polystyrolen an vorgesättigten Schichten. Sorptionsmittel: Kieselgel mit 165 Å Porendurchmesser und 0.08 mm Korngrösse. Methode: aufsteigend, 30°, Kammersättigung, Vorentwicklung mit dem betr. Fließmittel bis 6 cm, dann Auftragen der drei Polystyrollösungen in 4 cm Höhe im Entwicklungsgefäß.

Cyclohexan-Benzol (20:80) trennten die Polystyrole dagegen in umgekehrter Reihenfolge nach dem Molekularsiebeffekt.

Eine Übertragung der gelochromatographischen Trennmethode von der Kieselgelsäule auf die Platte liess sich an vorgesättigten Schichten erreichen. Dazu wurde an den mit Kieselgel von 165 Å beschichteten Platten aufsteigend im Winkel von 30°

TABELLE V

ÜBERSICHT ÜBER DIE TRENUNG VON POLYSTYROLN AN KIESELGEL 165 Å NACH VERSCHIEDENEN PRINZIPIEN

| Fließmittel Cyclohexan- Benzol | Säulenchromatographie absteigend | | Dünnschichtchromatographie vorgesättigt aufsteigend 30° | | Dünnschichtchromatographie normal aufsteigend | |
|--------------------------------------|---|---------------------------|---|---------------------------|---|---------------------------|
| | Molgewichte der Polystyrole in 10 ³ -Einheiten | Trenn- prinzip | Molgewichte der Polystyrole in 10 ³ -Einheiten | Trenn- prinzip | Molgewichte der Polystyrole in 10 ³ -Einheiten | Trenn- prinzip |
| 50:50 | ↑ [400] ↓ 20 5 | Adsorption/ Verteilung | ↑ 5 ↓ 20 400 | Adsorption/ Verteilung | ↓ 400/20/5 | Adsorption/ Verteilung |
| 40:60 | ↑ [400] ↓ 20 5 | Adsorption/ Verteilung | ↑ 400 ↓ 20/5 | Molekular- sieb | ↑ 5 ↓ 20 400 | Adsorption/ Verteilung |
| 20:80 | ↑ 5 ↓ 20 400 | Molekular- sieb | ↑ 400 ↓ 20 5 | Molekular- sieb | ↑ 5/20/400 | Adsorption/ Verteilung |
| Beweglichkeit der Polystyrole | ↑ weniger mobil ↓ stärker mobil | | ↑ stärker mobil ↓ weniger mobil | | ↑ stärker mobil ↓ weniger mobil | |

unter Kammersättigung entwickelt, wobei die Substanzlösungen erst in der Trennkammer auf die bereits vorentwickelte Platte aufgetragen wurden. Fig. 5 zeigt, dass wie bei der Säulenchromatographie die Trennung nach dem Prinzip der Gelchromatographie verläuft, wenn man Chloroform oder Benzol oder ein Gemisch beider Lösungsmittel verwendet. Erst bei Mischungen von Cyclohexan und Benzol wird mit zunehmendem Cyclohexan-Anteil der Übergang von der Gelchromatographie zur Adsorptions- bzw. Verteilungschromatographie sichtbar.

In Tabelle V sind in einer Übersicht die verschiedenen Trennprinzipien und Trennbedingungen von Polystyrolen an einem weitporigen Kieselgel von 165 Å dargestellt. Entscheidend dafür, ob die Trennung eines Polymerengemisches vorwiegend durch chemische Bindung an der Sorptionsmitteloberfläche oder auf Grund der Hohlraumstruktur erfolgen soll, ist die Wahl des Fließmittels. Zur Gelchromatographie sind nur solche Fließmittel geeignet, die bei üblicher Dünnschichtchromatographie die zu trennenden Substanzen mit an die Lösungsmittelfront nehmen. Durch Kombination eines derartigen Lösungsmittels mit einem anderen, das die Polymeren nicht aus dem Startpunkt bewegt, lassen sich Fließmittelsysteme zur Trennung der Polymeren durch Adsorption bzw. Verteilung finden. Je nach Zusammensetzung der Fließmittel können an der Säule, aber auch an einer vorgesättigten Schicht Trennungen nach beiden Prinzipien durchgeführt werden. Wegen der etwas unterschiedlichen Sättigungsverhältnisse in der Säule und in der Trennkammer muss man die Fließmittelzusammensetzung geringfügig differenzieren.

DANK

Herrn H. BAUSCH danken wir für chromatographische Mitarbeit.

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden Trennungen von Polystyrolen und von Steroiden an Kieselgelen von 10 Å bis 1000 Å Porendurchmesser nach den beiden Prinzipien Adsorption bzw. Verteilung und Molekularsiebwirkung in der Säule und auf der Schicht beschrieben und diskutiert. Die Verwendung von Kieselgelen unterschiedlicher Hohlraumstrukturen bietet neue Trenneffekte.

LITERATUR

- 1 R. K. ILER, *The Colloid Chemistry of Silica and Silicates*, Cornell University Press, Ithaca, N. Y., 1955, S. 127.
- 2 A. V. KISELEV, in D. H. EVERETT UND F. S. STONE (Herausgeber), *Structure and Properties of Porous Materials*, Butterworth, London, 1958, S. 203.
- 3 A. V. KISELEV, V. I. LYGIN, I. E. NEIMARK, I. B. SLINIAKOVA UND CHEN' VEN'-HAN, *Colloid. J. (USSR)*, 20 (1958) 47.
- 4 H. W. KOHLSCHÜTTER, A. RISCH, K. UNGER UND K. VOGEL, *Ber. Bunsenges.*, 69 (1965) 849.
- 5 H. W. KOHLSCHÜTTER UND K. UNGER, in E. STAHL (Herausgeber), *Dünnschicht-Chromatographie*, 2. Aufl., Springer, Berlin, 1967, S. 7.
- 6 M. F. VAUGHAN UND J. H. S. GREEN, *Soc. Chem. Ind. Monograph*, 17 (1965) 81.
- 7 E. K. BOGACHEVA, A. V. KISELEV, YU. S. NIKITIN UND YU. A. EL'TEKOV, *Russ. J. Phys. Chem.*, 39 (1965) 945.
- 8 H. W. KOHLSCHÜTTER, K. UNGER UND K. VOGEL, *Makromol. Chem.*, 93 (1966) 1.
- 9 K. UNGER, K. VOGEL UND H. W. KOHLSCHÜTTER, *Z. Naturforsch.*, 22 b (1967) 8.
- 10 D. MACCALLUM, *Makromol. Chem.*, 100 (1967) 117.

- 11 G. LANGHAMMER UND H. SEIDE, *Kolloid-Z.*, 216/217 (1967) 264.
- 12 A. J. DE VRIES, M. LEPAGE, R. BEAU UND C. L. GUILLEMIN, *Anal. Chem.*, 39 (1967) 935.
- 13 P. D. KLEIN, *Anal. Chem.*, 33 (1961) 1737.
- 14 A. Y. MOTT LAU UND N. E. FISHER, *Anal. Chem.*, 34 (1962) 714.
- 15 G. W. SEARS, *Anal. Chem.*, 28 (1956) 1981.
- 16 P. H. EMMET UND T. W. DE WITT, *J. Am. Chem. Soc.*, 65 (1943) 1253.
- 17 ST. BRUNAUER, P. H. EMMETT UND E. TELLER, *J. Am. Chem. Soc.*, 60 (1938) 309.
- 18 H. L. RITTER UND L. C. DRAKE, *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 17 (1945) 787.

DISCUSSION

ACKERMANN: Has it been tested whether α -Al₂O₃ prepared from different starting materials possesses different properties?

HALPAAP: No, starting material for the preparation of α -aluminium oxide has so far been only the technically important hydrargillite, obtained according to the Bayer process.

ACKERMANN: What is the behaviour of the individual preparations towards water-containing chromatographic solvents?

HALPAAP: Chromatographic behaviour towards water-containing solvents has not yet been systematically tested. We learnt, however, from comments of our customers that some differences can be demonstrated, *e.g.*, in the separation of peptides with polar solvent combinations.

GEISS: Are separation effects obtained with Al₂O₃ modifications prepared at higher temperatures not depending on adsorption? This should be so, since you have found that water effects are of no account in your experiments. Should pore diffusion be involved as in the case of Porasil®?

HALPAAP: Highly calcinated aluminium oxide contains few hydroxyl groups and binds little water adsorptively. As shown in Table II, the loss on calcination of aluminium oxide heated to 1150° amounted to 0.2% over a range of 300° to 1200°. Employing water-free solvents the separation effect should thus be based on adsorption, namely on the adsorption on a weak adsorbent, in which the highly active centres being present before the calcination, had been removed by the sintering process. The pore diffusion effect of the aluminium oxides is certainly not involved in the examples of separation of steroids having practically equal molecular weights. This effect does, however, play a role in the separation of high-molecular substances as has been explained in the example of the separation of polystyrene on silica gels of different pore diameter.

GEISS: The allegation that aluminium oxides of large surfaces (more than 100 m²/g) is so difficult to work with, because the activities are not easy to control in open layers, can no longer be maintained if climatized chambers are used. In this way, as has been already stated, fine and reproducible adjustment of the activity can be achieved. The cost is not excessive. *Cf.* also G. HESSE, *Z. Anal. Chem.* (1965).

HALPAAP: It cannot be denied that it is possible to establish certain activity grades according to BROCKMANN, if a climatized chamber is used for TLC. It seems, however, more expedient to use the respective sorption material in the state of its normal atmospheric humidity. The standardization should thus not be done by the addition of a certain proportion of water, but it should be based on true activity grades, which can solely be derived from the structure of the sorbent, as has been explained for different types of aluminium oxides and silica gels.