

CHROM. 7243

DAS VERHALTEN VON SCHWERBELADENEN TRENNSÄULEN IN DER HOCHDRUCK-FLÜSSIGCHROMATOGRAPHIE*^{**}

GERT RÖSSLER und ISTVÁN HALÁSZ

Angewandte Physikalische Chemie im Fachbereich 13 der Universität des Saarlandes, Saarbrücken (B.R.D.)

(Eingegangen am 2. Mai 1973)

SUMMARY

Heavily loaded columns in high-speed liquid chromatography

The stability and the lifetime of heavily loaded columns are determined by the pore structure of the support. If linear velocities up to 5-10 cm/sec are wanted the optimum pore diameter should not exceed 500 Å. The retentions are influenced by the support if its specific surface area is larger than 10 m²/g, especially if the samples are capable of hydrogen bonding. This influence can be reduced by chemical modification of the support. Optimum efficiency is achieved by such supports. Heavily loaded columns are well suited for semi-preparative separations, since the maximum sample size is around 10 mg per gram of a stationary liquid phase. Speedy separations can be achieved by flow programming.

EINLEITUNG

Die Anwendung der schwerbeladenen Trennsäulen sowohl in der Gas- wie auch in der Flüssigchromatographie wurde bereits mehrfach beschrieben¹⁻⁴. Als Vorteile derartiger Trennsäulen stellten sich die grosse Belastbarkeit, die hohe Peakkapazität und die hohe Stabilität gegen Veränderung der Retentionsvolumina durch Verlust an stationärer Phase heraus. Das Trägermaterial für die stationäre Flüssigkeit sollte gewisse Bedingungen hinsichtlich spezifischer Oberfläche, Porenvolumen und Porendurchmesser erfüllen⁴. Bei den bisherigen Untersuchungen waren Silikagel verschiedener Herstellung und unterschiedlicher physikalischer Eigenschaften verwendet worden. Um Einflüsse der Natur des Trägermaterials auszuschliessen, wurde bei den hier beschriebenen Untersuchungen ein einheitliches Ausgangsmaterial, nämlich Porasil, verwendet, das mit verschiedenen physikalischen Eigenschaften im Handel erhältlich ist. Hierbei konnte, bei annähernd gleichem Porenvolumen, auch der Einfluss der spezifischen Oberfläche auf das Retentionsverhalten untersucht werden. Zu Vergleichszwecken wurde ein Trägermaterial mit chemisch modifizierter Oberfläche und ein Träger mit nahezu inerten Eigenschaften,

* Auszugsweise vorgetragen auf dem I. Internationalen Symposium über Säulen-Flüssigchromatographie, Interlaken, 2-4 Mai 1973. Der grössere Teil der Vorträge dieses Symposiums ist veröffentlicht in *J. Chromatogr.*, Vol. 83 (1973).

** Teil der Dissertation von G. Rössler, Saarbrücken, 1971.

nämlich Chromosorb, in die Untersuchungen aufgenommen. In allen Fällen waren jedoch die Poren der verwendeten Trägermaterialien vollkommen mit Trennflüssigkeit gefüllt.

EXPERIMENTELLE BEDINGUNGEN

Apparatur

Der verwendete, im Eigenbau hergestellte Flüssigchromatograph wurde bereits früher beschrieben⁵. Zur Dämpfung der Pulsationen und zur Kontrolle des Kolonneneingangsdruckes wurde die beschriebene Regeleinheit verwendet⁶. Als Detektor wurde ein modifiziertes Differential-Refraktometer (Modell R 4; Waters Ass., Framingham, Mass., U.S.A.) verwendet⁷. Die Proben wurden mit Hilfe von Hochdruckspritzen (Typ HP 305; Hamilton, Whittier, Calif., U.S.A.) direkt auf den Säulenfang aufgegeben.

Alle Messungen wurden bei 34° durchgeführt. Vorratsgefäß, Vorsäule und Trennsäule waren an einen Flüssigkeitsthermostaten (Typ NB, Messgeräte-Werk Lauda, Lauda, B.R.D.) angeschlossen. Alle Rohrleitungen waren mit Asbestschnur zusätzlich isoliert. Unter diesen Bedingungen lag der Rausch des verwendeten Detektors bei 1.5×10^{-7} R.I.-Einheiten.

Trennsäulen

Als Kolonnenmaterial wurden nahtlos gezogene Kupferrohre von 50 cm \times 2 mm i.D. verwendet. Vor der Verwendung wurden die Säulen durch Spülen mit konzentrierter Salzsäure, Wasser und Aceton gereinigt. Die stationäre Phase wurde portionsweise unter Vibrieren und Aufstossen der Trennsäule unter leichtem Vakuum trocken gepackt.

Reagenzien

Als mobile Phase wurde ausschliesslich *n*-Heptan verwendet. Die stationäre Phase war 3,3'-Oxydipropionitril (ODPN) mit einer Dichte von 1.06 g/cm³ (Merck, Darmstadt, B.R.D.). Die mobile Phase wurde mit ODPN bei 34.2° gesättigt. Um das Auswaschen der stationären Phase zu verringern, wurde zusätzlich noch eine Vorsäule (10 cm \times 4 mm i.D.) gefüllt mit Kieselgel (belegt mit 1.1 g ODPN/g Kieselgel) verwendet.

Die physikalischen Eigenschaften der verwendeten Trägermaterialien sind in Tabelle I zusammengestellt. Sämtliche Porasile (Waters Ass.) wurden vor Verwendung durch zweistündiges Kochen mit konzentrierter Schwefelsäure, die etwa 10% Salpetersäure enthielt, von organischen Verunreinigungen befreit. Nach dem Neutralwaschen mit Wasser und Trocknen bei 200° wurden die Porasile mit stationärer Phase belegt. Andere Arbeiten zeigten⁴, dass fast das gesamte Porenvolumen mit stationärer Phase aufgefüllt werden kann, bevor die Teilchen klebrig wurden. Bei den hier verwendeten Porasilen konnte jedoch nie die den Literaturangaben⁸ entsprechende Menge ODPN aufgebracht werden. Deshalb wurde von allen getrockneten Präparaten das Schüttgewicht ermittelt, das näherungsweise dem Porenvolumen umgekehrt proportional ist. Dazu wurden in einem Messzylinder (10 ml) eine genau eingewogene Menge (mindestens 5 ml) durch Klopfen und Aufstossen solange gepackt, bis keine Volumenänderung mehr feststellbar war. Die Bestimmung

TABELLE I
PHYSIKALISCHE EIGENSCHAFTEN DER TRÄGERMATERIALIEN

Trägermaterial	Spez. Oberfläche (m ² /g)	Poren- volumen (ml/g)	Mittl. Poren- durch- messer (Å)	Max. Beleg- barkeit (g/g)	Teilchen- grösse (μ)	Permea- bilität (10 ⁻⁸ cm ²)	Schütt- gewicht (g/cm ³)
Porasil A	450*	1*	< 100	0.91	40-50	1.5	0.44
Porasil C	79**	0.7*	~ 300	0.79	50-56	1.9	0.50
Porasil C-OPN	79**	0.7	~ 300	0.72	50-56	2.0	0.50
Porasil D	25*	0.6*	~ 600	0.45	50-56	2.8	0.59
Porasil E	4*	0.4*	~ 1000	0.34	50-56	2.2	0.55
Porasil F	1.2*	0.25*	> 2000	0.21	50-56	2.2	0.66
Chromosorb W- DMCS	1.6***	1.6***	> 2000	0.35	100-120	6.7	0.26

* Nach Lit. 8.

** Nach Lit. 9.

*** Nach Lit. 10.

des Schüttgewichts wurde sowohl dazu verwendet, die Packung der Trennsäule zu kontrollieren, als auch die Belegung des Trägers mit einem Fehler unter 3% zu kontrollieren bzw. zu bestimmen. Das für unbelegte Träger ermittelte Schüttgewicht zeigt bessere Übereinstimmung mit der erzielbaren maximalen Belegbarkeit als die aus der Literatur entnommenen Werte für das Porenvolumen.

Das Belegen des Trägers mit stationärer Phase erfolgte wie üblich durch Auflösen des ODPN in Methylenchlorid, und langsames Verdampfen des Lösungsmittels nach Zugabe des Trägers am Rotationsverdampfer. Es wurde jeweils soviel Trennflüssigkeit aufgebracht, dass die stationäre Phase gerade noch trocken und rieselfähig blieb.

Zu Vergleichszwecken wurde auch ein Trägermaterial in die Untersuchungen mit einbezogen, dessen Oberfläche chemisch modifiziert war. Das Trägermaterial (Porasil C) wurde dazu in der üblichen Weise mit 3-Hydroxypropionitril verestert¹¹ (Porasil C-OPN). Dieses modifizierte Trägermaterial wird im folgenden als "Bürste" bezeichnet. Die Bürste konnte noch mit 0.72 g ODPN/g Bürste belegt werden.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Relative Bandenverbreiterung

Die Abhängigkeit der Bandenverbreiterung von der Strömungsgeschwindigkeit wurde für alle Trägermaterialien im Bereich zwischen 0-8 cm/sec untersucht. Fig. 1 zeigt eine typische $h=f(u)$ Kurve. Für alle untersuchten Säulen und Proben lässt sich die Kurve im angegebenen Geschwindigkeitsintervall mit der empirischen Funktion

$$h = A + C \cdot u \quad (1)$$

beschreiben. In Tabelle II sind die Konstanten A und C zusammen mit den k' -Werten für die untersuchten Systeme zusammengestellt. Aus später näher diskutierten

TABELLE II
VERGLEICH DER KONSTANTEN A UND C AN DEN VERSCHIEDENEN TRÄGERMATERIALIEN (MAXIMALE BELEGUNG)

Probe	Porasil A (0.91 g ODPN/g Porasil A)			Porasil C (0.79 g ODPN/g Porasil C)			Porasil C-OPN (0.72 g ODPN/g Porasil C-OPN)			Porasil D (0.45 g ODPN/g Porasil D)			Porasil E (0.34 g ODPN/g Porasil E)		
	K'	A (mm) (msec)		K'	A (mm) (msec)		K'	A (mm) (msec)		K'	A (mm) (msec)		K'	A (mm) (msec)	
		C (mm)	(msec)		C (mm)	(msec)		C (mm)	(msec)		C (mm)	(msec)		C (mm)	(msec)
n-Pentan	0	1.0	32	0	0.9	52	0	0.4	31	0	1.6	40	0	0.8	56
Toluol	0.3	1.4	76	0.2	1.2	82	0.3	1.1	58	0.2	2.9	81	0.1	1.6	68
Anisol	1.1	1.6	118	0.85	1.6	110	0.9	1.3	106	0.8	4.5	127	0.5	1.7	135
Benzoesäuremethylester	1.7	1.7	143	1.5	1.8	127	1.3	1.4	113	1.2	4.5	179	0.7	1.9	130
Acetophenon	4.5	1.3	130	3.9	1.2	133	3.6	1.7	87	3.1	4.1	153	1.9	1.6	169
Aceton	—	—	—	5.5	1.1	112	5.7	1.6	77	4.5	3.5	142	2.7	1.7	105
Benzonitril	8.2	2.1	100	5.9	1.0	119	5.5	1.4	70	5.3	2.9	140	3.1	1.9	142
Propionitril	15.1	2.1	58	13.3	1.3	89	12.6	1.8	56	11.3	4.9	102	6.9	1.6	76
Phenylpropanol	19.4	1.7	79	16.7	2.2	66	18.7	1.9	61	12.5	4.2	120	8.0	1.5	130
Benzylalkohol	35.8	1.9	42	32.1	1.6	71	31.0	1.6	41	27.8	4.3	79	17.1	1.9	109
Acetonitril	36.7	1.9	39	33.9	1.8	61	31.7	1.2	51	27.9	3.3	74	17.3	1.2	70
Anisalkohol	75.3	1.9	38	64.4	1.5	60	61.1	1.5	36	59.3	4.0	69	36.8	3.2	70

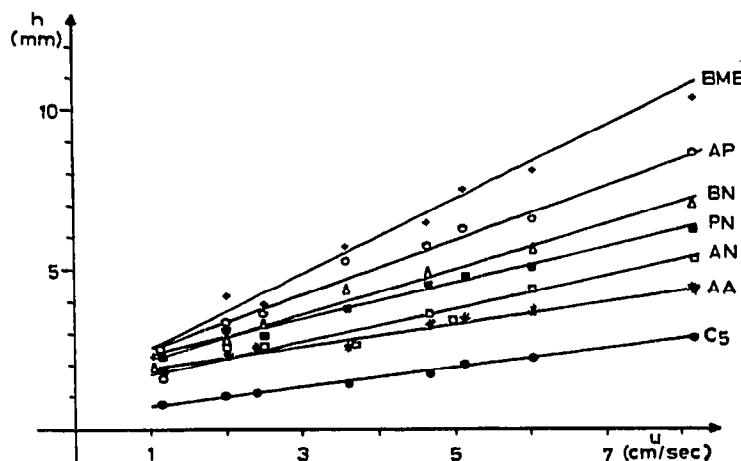


Fig. 1. Typische $h=f(u)$ -Kurve. Stationäre Phase, 0.72 g ODPN/g Porasil C-OPN "Bürste"; Säule, 50 cm \times 2 mm I.D.; mobile Phase, *n*-Heptan. C₅ = *n*-Pentan ($k'=0$); BME = Benzoesäuremethylester (1.3); AP = Acetophenon (3.6); BN = Benzonitril (5.5); PN = Propionitril (12.6); AN = Acetonitril (31.7); AA = Anisalkohol (61).

Gründen sind die Werte mit Porasil F als Träger in dieser Tabelle nicht enthalten. Die Werte der Konstanten *A* und *C* wurden durch lineare Regression ermittelt und besitzen eine Standardabweichung von $\pm 10\%$ für die *C*-Terme und $\pm 15\%$ für die *A*-Terme. Die *C*-Terme zeigen die bekannte und bei schwerbeladenen Trennsäulen erwartete Abhängigkeit vom *k'*-Wert. Maximale *C*-Terme werden, wie von der Theorie vorhergesagt^{1,2}, mit *k'*-Werten um 1 erreicht. Bei grossen *k'*-Werten (über 30) sind die *C*-Terme mit denen des Inertpeaks vergleichbar. Die niedrigsten *C*-Terme von allen untersuchten Systemen wurden mit dem chemisch modifizierten Träger (Porasil C-OPN) erhalten. Die mit Nitrilgruppen veresterte Oberfläche mag dafür die Ursache sein. Für die Träger mit grossem Porendurchmesser (Porasil E und F) wurden relativ schlechte *C*-Terme gemessen. Diese Teilchen neigen zum Zusammenkleben und lassen sich daher schlechter packen. Die *A*-Werte liegen zwischen 1–2 mm und sind damit relativ hoch. Dies bedeutet, dass die *h*-Werte, insbesondere bei den niedrigeren *C*-Termen auch bei hohen linearen Geschwindigkeiten noch vom *A*-Term beeinflusst werden. Bei einem *A*-Term von 2 mm und einem *C*-Term von 100 msec ergibt sich bei einer Geschwindigkeit von 1 cm/sec ein Anteil des *A*-Terms am *h*-Wert von 67%. Erst bei Geschwindigkeiten von etwa 10 cm/sec sinkt der prozentuale Anteil des *A*-Terms an der Bandenverbreiterung unter 20%. Noch ungünstiger wird das Bild, wenn man den niedrigsten *C*-Term, nämlich 30 msec, betrachtet. Hier trägt der *A*-Term zwischen 87% (bei 1 cm/sec) und 40% (bei 10 cm/sec) zur Bandenverbreiterung bei. Durch Verringerung des Teilchendurchmessers sollten, da *A* abhängig von *d₀* ist, bessere, d.h. niedrigere *h*-Werte erzielt werden. Derartige Versuche mit Teilchendurchmesser um 10 μm sind zur Zeit im Gange.

Bestimmung der Filmdicke

In den Werten der *C*-Terme in Tabelle II ist sowohl der Massentransport in

der mobilen Phase (C_m) als auch der in der stationären Phase (C_s) enthalten. Die bei den schwerbeladenen Trennsäulen gefundene starke Abhängigkeit der C -Terme von den k' -Werten mit einem Maximum der C -Terme bei k' -Werten um 1 lässt vermuten, dass hier der C_s -Term eine nicht zu vernachlässigende Rolle spielt. Nach der Theorie der Chromatographie¹³ lässt sich der Beitrag zur Bandenverbreiterung, verursacht durch Diffusion der Probe in der stationären Phase, beschreiben als

$$C_s = q \cdot \frac{k'}{(1+k')^2} \frac{d_f^2}{D_s} \quad (2)$$

wobei D_s den Diffusionskoeffizienten der Probe in der stationären Phase darstellt; die Filmdicke der stationären Phase ist d_f , während q ein Faktor ist, der von der Porengemometrie abhängt. Für zylindrische Poren ist $q=2/3$, während bei engen Poren $q=0.25$ wird. In erster Näherung ist bei allen verwendeten Proben der Diffusionskoeffizient gleich gross (berechnet nach Wilke und Chang¹⁴ zu $1.27 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{sec}$); auch sollte nicht erwartet werden, dass d_f von der Art der Probe abhängig ist. Sind diese Annahmen gültig, sollte der C_s -Term eine lineare Abhängigkeit von der k' -Funktion in Gleichung (2) zeigen. In Fig. 2 ist für verschiedene Trennsäulen der C -Term gegen diese Funktion aufgetragen. Die Steigung der so erhaltenen Geraden liefert die mit q multiplizierte Aufenthaltszeit der Probe in der stationären Phase. Die daraus berechnete Filmdicke bzw. Porentiefe liegt in allen Fällen bei etwa $15 \mu\text{m}$. Dies bestätigt die gaschromatographischen Messungen³, dass die Filmdicke der stationären Phase bei schwerbeladenen Trennsäulen mit der Porentiefe identisch ist und in der gleichen Größenordnung liegt wie der Teilchenradius.

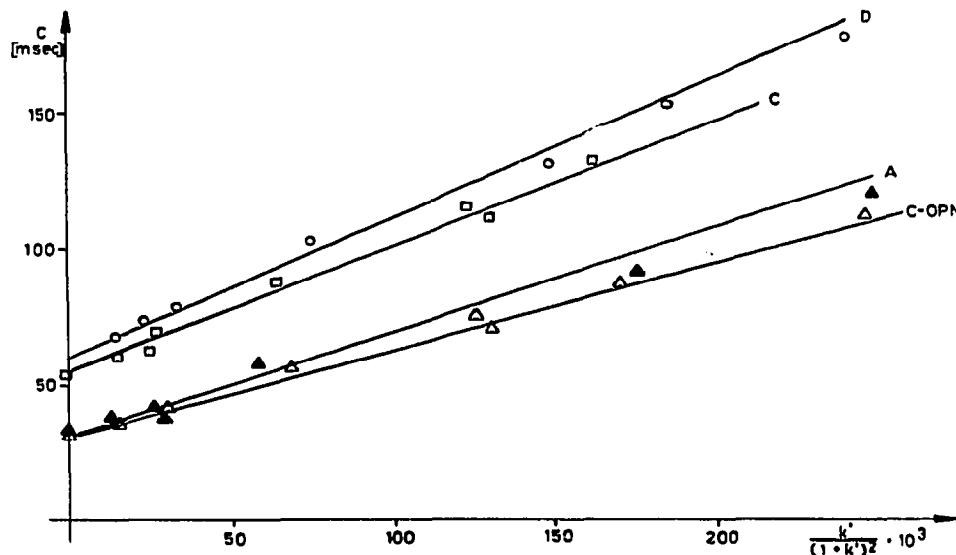


Fig. 2. Abhängigkeit der C -Terme von der k' -Funktion in Gleichung (2). A = Porasil A belegt mit 0.91 g ODPN/g; C = Porasil C belegt mit 0.79 g ODPN/g; C-OPN = Porasil C-OPN "Bürste" belegt mit 0.72 g ODPN/g; D = Porasil D belegt mit 0.45 g ODPN/g.

Geschwindigkeit der Analyse

Bei den schwer beladenen Säulen sind wegen der dort üblichen hohen k' -Werte die erzielten theoretischen und effektiven Trennstufen sehr ähnlich⁴. In Fig. 3 ist die Zahl der effektiven Böden pro Sekunde gegen die lineare Geschwindigkeit aufgetragen. Für k' -Werte zwischen 1 und etwa 15 werden zwischen 0.6–1 effektive Böden/sec erzeugt, obwohl der Teilchendurchmesser mit 50–56 μm für die Hochdruck-Flüssigchromatographie relativ gross ist. Die optimale Geschwindigkeit, die man auch aus der $h/u = f(u)$ -Kurve erhält, liegt für diese Säule bei 4–5 cm/sec. Die erzielbare Geschwindigkeit ist bei schwerbeladenen Säulen durchaus annehmbar, wenn sie auch nicht mit der vergleichbar ist, die man mit Dünnschichtteilchen oder mit Säulen mit kleinen Teilchen erhält.

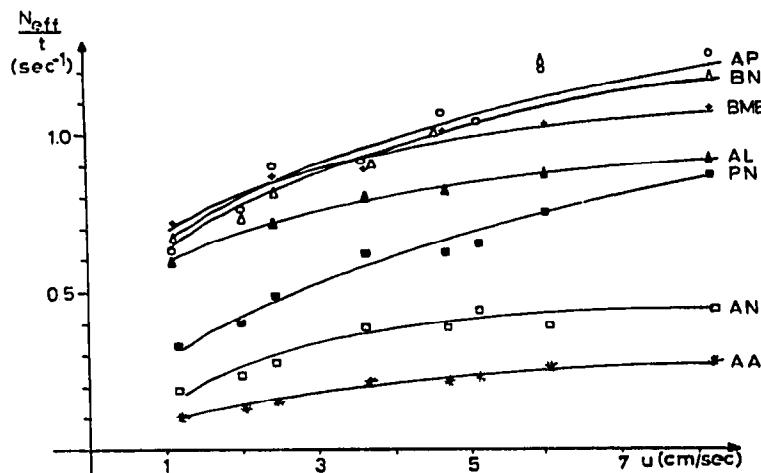


Fig. 3. Effektive Böden pro Sekunde vs. Strömungsgeschwindigkeit. Bedingungen wie in Fig. 1. AL = Anisol ($k' = 0.9$).

Stabilität der Trennsäulen

Der Porendurchmesser bestimmt die Stabilität der Trennsäule. Durch die Kapillarkräfte wird bei engen Poren die stationäre Phase besser festgehalten als bei weiteren. Bei Verwendung von gesättigten mobilen Phasen wird stationäre Phase nur durch mechanische Erosion ausgetragen. Je enger die Poren sind, desto geringer sollte die mechanische Erosion sein, bzw. erst bei sehr hohen Strömungsgeschwindigkeiten sollte sich dann diese Erosion bemerkbar machen. Ein empfindliches Mass für die Stabilität der Trennsäule ist die Konstanz der k' -Werte, die mit einer Genauigkeit von $\pm 4\%$ ohne grossen Aufwand bestimmt werden können. Für alle verwendeten Phasen wurde die Strömungsgeschwindigkeit bestimmt, bei der sich die k' -Werte über diese angegebene Messgenauigkeit hinaus veränderten. Es zeigte sich, dass beim Überschreiten dieser kritischen Strömungsgeschwindigkeit die k' -Werte sehr rasch um 40–80% abnahmen. Zusätzlich erhöhte sich das Rauschen des Detektors beträchtlich. In Tabelle III sind die Geschwindigkeiten, bei denen die Trennsäulen gerade noch stabil waren, den Porendurchmessern gegenübergestellt. Wurde Porasil F als Träger verwendet, so änderten sich selbst bei Geschwindigkeiten unter 2 cm/sec die k' -Werte merklich. Deshalb wurde darauf verzichtet, die Werte

TABELLE III

MAXIMALE GESCHWINDIGKEITEN AN SCHWERBELADENEN TRENNSÄULEN

Trägermaterial	Durchschnittlicher Porendurchmesser ⁸ (Å)	Maximale Geschwindigkeit (cm/sec)
Porasil A	< 100	ca. 15
Porasil C	~ 300	ca. 12
Porasil C-OPN	~ 300	ca. 12
Porasil D	~ 600	ca. 10
Porasil E	~ 1000	ca. 5
Porasil F	> 2000	< 2

mit Porasil F in Tabelle II aufzunehmen. Um bei der für schwerbeladene Trennsäulen optimalen Strömungsgeschwindigkeit von etwa 5 cm/sec arbeiten zu können, ohne die Lebensdauer der Säule zu verkürzen, sollte der Porendurchmesser 500 Å nicht wesentlich überschreiten. Dieser Wert ist in guter Übereinstimmung mit anderen

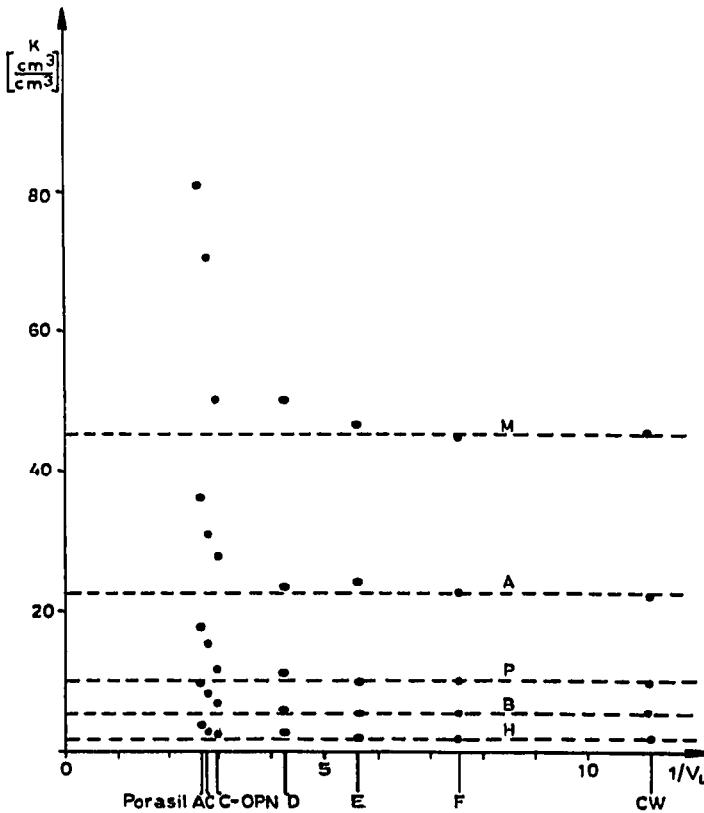


Fig. 4. Abhängigkeit des chromatographischen Verteilungskoeffizienten von $1/V_L$ für Alkohole. H = *n*-Hexanol ($K=1.6$); B = *n*-Butanol (3.2); P = *n*-Propanol (10.0); A = Äthanol (22.4); M = Methanol (45.2). Die stationären Phasen sind in Tabelle I und II aufgeführt. Die zwischen zwei gestrichelten Linien liegenden Punkte gehören jeweils zur unteren Linie.

Ergebnissen⁴, bei denen für Träger bei schwerbeladenen Trennsäulen ein Porendurchmesser von 100–200 Å als optimal angesehen wurde.

Einfluss der spezifischen Oberfläche auf die Retention

Aus den k' -Werten lassen sich die "chromatographischen" Verteilungskoeffizienten berechnen. Trägt man diesen Verteilungskoeffizienten gegen das reziproke Volumen der stationären Phase in der Trennsäule auf, so kann man den Einfluss der verschiedenen Retentionsmechanismen erkennen^{15,16}. Die hier verwendeten Porasile unterscheiden sich untereinander nur durch die Grösse der spezifischen Oberfläche bei nahezu konstantem Porenvolumen. In Fig. 4 sind die errechneten Verteilungskoeffizienten aliphatischer Alkohole gegen $1/V_L^0$ aufgetragen. Erst bei spezifischen Oberflächen unter $10 \text{ m}^2/\text{g}$ (Porasil E) ist der Einfluss der Oberfläche auf die Retention speziell der polaren Alkohole vernachlässigbar. In diesen Fällen ist der Verteilungskoeffizient an einem Kieselgelträger mit dem an silanisiertem Chromosorb, das im allgemeinen als inerter Träger betrachtet wird, identisch. Bei Verbindungen mit geringerer Protonenaktivität, wie den längerkettigen Alkoholen oder den Nitrilen, deren Verhalten in Fig. 5 aufgezeigt ist, macht sich der Einfluss der spezifischen Oberfläche auf die Retention kaum bemerkbar.

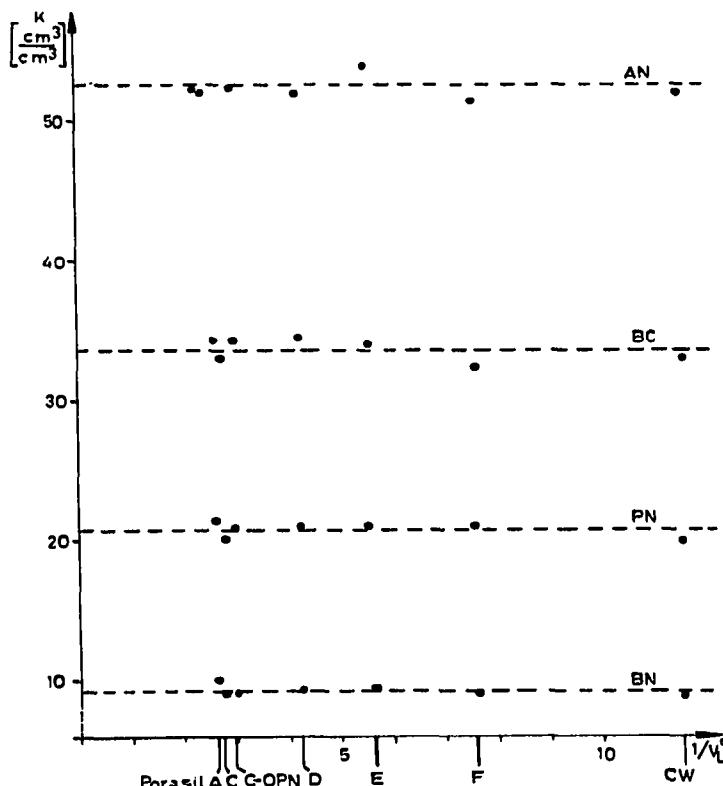


Fig. 5. Abhängigkeit des chromatographischen Verteilungskoeffizienten von $1/V_L^0$ für Nitrile. BN = Benzonitril ($K=9.3$); PN = Propionitril (20.7); BC = Benzylcyanide (33.6); AN = Acetonitril (52.7). Andere Bedingungen wie bei Fig. 4.

Die Veresterung der Oberfläche des Trägers mit Alkoholen (Porasil C-OPN) führt zu einer bedeutenden Verringerung der Adsorptionsaktivität des Trägermaterials. Der Verteilungskoeffizient für Methanol verringert sich von etwa 70 an Porasil C auf etwa 50 an "verbürstetem" Porasil C. Für die gleiche Verbindung wurde an Chromosorb W ein Verteilungskoeffizient von 45 bestimmt. Die Veresterung führt zu einer Verringerung der "aktiven" Oberfläche und daher zu einer Angleichung der Verteilungskoeffizienten an die an "inerten" Trägern gemessenen.

Bei den durch gestrichelte Linien in Fig. 4 angedeuteten Verteilungskoeffizienten, die sowohl mit Porasil E und F als auch mit silanisiertem Chromosorb W gemessen wurden, scheint es sich tatsächlich um die "reinen" Verteilungskoeffizienten zu handeln, da die Auftragung des Logarithmus des Verteilungskoeffizienten gegen die Kohlenstoffzahl (Fig. 6) die erwartete Linearität ergibt.

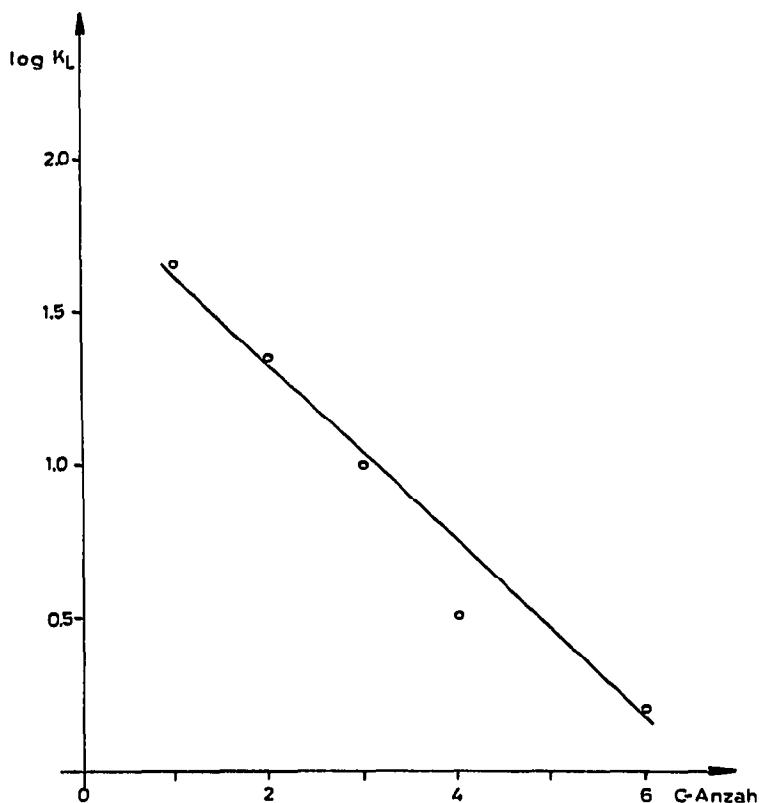


Fig. 6. Abhängigkeit der Verteilungskoeffizienten von der Kohlenstoffzahl. Vgl. Fig. 4.

Belastbarkeit

Die Belastbarkeit eines chromatographischen Systems ist nach Snyder so definiert¹⁷, dass als maximale Probemenge diejenige Menge angegeben wird, bei der das Retentionsvolumen um nicht mehr als 10% unterhalb des Wertes liegt, den man mit sehr kleinen Probemengen erhält und mit dem man sich im linearen

Gebiet der Isotherme befindet. Nach unserer Erfahrung zeigt die Erhöhung der Bandenverbreiterung die Überladung des Trennsystems deutlicher an als die Verringerung der Retentionszeiten bzw. des k' -Wertes. In Fig. 7 sind die Belastbarkeitskurven für eine Probe mit drei verschiedenen vollbelegten Trägern angegeben. Zum Vergleich ist sowohl die Erhöhung der Bandenverbreiterung (linke Ordinate) als auch die Verringerung des k' -Wertes (rechte Ordinate) als Funktion der Probe menge pro Gramm Trennflüssigkeit in der Säule aufgetragen. Bei allen Versuchen wurde die gleiche Trennsäule mit einem Leervolumen von 1.57 ml verwendet. Die Belastbarkeit der schwerbeladenen Trennsäulen liegt zwischen $2 \cdot 10^{-3}$ g/g Trennflüssigkeit bei Porasil A und etwa $8 \cdot 10^{-3}$ g/g bei Porasil C und E. Verwendet man die Änderung der k' -Werte, so erhält man eine etwas höhere Belastbarkeit, nämlich etwa 10^{-2} g/g für alle drei Trägermaterialien.

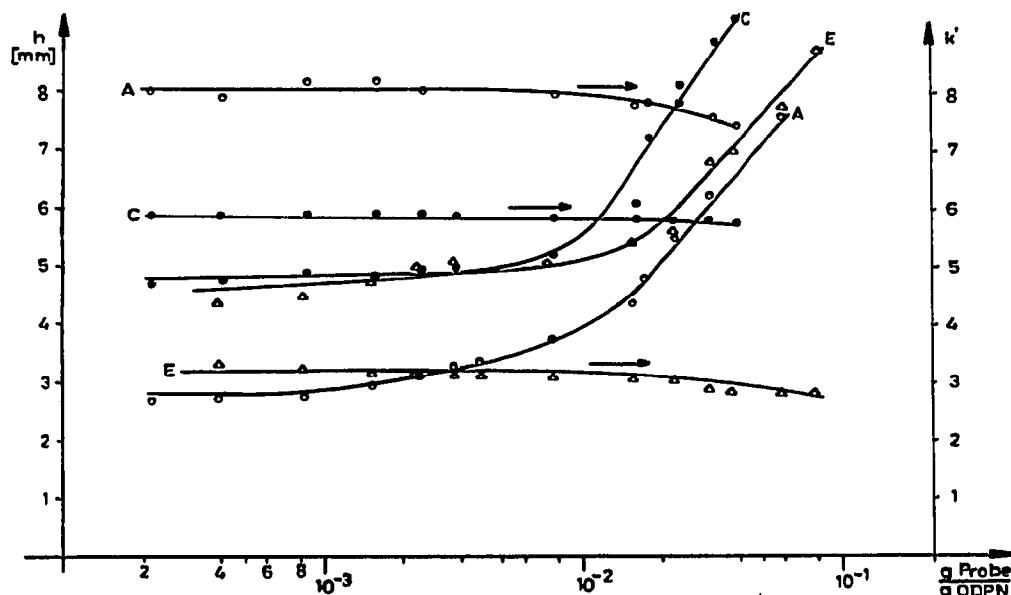


Fig. 7. Belastbarkeit der verschiedenen stationären Phasen für Benzonitril. Mobile Phase, *n*-Heptan; Strömungsgeschwindigkeit, 1.97 cm/sec; Temperatur, 34°. A = 0.91 g ODPN/g Porasil A; C = 0.79 g ODPN/g Porasil C; E = 0.34 g ODPN/g Porasil E.

In Fig. 8 ist die Belastbarkeit an einer stationären Phase (0.91 g ODPN/g Porasil A) für Proben mit unterschiedlichen k' -Werten aufgetragen. Verwendet man die Änderung der Bandenverbreiterung, so findet man eine Belastbarkeit von etwa $5 \cdot 10^{-3}$ bis $1 \cdot 10^{-2}$ g/g Trennflüssigkeit, unabhängig vom k' -Wert. Betrachtet man dagegen die Änderung des k' -Wertes, so erhält man eine vom k' -Wert abhängige allerdings geringfügig höhere Belastbarkeit.

Auf die verwendete Trennsäule von 50 cm \times 2 mm i.D. konnten demnach ohne zusätzliche Bandenverbreiterung etwa 10 mg Probe aufgegeben werden. Mit derartigen Probenmengen lassen sich nach der Trennung an schwerbeladenen Trennsäulen ohne Schwierigkeiten andere Analysenverfahren und Nachweisreaktionen durchführen.

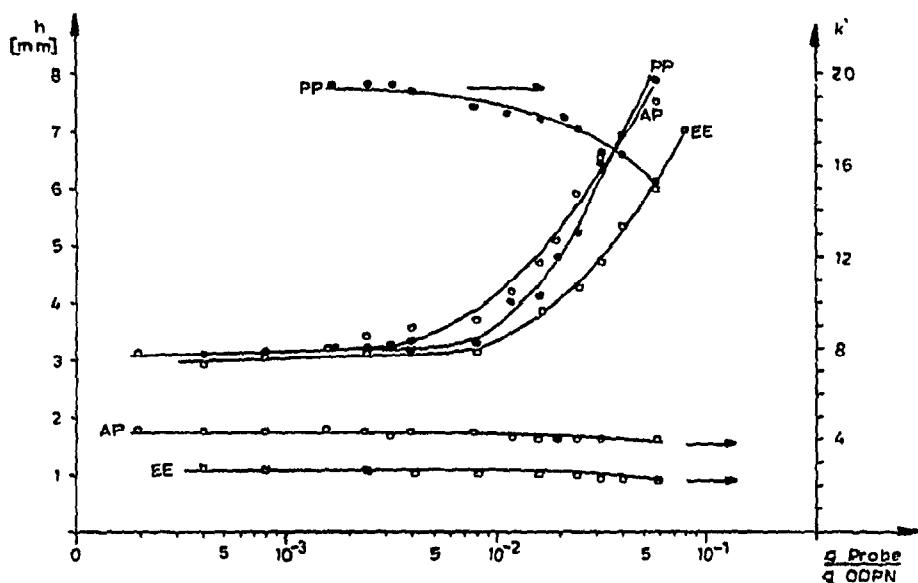


Fig. 8. Belastbarkeit bestimmt mit verschiedenen Proben. Stationäre Phase, 0.91 g ODPN/g Porasil A; mobile Phase, *n*-Heptan; Strömungsgeschwindigkeit, 2.0 cm/sec; Temperatur, 34°. EE = Essigsäuremethylester ($k' = 2.8$); AP = Acetophenon (4.4); PP = Phenylpropanol (19.5).

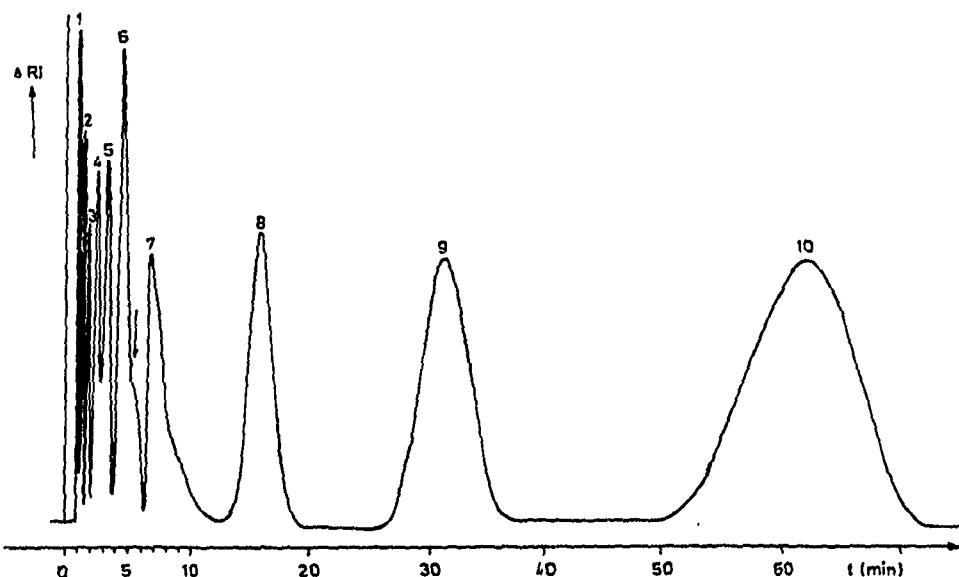


Fig. 9. Trennung einer willkürlichen Mischung. Säule, 50 cm \times 2 mm i.D.; stationäre Phase, 0.72 g ODPN/g Porasil C-OPN ($d_p = 50-56 \mu\text{m}$); mobile Phase, *n*-Heptan; Strömungsgeschwindigkeit, 0.88 cm/sec; $\Delta p = 5.5$ atm; Temperatur, 34°. 1 = *n*-Nonan ($k' = 0$); 2 = Thionaphthen (0.3); 3 = N,N'-Dimethylanilin (0.8); 4 = α -Naphthochinolin (1.6); 5 = Chinaldin (2.4); 6 = *p*-Benzodiazin (3.95); 7 = Isochinolin (6.5); 8 = Phenylpropanol (16.8); 9 = Benzylalkohol (32); 10 = Anisalkohol (63).

Anwendung

Neben der bereits skizzierten mikropräparativen Anwendung der schwerbeladenen Trennsäulen soll an einem Beispiel die Möglichkeit der Druckprogrammierung demonstriert werden. Dies ist mit derartigen Verteilungssystemen möglich, da auch bei hohen linearen Geschwindigkeiten (um 15 cm/sec) die Trennsäulen, wie gezeigt wurde, sehr stabil sind. Fig. 9 zeigt die Trennung eines willkürlichen Gemisches von zehn Komponenten an Porasil C-OPN, belegt mit 0.72 g ODPN/g Träger. Durch die hohen k' -Werte und die langsame Strömungsgeschwindigkeit (0.9 cm/sec) bedingt, ist die Trennung erst nach mehr als 60 min beendet. Aber auch die Banden der spät eluierten Proben sind noch vollkommen symmetrisch. In Fig. 10 ist die gleiche Trennung wiedergegeben, nur wurde hierbei der Kolonnenvordruck kontinuierlich von ursprünglich 7.5 atm auf 135 atm erhöht. Die Strömungsgeschwindigkeit stieg dabei von etwa 1 cm/sec auf 21 cm/sec an. Dadurch war die Trennung bereits nach 7 min beendet. Selbst bei dieser extrem hohen Strömungsgeschwindigkeit war die Trennsäule noch stabil und die Basislinie des Differentialrefraktometers änderte sich nur geringfügig. Bei einem konstanten Rauschpegel von $1.5 \cdot 10^{-7}$ R.I.-Einheiten stieg die Basislinie während der Druckänderung nur um $2 \cdot 10^{-7}$ R.I.-Einheiten an. Zur Verkürzung der bei schwerbeladenen Trennsäulen oft relativ hohen Analysenzeiten ist die Programmierung des Säulenvordrucks gut geeignet.

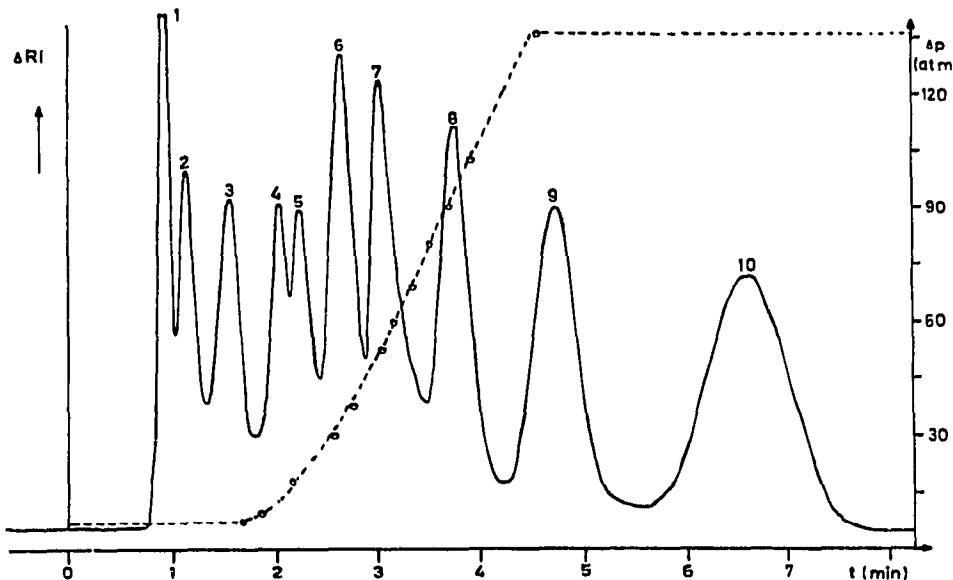


Fig. 10. Gleiche Trennung wie in Fig. 9. Gleiche Bedingungen, jedoch mit Druckprogramm von Δp 7.5 atm. auf Δp = 135 atm.

DANK

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Förderung dieser Arbeit im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 52, Analytik, Saarbrücken.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Porenstruktur des festen Trägers hat bei schwerbeladenen Trennsäulen einen grossen Einfluss auf die Stabilität und Lebensdauer der Trennsäulen. Um auch bei hohen Strömungsgeschwindigkeiten (5–10 cm/sec) arbeiten zu können, sollte der Porendurchmesser 500 Å nicht überschreiten. Eine spezifische Oberfläche grösser als etwa $10 \text{ m}^2/\text{g}$ beeinflusst das Retentionsverhalten, besonders bei Verbindungen, die zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen befähigt sind. Durch chemische Modifikation der Oberfläche des Trägers kann der Einfluss dieser Adsorptionsaktivität wesentlich gemindert werden. Derartig modifizierte Träger lieferten Trennsäulen mit den niedrigsten *A*- und *C*-Termen. Die Belastbarkeit derartiger Trennsäulen ist sehr gross ($2 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ g Probe/ g Trennflüssigkeit), so dass sie für mikropräparative Trennungen geeignet sind. Die oft sehr grossen Analysenzeiten können durch programmierte Erhöhung des Säulenvordrucks wesentlich verkürzt werden.

LITERATUR

- 1 I. Halász, H. Engelhardt, J. Asshauer und B. L. Karger, *Anal. Chem.*, 42 (1970) 1960.
- 2 B. L. Karger und L. V. Berry, *Clin. Chem.*, 17 (1971) 757.
- 3 J. Asshauer und I. Halász, *Anal. Chem.*, 45 (1973) 1142.
- 4 H. Engelhardt und N. Weigand, *Anal. Chem.*, 45 (1973) 1149.
- 5 G. Deininger und I. Halász, *J. Chromatogr. Sci.*, 9 (1971) 83.
- 6 G. Deininger und I. Halász, *J. Chromatogr.*, 60 (1971) 65.
- 7 G. Deininger und I. Halász, *J. Chromatogr. Sci.*, 8 (1970) 499.
- 8 G. L. Guillemin, R. Beau, M. Le Page und A. J. de Vries, *Anal. Chem.*, 39 (1967) 935, 940.
- 9 Kl. de Haas, *Dissertation*, Saarbrücken, 1972.
- 10 G. Blandenet und J. Robin, *J. Gas Chromatogr.*, 2 (1964) 225.
- 11 I. Sebastian, *Dissertation*, Frankfurt/Main, 1969.
- 12 S. Dal Nogare und R. S. Juvet, *Gas-Liquid Chromatography*, Interscience, New York, 1962.
- 13 J. C. Giddings, *Dynamics of Chromatography*, Marcel Dekker, New York, 1965.
- 14 C. R. Wilke und P. Chang, *Amer. Inst. Chem. Eng. J.*, 1 (1955) 264.
- 15 J. R. Conder, D. C. Locke und J. H. Purnell, *J. Phys. Chem.*, 73 (1969) 700.
- 16 D. F. Cadogan, J. R. Conder, D. C. Locke und J. H. Purnell, *J. Phys. Chem.*, 73 (1969) 708.
- 17 L. R. Snyder, *Principles of Adsorption Chromatography*, Marcel Dekker, New York, 1968.