

Effekt haben wir beispielsweise zur Gewinnung matricinreicher Kamillenextrakte ausgenutzt^[1,3]. Zur Beurteilung von Extraktionsversuchen wird es künftig von besonderer Wichtigkeit sein, die Löslichkeiten quantitativ zu ermitteln. Dies ist ebenfalls mit unserer Methode möglich. Unseres Erachtens sind Löslichkeiten von mindestens 1 : 500 bis 1 : 1000 die Voraussetzung für die Anwendbarkeit der Fluid-Extraktion im technischen Maßstab.

Ein weiteres Problem, das sich immer wieder stellen wird, ist das Vorliegen des Materials in komplexen Proben. Hier kann bereits mechanisch durch eine Art Mikroverkapselung die Extrahierbarkeit erschwert sein. Es können allerdings auch Salze vorliegen oder starke Wasserstoffbrückenbindungen. Durch geeignete Zusätze zum Extraktionsmaterial wird man einen Teil dieser Hemmnisse beheben können. Wir denken beispielsweise in diesem Zusammenhang an eine Befeuchtung der Drogen und gegebenenfalls an Ammoniakzusatz. Weiterhin ist der Einfluß von Schleppern untersuchenswert. Hierunter verstehen wir Substanzen, die zum Extraktionsgas zugemischt eine Erhöhung des Lösungsvermögens, d. h. eine bessere Extra-

hierbarkeit ermöglichen. Auch Konkurrenzphänomene, wie sie etwa beim Befeuchten der Drogen auftreten, wird man künftig größere Beachtung schenken. Mit den uns zur Verfügung stehenden Mikro-Extraktionsmethoden ist es relativ einfach möglich, die Extraktionseigenschaften anderer überkritischer Gase zu untersuchen. Hier werden wohl Ethylen und spezielle Frigene von vorrangigem Interesse sein.

Eingegangen am 1. Juni 1978 [A 233]

- [1] E. Stahl, J. Chromatogr. 37, 99 (1968).
- [2] E. Stahl, Z. Anal. Chem. 261, 11 (1972).
- [3] K. Zosel, DAS 1493190 (1964), Studiengesellschaft Kohle.
- [4] O. Vitzthum, P. Hubert, DAS 2127618 (1971), Studiengesellschaft Kohle.
- [5] E. Stahl, W. Schilz, Z. Anal. Chem. 280, 99 (1976).
- [6] E. Stahl, W. Schilz, Chem.-Ing.-Tech. 48, 773 (1976).
- [7] E. Stahl: Dünnsschicht-Chromatographie. 2. Aufl. Springer, Berlin 1967.
- [8] A. Puech, M. Jakob, D. Gaudy, J. Chromatogr. 68, 161 (1972).
- [9] E. Stahl, E. Willing, Planta Med., im Druck (1978).
- [10] J. C. Giddings, M. N. Myers, L. McLaren, R. A. Keller, Science 162, 67 (1968).
- [11] E. Stahl, W. Schilz, Chem.-Ing.-Tech., im Druck (1978).
- [12] G. M. Barrow: Physikalische Chemie. 2. Aufl. Vieweg, Braunschweig 1972.
- [13] E. Stahl, E. Schütz, Arch. Pharm., im Druck (1978).

Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen^[**]

Von Ernst Klesper^[*]

Neue analytische Methoden (13)

Die Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen vereint in sich Eigenarten sowohl der Gas- als auch der Flüssigkeitschromatographie und weist darüber hinaus eigene spezielle Merkmale auf. Der Diffusionskoeffizient und insbesondere die Viskosität von fluiden Phasen können sich den Werten von Gasen unter niedrigem Druck annähern, während die Lösefähigkeit die von Flüssigkeiten erreichen kann. Darüber hinaus ist es jedoch mit überkritischen fluiden Phasen möglich, die chromatographischen Trennungen sehr wirksam durch Druckprogrammierung zu steuern, da die Löslichkeit mit steigender Dichte ansteigt. Eine Temperaturprogrammierung hingegen kann den entgegengesetzten Effekt wie bei der Gas- oder Flüssigkeitschromatographie haben, denn die Dichte nimmt bei vorgegebenem Druck mit der Temperatur ab. Die Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen dürfte vorzugsweise für Substanzen höheren Molekulargewichtes von Interesse sein. Die Leistungsfähigkeit der Methode wird an mehreren homologen Reihen demonstriert. So ließ sich ein Styrololigomer mit nominal $M_w = 2200$ unter Anwendung eines Druck- und Temperaturprogramms in 40 Spezies zerlegen.

1. Einführung

Substanzen höheren Molekulargewichtes haben keinen ausreichenden Dampfdruck, um mit Niederdruckgasen als mobile Phase chromatographiert werden zu können. Wird der Gasdruck jedoch wesentlich erhöht, etwa in den Bereich des kritischen Druckes, so kann die Lösefähigkeit der mobilen Phase ausreichen, um auch Substanzen sehr hohen Molekulargewichtes durch eine chromatographische Säule zu bewegen. Die Temperatur ist dabei so hoch, daß eine Verflüssigung vermieden wird, d. h. im allgemeinen oberhalb der kritischen Temperatur. Die in der Gaschromatographie häufig verwendeten

permanenten Gase N₂, He und Ar entwickeln nur geringe Lösefähigkeit bei erhöhten Drücken. Niedrigsiedende Lösungsmittel hingegen, z. B. Pentan und Isopropanol sowie CO₂, können geeignete Lösungsmittel im fluiden Zustand sein. Die mobile Phase muß jedoch thermisch stabil sein und darf mit Substrat, stationärer Phase und Wandmaterial (Stahl) nicht reagieren.

Die Lösefähigkeit von verdichteten Gasen, insbesondere von Lösungsmitteln oberhalb der kritischen Temperatur, ist schon früh bemerkt worden^[1, 2] und wurde später in Übersichtsaufsätzen diskutiert^[3, 4]. Es hat jedoch recht lange gedauert, bis verdichtete Gase für chromatographische Trennungen^[5–8] sowie als Extraktionsmittel und Reaktionsmedien verwendet wurden.

Die Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen wurde sowohl mit niedrigsiedenden Lösungsmitteln oberhalb ihrer kritischen Temperatur^[9, 10] als auch mit permanenten

[*] Priv.-Doz. Dr. E. Klesper
Institut für Makromolekulare Chemie der Universität
Stefan-Meier-Straße 31, D-7800 Freiburg

[**] Nach einem Vortrag beim Symposium „Extraktion mit überkritischen Gasen“, am 6. Juni 1978 in Essen.

Gasen^[11, 12] durchgeführt. Als Substrate dienten eine große Anzahl von Stoffen mit nicht meßbarem oder mit niedrigem Dampfdruck, z. B. polycyclische Arene^[13], höhere *n*-Alkane^[6], Phthalsäureester^[14], Cyclopentadienylmetallkomplexe^[15], Pentandionatometallkomplexe^[16] und eine Anzahl biochemisch interessanter Stoffe, z. B. Porphyrine^[17], Zucker, Aminosäuren und Proteine^[9]. Außerdem wurden Oligosiloxane^[18] und Oligostyrole^[19–21] untersucht.

Es sind mehrere Arten der chromatographischen Trennung bekannt, z. B. die Fluid-Fest-^[13] und Fluid-Flüssig-Chromatographie^[14] sowie die Chromatographie an Gelen^[22]; auch eine Trennung unter Fällung und Wiederauflösung wurde vorgeschlagen^[20, 23]. Die Apparaturen waren zunächst von einfacher Konstruktion^[5, 6], später genügten sie jedoch auch höheren Ansprüchen im Hinblick auf die Wählbarkeit der Trennbedingungen^[8, 9, 14, 24, 25] einschließlich der Programmierung von Temperatur und Druck^[18, 23, 26]. Für die Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen geeignete Detektoren waren Gegenstand einer wichtigen Untersuchung^[27].

Die grundlegenden Aspekte dieser Methode fanden durch mehrere Arbeitsgruppen Berücksichtigung. So wurde die Löslichkeit in komprimierten Gasphasen behandelt^[9, 28, 29] und eine Reihe wichtiger Phasendiagramme ermittelt^[30–34]. Weitere Untersuchungen betrafen druckabhängige Verschiebungen von Gleichgewichten^[35], Nichtidealität von Gasen^[12], Kapazitätsverhältnisse^[6, 36] und für die Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen modifizierte van-Deemter-Gleichungen^[28, 37, 38].

2. Überkritische fluide Phasen

Einige der niedrigsiedenden Lösungsmittel, von denen erwartet werden kann, daß sie im überkritischen, verdichteten Zustand spezifische Stoffklassen lösen, sind in Tabelle 1^[10, 26] aufgeführt. Andere Lösungsmittel können einer solchen Liste hinzugefügt werden^[9], noch andere wie Dimethylether, Trimethylamin und Tetrahydrofuran sollten getestet werden.

Tabelle 1. Eigenschaften einiger Verbindungen für die Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen.

Verb.	Kp [°C] bei 1 atm	kritische Daten		
		Tc [°C]	Pc [atm]	ρc [g/cm³]
CO ₂	−78.5	31.3	72.9	0.448
NH ₃	−33.4	132.3	111.3	0.24
H ₂ O	100	374.4	226.8	0.344
Methanol	64.7	240.5	78.9	0.272
Ethanol	78.4	243.4	63.0	0.276
Isopropanol	82.5	235.3	47.0	0.273
Ethan	−88	32.4	48.3	0.203
<i>n</i> -Propan	−44.5	96.8	42.0	0.220
<i>n</i> -Butan	−0.5	152.0	37.5	0.228
<i>n</i> -Pantan	36.3	196.6	33.3	0.232
<i>n</i> -Hexan	69.0	234.2	29.6	0.234
2,3-Dimethylbutan	58.0	226.8	31.0	0.241
Benzol	80.1	288.9	48.3	0.302
Dichlordifluormethan	−29.8	111.7	39.4	0.558
Dichlorfluormethan	8.9	178.5	51.0	0.522
Trichlorfluormethan	23.7	196.6	41.7	0.554
1,2-Dichlortetrafluorethan	3.5	146.1	35.5	0.582
Chlortrifluormethan	−81.4	28.8	39.0	0.58
NO	−89	36.5	71.4	0.457
Diethylether	34.6	193.6	36.3	0.267
Ethylmethylether	7.6	164.7	43.4	0.272

Die Lösefähigkeit eines Lösungsmittels kann in erster Näherung durch den Löslichkeitsparameter $\delta = \sqrt{\Delta H/V}$ abgeschätzt werden. Hierbei ist ΔH die Verdampfungsenthalpie und V das Molvolumen^[39]. Das Konzept des Löslichkeitsparameters kann auch auf überkritische fluide Phasen übertragen werden^[7, 39]:

$$\delta = 1.25 P_c^{0.5} (\rho_{r,g}/\rho_{r,l}) \quad (1)$$

P_c ist der kritische Druck, $\rho_{r,g}$ die reduzierte Dichte der fluiden Phase und $\rho_{r,l}$ die reduzierte Dichte der entsprechenden flüssigen Phase. Nimmt man an, daß bei gut löslichen Verbindungen die Löslichkeitsparameter der fluiden Phase und des Gelösten etwa gleich groß sind, so läßt sich abschätzen, welche überkritische fluide Phase bei welchem Druck für ein gegebenes Substrat geeignet sein könnte. Es ist jedoch zu erwarten, daß die üblichen Einschränkungen für das Löslichkeitsparameterkonzept auch für verdichtete Gasphasen gelten. Insbesondere werden spezifische Wechselwirkungen für polare und H-Brücken bildende Lösungsmittel von Bedeutung sein. Wenn die Dichte der überkritischen mobilen Phase zunimmt, wird auch der Löslichkeitsparameter δ größer; höhere δ -Werte werden oft für Substanzen höheren Molekulargewichtes benötigt. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß die Dichte der überkritischen fluiden Phasen oft niedriger als die Dichte von Flüssigkeiten unterhalb ihres Siedepunktes ist und daß diese Eigenschaft die Basis für die potentiell höhere Wirksamkeit der fluiden Phasen bildet. Diese Aussage wird von einigen in Tabelle 2 aufgeführten Eigenschaften für Niederdruckgase, Flüssigkeiten und überkritische fluide Phasen gestützt^[10].

Tabelle 2. Größenordnung einiger physikalischer Eigenschaften von Gasen, Flüssigkeiten und überkritischen fluiden Phasen [10].

Eigenschaft	Symbol	Einheit	Gas	Flüssigkeit	Überkritische fluide Phase
Dichte	ρ	[g/cm³]	10^{-3}	1	0.3
Diffusionskoeffizient	D	[cm²/s]	10^{-1}	$5 \cdot 10^{-6}$	10^{-3}
Viskosität	η	[g cm⁻¹ s⁻¹]	10^{-4}	10^{-2}	10^{-4}

Obwohl in Tabelle 2 nur Größenordnungen angegeben sind, geht daraus hervor, daß der Diffusionskoeffizient von fluiden Phasen zwischen den Werten für Gase und Flüssigkeiten liegt, während die Viskosität etwa ebenso groß wie in Gasen ist. Da nun der Diffusionskoeffizient und die Viskosität neben der Packungsgeometrie den radialen Massentransport in den Trennsäulen bestimmen, sollten entsprechend niedrige Bodenhöhen (HETP) erreichbar sein. Es wird allerdings dabei angenommen, daß der Diffusionskoeffizient des Substrats sich ähnlich verhält wie der der fluiden Phase. Die niedrige Viskosität führt mit steigender Dichte auch zu höheren Reynolds-Zahlen $R_{e,p} = (d_p \bar{v} \rho)/\eta$ als bei Flüssigkeiten. Die Reynolds-Zahl $R_{e,p}$ ist auf die Partikelgröße d_p bezogen, \bar{v} ist die durchschnittliche lineare Geschwindigkeit der mobilen Phase in den Kanälen um die Partikel und in den Partikeln, ρ ist die Dichte und η die dynamische Viskosität^[38]. Das Verhältnis ρ/η kann bei fluiden Phasen 10^3 s cm^{−2} überschreiten, während es bei Flüssigkeiten und Niederdruckgasen um ein oder zwei Größenordnungen geringer ist. Reynolds-Zahlen oberhalb 10 führen in gepackten Trennsäulen zu Turbulenz, die den radia-

len Massentransport weiter begünstigt und die Profile der Durchflußgeschwindigkeit unwirksam macht.

Es sollte darauf hingewiesen werden, daß es nicht die Dichte der fluiden Phase ist, die eng mit den Löseigenschaften, der Viskosität und der Diffusion zusammenhängt, sondern das freie Volumen im Verein mit der Molekülgeometrie und spezifischen Wechselwirkungen zwischen fluider Phase und Substrat. Man könnte schließen, daß das freie Volumen so hoch zu halten ist, wie sich das mit dem notwendigen Lösevermögen verträgt. Außer den Löseigenschaften und dem freien Volumen ist die Temperatur von Bedeutung, denn die Zersetzungstemperatur des Substrats darf nicht überschritten werden. Außerdem dürfte eine Trenntemperatur wesentlich oberhalb der kritischen Temperatur von Vorteil sein; die Isothermen im Druck-Dichte-Diagramm (Abb. 1) zeigen sehr hohe Kompressibilitäten in der Nähe der kritischen Temperatur, die auf eine noch vorhandene Ähnlichkeit der physikalischen Eigenschaften mit denen von Flüssigkeiten hinweisen. Anhebung der Temperatur wird η verringern und D vergrößern. Außerdem wird in diesem Bereich der hohen Kompressibilität eine Druckprogrammierung schwierig, die ein stetiges und immer langsameres Ansteigen des Druckes zum Ziele hat.

3. Apparatives

Die Entwicklung der Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen war dadurch benachteiligt, daß längere Zeit keine Apparatekonstruktion bekannt war, die beliebig wählbare und voneinander unabhängige Einstellungen der Trennpараметer wie Druck, Temperatur, Durchflußmenge und Zusammensetzung der mobilen Phase ermöglicht hätte. Ebenfalls war ein Detektor vonnöten, der auch bei höheren Drücken

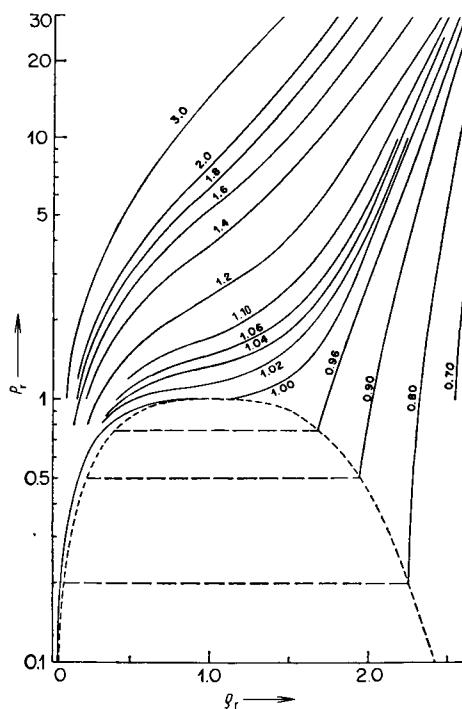


Abb. 1. Reduzierter Druck P_r gegen reduzierte Dichte ρ_r , aufgetragen mit der reduzierten Temperatur T_r als Parameter. Der Zweiphasenbereich ist durch die gestrichelte Kurve eingegrenzt (nach [7]).

eingesetzt werden konnte und der nach Möglichkeit unabhängig von Druckschwankungen war. Die Apparatur der Abbildung 2 wurde unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte gebaut^[20, 23]. Das charakteristische Konstruktionsmerkmal ist die dreistufige Druckkaskade. Jedes Druckniveau wird dabei durch einen elektronischen Regler gesteuert.

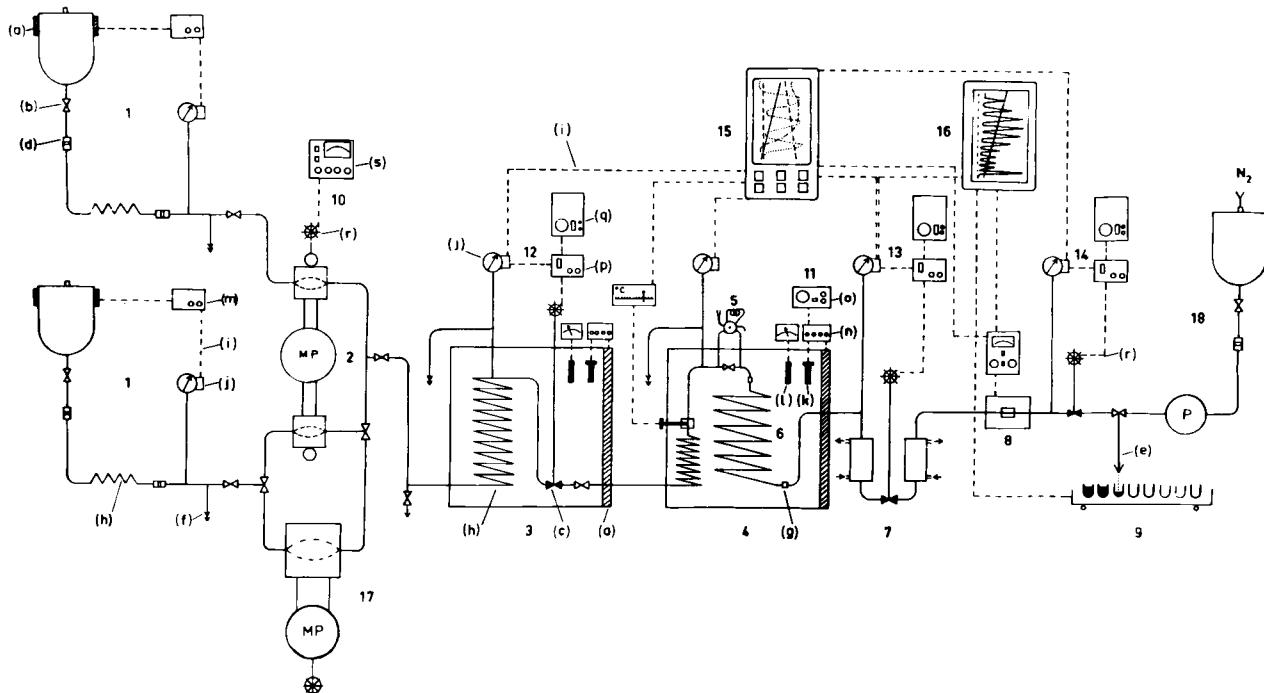


Abb. 2. Chromatograph für überkritische fluide Phasen. Die mit Nummern gekennzeichneten Teile der Apparatur sind im Text erläutert. Erklärung der Symbole für die Bauelemente: (a) Heizelement; (b) Absperrenventil; (c) Regulierventil; (d) Filter aus Sintermetall; (e) Auslaß; (f) Ausgang mit Berstscheiben-Sicherheitsventil; (g) Anschlußstücke für Trennsäule; (h) Rohrspirale; (i) elektrische Verbindungen; (j) Manometer; (k) Thermoelement; (l) mechanisches Quecksilbermanometer; (m) Relais für Heizstromkreis; (n) Temperaturkontrollvorrichtung; (o) Temperaturprogrammierer; (p) Regler für Regelkreis; (q) Programmierer für Regelkreis; (r) Schrittmotor für die Regelung der Fördermenge einer Pumpe oder für den Durchfluß eines Feinregulierventsils; (s) Programmierer für die Fördermenge der Pumpe (nach [23]).

Der Reglerkreis (13) (siehe Abb. 2) erlaubt die Programmierung des Druckes der chromatographischen Trennsäule (6). Diese Druckprogrammierung mit dem Steuergerät (11) ist unabhängig von einer gleichzeitigen Temperaturprogrammierung des Säulenofens (4). Durch den Reglerkreis (12) wird der Druck im Förderteil der Apparatur (1, 2, 3), unabhängig von Druck und Temperatur im Säulenteil, konstant und auf einem höheren Niveau gehalten. Durch die Konstanthaltung des Wirkungsgrades der Pumpe wird außerdem eine Programmierung von Fördermenge und Zusammensetzung der mobilen Phase erleichtert (10). Im Förderteil ermöglicht es eine Doppelkopfmembranpumpe (Maximaldruck 500 bar) (2), Lösungsmittel gleichzeitig von zwei Tanks (1) zu fördern; die vereinigten Lösungsmittel treten in den Ofen (3) ein. Im Ofen (3) wird eine konstante überkritische Temperatur aufrechterhalten; Pulsationen werden durch das Puffervolumen einer Rohrspirale größeren Durchmessers geglättet. Mit einer weiteren Pumpe (17) können hohe Drücke (3000 bar) erreicht werden.

Die überkritische mobile Phase vom Ofen (3) tritt jetzt in den Ofen (4) ein, passiert zunächst eine Spirale, die für die Anpassung an die Temperatur des Ofens (4) sorgt, anschließend die Vorrichtung zur Probeninjektion (5) und dann die Trennsäule selbst (6). Das Eluat aus der Säule wird durch zwei um ein Entspannungsventil gruppierte Wärmeaustauscher (7) wieder verflüssigt, durchläuft den UV-Detektor (8) und wird in den Fällen, in denen der Siedepunkt der mobilen Phase unterhalb der Raumtemperatur liegt, durch ein Hilfslösungsmittel (18) aufgenommen. Das Eluat wird schließlich im Fraktionssammler (9) aufgefangen. Im Detektorteil (7, 8) wird der Druck durch den Regelkreis (14) oberhalb des Dampfdrucks der nunmehr flüssigen mobilen Phase bei Raumtemperatur gehalten. Das Detektorsignal und der Säulendruck werden durch einen Schreiber (16) aufgezeichnet, während die Temperatur des Kolonnenofens (4) und der mobilen Phase sowie die anderen Betriebsbedingungen vom Schreiber (15) notiert werden.

4. Trennungen

Mit dem in Abschnitt 3 beschriebenen Chromatographen wurden durch anionische Initiatoren hergestellte Oligostyrole (1) mit einem Gewichtsmittel des Molekulargewichtes von $\bar{M}_w = 900$ an einem porösen Silicagel mit 90 % *n*-Pentan/10 %

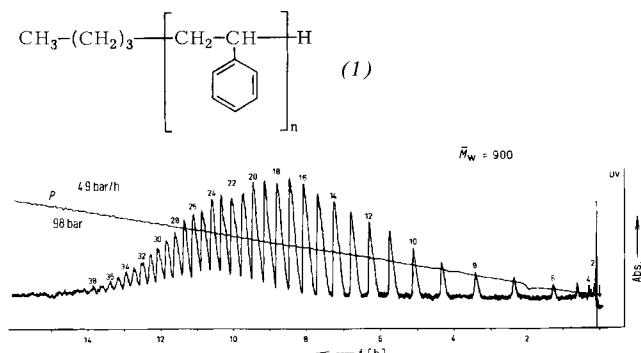


Abb. 3. Chromatogramm eines Styroligomers (1) mit nominal $\bar{M}_w = 900$. Mobile Phase: 90 % *n*-Pentan/10 % Methanol (v/v), Fördermenge: 1.9 ml/min (NTP), stationäre Phase: Porasil A (poröses Silicagel, Waters Associates), Partikeldurchmesser: 37–75 µm, Porengröße: <100 Å. Probenmenge: 20 mg in 100 µl Cyclohexanolösung, $T=235^\circ\text{C}$. Die Zahlen an den Peaks entsprechen dem Oligomerisationsgrad (nach [23]).

Methanol (v/v) als mobiler Phase getrennt. Das erhaltene Chromatogramm ist in Abbildung 3 gezeigt. Der Pfeil markiert den Zeitpunkt der Probeninjektion. Die abwärts geneigte Linie *P* gibt den Druck an, der durch den Regelkreis am Kolonnenausgang [(13) in Abb. 2] vorgegeben wird. Der Druck, der zu Anfang 25 bar beträgt, steigt linear mit einer Geschwindigkeit von 4.9 bar/h an, bis 98 bar nach 15 h erreicht werden. Die Temperatur wird während der Trennung bei 235°C konstant gehalten. Diese Temperatur liegt wesentlich oberhalb der geschätzten kritischen Temperatur der Mischung [T_c (Mischung) $\approx 207^\circ\text{C}$; T_c (*n*-Pentan) $= 196.6^\circ\text{C}$; T_c (Methanol) $= 240^\circ\text{C}$]. Der Druckabfall von $\Delta P = 300$ bar über der hier verwendeten Kolonne von 2 mm innerem Durchmesser (i.D.) ist erheblich und auf die kleine Partikelgröße zurückzuführen. Wie Abbildung 3 zeigt, wurden die oligomeren Spezies bis zu einem Oligomerisierungsgrad von $n = 38$ getrennt. Bei einem Gewichtsmittel des Molekulargewichtes von $\bar{M}_w = 2200$ konnten Peaks bis zu $n = 50$ aufgelöst werden. Eine möglichst stetige Zunahme des Druckes ist jedoch erforderlich.

Ohne Drucksteigerung – ob stetig oder in Stufen – ist nur ein Teil der Oligomere zu eluieren und aufzulösen^[23]. Sogar eine Änderung der Geschwindigkeit des Druckprogramms verändert die Trennleistung erheblich, wie Abbildung 4 demonstriert. Die Steigerung des Druckes um 6.6 bar/h führt

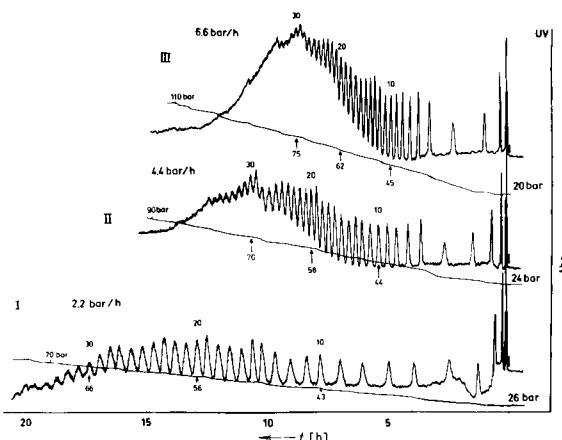


Abb. 4. Chromatogramme eines Styroligomers (1) mit nominal $\bar{M}_w = 2200$. Lineares Druckprogramm mit unterschiedlichen Drucksteigerungsgeschwindigkeiten. Druckabfall über der Säule: 25 bar. Mobile Phase: 95 % *n*-Pentan/5 % Methanol (v/v), stationäre Phase: Porasil A, Probenmenge: 40 mg in 100 µl Cyclohexanolösung, Trennsäule: 6 m × 3 mm i.D., $T=220^\circ\text{C}$. Spur III: 6.6 bar/h Steigerung, 2.6 ml/min; Spur II: 4.4 bar/h Steigerung, 3.0 ml/min; Spur I: 2.2 bar/h Steigerung, 3.2 ml/min. Die Zahlen an den Peaks entsprechen dem Oligomerisationsgrad. Die Zahlen unterhalb der Pfeile bedeuten die Elutionsdrücke für die Peaks 10, 20 und 30 (nach [23]).

zu einer viel schlechteren Auflösung als die Drucksteigerung um 2.2 bar/h, während bei 4.4 bar/h eine mittlere Auflösung erzielt wird. Naturgemäß ist mit einer verbesserten Auflösung eine Abnahme des unaufgelösten „Untergrundes“ verbunden. Ähnliche Auswirkungen der Drucksteigerungs-Geschwindigkeit wurden schon bei Oligosiloxanen^[18] beobachtet. Vergleicht man in Abbildung 4 die Elutionsvolumina, bei denen der gleiche Peak eluiert wird, so ergibt sich, daß die zugehörigen Drücke nicht so stark voneinander abweichen wie man erwarten sollte. Der Elutionsdruck ist danach wesentlicher als das Elutionsvolumen. Die Elutionsdrücke für die Peaks 10, 20 und 30 sind zum einfacheren Vergleich an die Kurven geschrieben worden. Ein analoges Resultat erhält man, wenn das Druckprogramm beibehalten wird, die Durchflußmengen

aber verändert werden. Auch hier bestimmt der Elutionsdruck die Elutionszeit.

Neben dem Druck ist auch die Temperatur von Wichtigkeit für die Trennung der Styroligomere an porösem Silicagel mit *n*-Pantan/Methanol. Aus Abbildung 5 geht hervor, daß die Auflösung sehr stark mit sinkender Temperatur abnimmt,

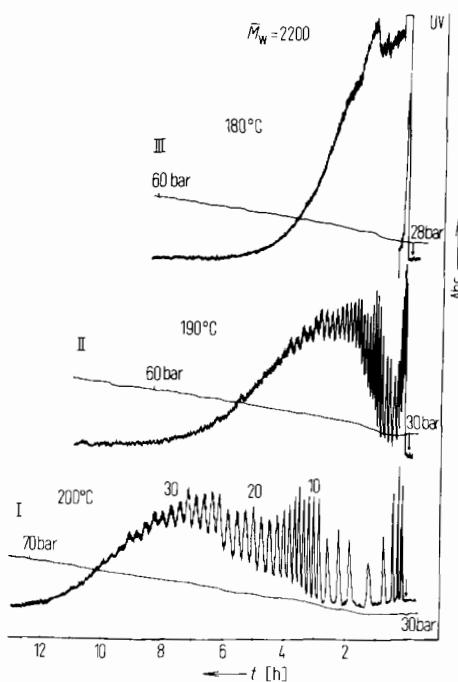


Abb. 5. Chromatogramme bei mehreren Temperaturen unter und nahe der kritischen Temperatur T_c : bei 180, 190 und 200°C. Vergleichbare Druckprogramme mit 3.3 bar/h Steigerung. Mobile Phase: 95% *n*-Pantan/5% Methanol, Durchflußgeschwindigkeiten: 2.8 ml/min (Spur III), 3.0 ml/min (Spur II) und 2.8 ml/min (Spur I). Andere Bedingungen wie in Abb. 4 (nach [23]).

sobald die kritische Temperatur T_c unterschritten wird. Die Drücke waren auch zu Beginn der Chromatogramme hoch genug, um die mobile Phase im flüssigen statt im dampfförmigen Zustand zu halten. Wird jedoch T_c annähernd erreicht oder aber überschritten, dann verbessert sich die Auflösung wesentlich, wie der Vergleich der Abbildungen 5 und 6 zeigt. Es ist daraus zu schließen, daß für eine gute Auflösung die Temperatur die kritische Temperatur wesentlich überschreiten sollte.

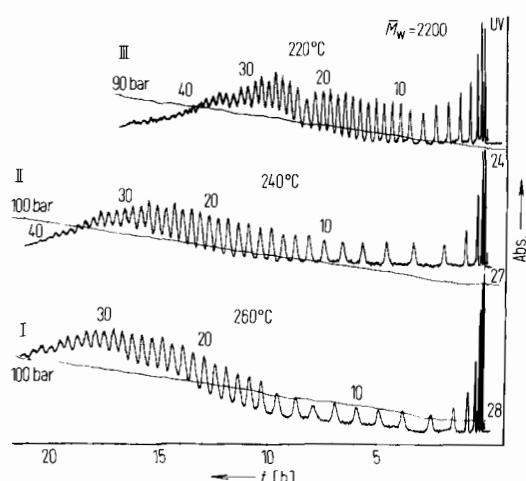


Abb. 6. Chromatogramme bei mehreren Temperaturen oberhalb T_c : 220, 240 und 260°C. Druckprogramm und mobile Phase wie in Abb. 5. Durchflußgeschwindigkeiten: 2.75 ml/min (Spur III), 3.0 ml/min (Spur II) und 3.3 ml/min (Spur I). Andere Bedingungen wie in Abb. 4 (nach [23]).

Da für höhere Oligomerisierungsgrade bessere Auflösung bei Verringerung des unaufgelösten Untergrundes wünschenswert ist, wurde ein Temperaturprogramm gleichzeitig mit dem üblichen Druckprogramm durchgeführt. Beim Chromatogramm der Abbildung 7 wurden 220°C erst nach Elution

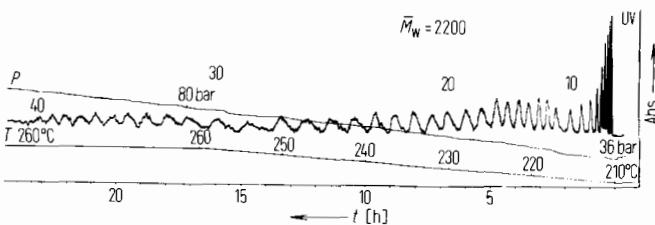


Abb. 7. Chromatogramm, mit kombiniertem Druck- und Temperaturprogramm aufgenommen. Mobile Phase: 95% *n*-Pantan/5% Methanol, 4.2 ml/min. Der Druck beträgt zu Anfang 36 bar und steigt linear mit 2.2 bar/h. Die Temperatur beträgt zu Anfang 210°C und steigt linear mit 3°C/h bis 260°C. Andere Bedingungen wie in Abb. 4 (nach [23]).

von 13 Peaks erreicht, so daß die Temperaturen von 220 bis 260°C für die höheren oligomeren Spezies reserviert blieben. Die Auflösung der Peaks für die höheren Spezies scheint besser als in isothermen Chromatogrammen zu sein. Eine Temperaturerhöhung bei konstantem Druck setzt die Dichte herab. Dies dürfte bei einem vorgegebenen Druckprogramm in vielen Fällen zu einem geringeren Anstieg der Löslichkeit als bei konstanter Temperatur führen, obschon die Temperatursteigerung selbst im allgemeinen eine Löslichkeitserhöhung bewirkt.

Eine Änderung in der Zusammensetzung der mobilen Phase durch Variation des Anteils an Methanol verändert ebenfalls das Trennergebnis. Reines *n*-Pantan ohne Methanol führt zu kürzeren Retentionszeiten und schlechterer Auflösung als *n*-Pantan mit 5% Methanol (Abb. 8). Daraus kann geschlossen

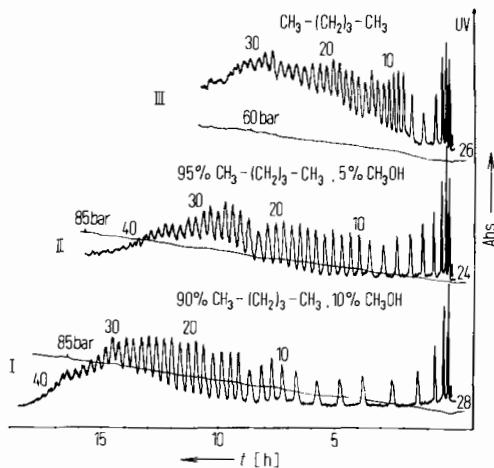


Abb. 8. Chromatogramme, bei mehreren Methanolgehalten der mobilen Phase aufgenommen. Drucksteigerung 3.3 bar/h. Spur III: 100% *n*-Pantan, 3.1 ml/min; Spur II: 95% *n*-Pantan/5% Methanol, 2.75 ml/min; Spur I: 90% *n*-Pantan/10% Methanol, 3.1 ml/min. Andere Bedingungen wie in Abb. 4 (nach [23]).

werden, daß die Adsorption an Silicagel nicht der dominante Trennmechanismus sein kann, denn die Retentionszeiten sollten dann durch Zugabe von Methanol aufgrund konkurrierender Adsorption und der Nichtlöslichkeit von Oligostyrolen in einer adsorbierten Methanolschicht verkürzt werden. Bei

10% Methanol werden die Retentionszeiten noch länger, wahrscheinlich weil die Löslichkeit in der mobilen Phase durch den höheren Methanolanteil noch weiter abnimmt. Wird außer diesem Resultat berücksichtigt, daß beim verwendeten Trägermaterial auch bei Säulen mit 2–5 mm Durchmesser immer noch ein erheblicher Druckabfall über der Säule herrscht, dann legt dies einen Trennmechanismus nahe, der durch kontinuierliche Fällung und Wiederauflösung des Substrates auf der Säule gekennzeichnet ist. Der Druckabfall und der niedrige Anfangsdruck am Kolonnenausgang führen zunächst zur Fällung des auf die Säule gegebenen Oligostyrols. Der programm-gemäß steigende Druck erhöht dann langsam die Löslichkeit und führt durch die kontinuierliche Fällung und Wiederauflösung zu einer verschiedenen schnellen Wanderung der oligomeren Spezies durch die Säule. In diesem Zusammenhang ist der experimentelle Befund von Interesse, daß viele Substanzen erst ab einem bestimmten, recht scharf definierten Schwellendruck in den überkritischen fluiden Phasen löslich werden^[9]. Diese Verhaltensweise spiegelt sich auch in den Kapazitätsverhältnissen k' von Säulen wider, deren Trennmechanismus wahrscheinlich in einer Verteilung fluid-flüssig besteht^[34]. Das Kapazitätsverhältnis ist definiert durch

$$k' = \frac{c''}{c'} \cdot \frac{V''}{V'} = K \frac{V''}{V'} \quad (2)$$

Hierin sind c'' und c' die Substratkonzentrationen in der stationären (") und der mobilen (') Phase, V'' und V' die Volumina dieser Phasen und K der Verteilungskoeffizient. Die Kapazitätsverhältnisse k' für vier Kohlenwasserstoffe höheren Molekulargewichtes sind in Abbildung 9 gegen die Dichte aufgetragen^[36]. Wird die Dichte des überkritischen CO_2 durch eine Druckerhöhung von etwa 2 bar um 0.01 g/cm^3 angehoben,

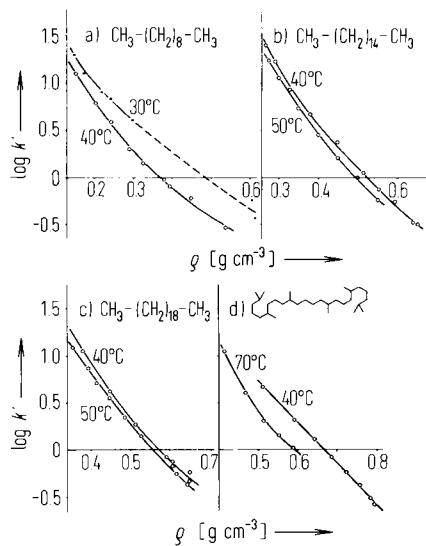


Abb. 9. Abhängigkeit des Kapazitätsverhältnisses k' von Kohlenwasserstoffen von Druck und Temperatur der mobilen Phase CO_2 . a) Decan, b) Hexadecan, c) Eicosan, d) Squalan. Stationäre Phase: chemisch an Silicagel (Durapak, 200–200 mesh, Waters Association) gebundenes Carbowax 400. Trennsäule: 2 m × 1.4 mm i. D., Durchfluß: $0.5 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$ (NTP), Probenmenge: 0.2 mm^3 , kein Druckprogramm (nach [36]).

dann ändert sich k' bis zu einer Größenordnung. Eine relativ kleine Druckerhöhung in einem bestimmten Druckbereich wird also genügen, um ein Substrat an einer Säule in Bewegung zu setzen.

Einige andere homologe Reihen außer den Oligostyrolen wurden als Testsubstanzen für die durch Fluidchromatographie erreichbare Auflösung verwendet. Abbildung 10 zeigt zwei Chromatogramme einer Serie von *n*-Alkanen von C_5 bis C_{22} mit CO_2 als mobiler fluider Phase und Druckprogrammierung. Die Homologen sind gut getrennt, auch im Chromatogramm mit erhöhter Durchflußmenge und Drucksteigerung (Abb. 10b). Gute Trennungen haben sich ebenfalls mit den

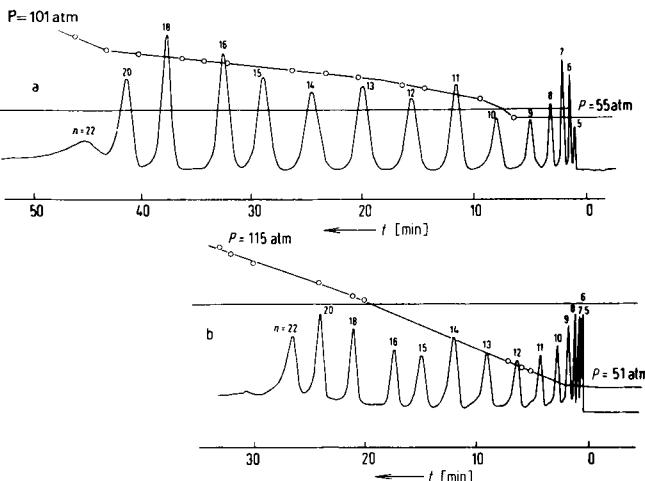


Abb. 10. Chromatogramme von *n*-Alkanen (C_5 bis C_{22}) mit CO_2 als mobiler Phase. Stationäre Phase: chemisch an poröses Silicagel (Porasil C) gebundenes Carbowax 400. a) 40°C , 11 min (NTP), langsame Drucksteigerung; b) 50°C , 21 min (NTP), schnelle Drucksteigerung. Trennsäule: $3 \text{ m} \times 1.7 \text{ mm}$ i. D. (nach [28]).

homologen Di-*n*-alkylphthalaten^[14] bei isobarer Arbeitsweise mit Isopropanol als fluider Phase erzielen lassen (Abb. 11). Falls die Glieder mit ungerader Anzahl der C-Atome in der Alkoholkomponente (di-*n*-C₉, di-*n*-C₁₁...) ebenfalls vorhanden wären, würde die Auflösung naturgemäß weniger gut ausfallen. Man kann jedoch annehmen, daß ein Druckprogramm die Auflösung und die Peakbreite der höheren Phthalate verbessern wird.

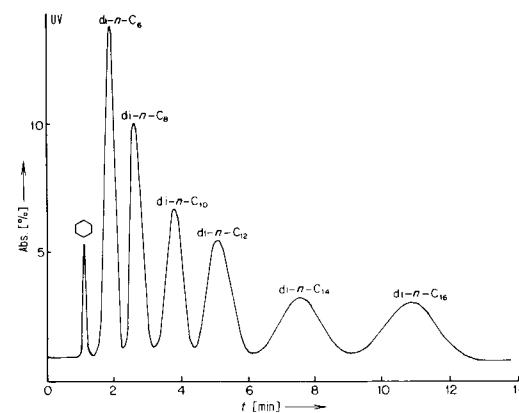


Abb. 11. Chromatogramm von Di-*n*-alkylphthalaten in Isopropanol als mobiler Phase. Stationäre Phase: Alkathene (10 Gew.-%) an Sil-O-Cel, 50/70 mesh. $T=245^\circ\text{C}$, $P=49.5 \text{ bar}$, Trennsäule: $2 \text{ m} \times 6 \text{ mm}$ i. D. (nach [14]).

5. Diskussion der Grundlagen

Die Brauchbarkeit der Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen hängt wie bei anderen chromatographischen

Verfahren von der Auflösung R ab. Deshalb ist die wohl wichtigste Gleichung der Chromatographie

$$R = \frac{1}{4} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k'_2}{1 + k'_2} \cdot \sqrt{N} \quad (3)$$

Diese Gleichung verknüpft R mit anderen Fundamentalgrößen der Chromatographie, u.a. mit der relativen Retention α :

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{K_2}{K_1}; \quad k'_2 > k'_1 \quad (4)$$

Hierbei beziehen sich die Indices 1 und 2 auf zwei Verbindungen, deren chromatographische Peaks benachbart sind und deren Auflösung in Frage steht. Die Größen k' und K sind Kapazitätsverhältnis bzw. Verteilungskoeffizient [Gl. (2)]. Die Anzahl der theoretischen Böden N ergibt sich mit $N = L/H$ aus Säulenlänge L und theoretischer Bodenhöhe H (HETP). Der zweite Term $(\alpha - 1)/\alpha$ macht $\alpha > 1$ notwendig. Dies muß durch eine entsprechende Wahl von mobiler und stationärer Phase erreicht werden. Andernfalls wird keine Auflösung erzielt, auch nicht bei hohen Bodenzahlen N. Der dritte Term $k'_2/(1 + k'_2)$ verändert sich ab $k'_2 > 20$ nur noch geringfügig. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß bei der Fluidchromatographie die k' klein werden können, falls der Druck zu hoch gewählt wird.

Homologe Reihen sind als Testsubstanzen gut geeignet, um zu ermitteln, ob α genügend von 1 verschiedene Werte annehmen kann. Benachbarte höhere Homologe unterscheiden sich mit steigender Größe zunehmend weniger in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften. In Abbildung 12 sind

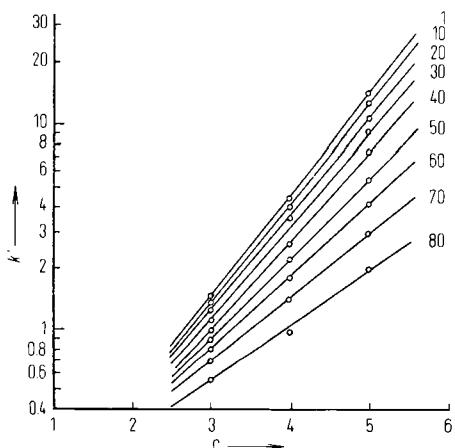


Abb. 12. Kapazitätsverhältnisse k' von *n*-Alkanen mit 3, 4 und 5 C-Atomen in CO_2 bei 40°C als mobiler Phase, aufgetragen mit dem Druck P_{CO_2} (in kp/cm^2) als Parameter. Stationäre Phase: Squalan an Sil-O-Cel, 50/70 mesh, Trennsäule: 1 m \times 6 mm i. D. (nach [6]).

die k' -Werte von Propan, *n*-Butan und *n*-Pentan gemessen an einer Silicagel/Squalan-Säule mit CO_2 als mobiler Phase in Abhängigkeit vom Druck wiedergegeben^[6]. Die graphische Darstellung weist aus, daß die Unterschiede von k' zwischen benachbarten Verbindungen bei isobarer Arbeitsweise erheblich sind und auch noch ausreichen dürften, um diese Verbindungen bei Anwendung eines Druckprogramms mit nicht zu schneller Drucksteigerung zu trennen. Aus den Messungen der Kapazitätsverhältnisse der *n*-Alkane bis C_{13} ^[40] (Abb. 13) können für die isobare Arbeitsweise analoge Folgerungen ge-

zogen werden. Falls $R = 1$ ausreicht (2 % Bandenüberschneidung), erhält man aus Gl. (3) und Werten für $(\alpha - 1)/\alpha$ zwischen 0.5 und 0.7 und für $k'_2/(1 + k'_2)$ zwischen 0.5 und 0.9 ein notwendiges N, das zwischen 50 und 300 theoretischen Böden liegt. Es ist nicht schwierig, eine solche Anzahl theoretische Böden bei Säulenlängen von 2–3 m zu erreichen (vgl. Abb. 15 und 16).

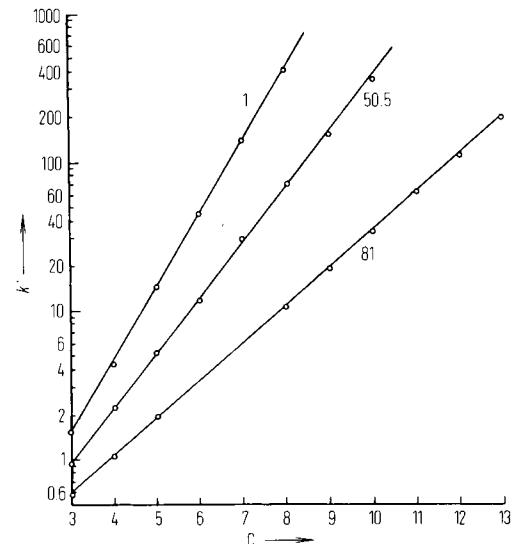


Abb. 13. Kapazitätsverhältnisse k' von *n*-Alkanen mit 3 bis 13 C-Atomen in CO_2 bei 40°C als mobiler Phase, aufgetragen mit dem Druck P_{CO_2} (in kp/cm^2) als Parameter. Stationäre Phase: 23 Gew.-% Squalan an Sil-O-Cel, 50/70 mesh (nach [40]).

Die k' -Werte für eine Reihe von homologen Di-*n*-alkylphthalaten unter Verwendung verschiedener Kombinationen von stationären und mobilen Phasen ergaben günstige α -Werte, wenn eine nichtpolare, stationäre Phase (Alkathene, ein Polyethylen niedrigen Molekulargewichts) mit einer polaren, mobilen Phase (Isopropanol) bei 245°C und Drücken zwischen 30 und $49.5 \text{ kp}/\text{cm}^2$ kombiniert wurde^[14]. Im Gegensatz dazu erhielt man mit einer polaren, stationären Phase (Polyethylen-glykol 6000) und einer nichtpolaren, mobilen Phase (*n*-Pentan) bei 213°C und Drücken zwischen 35 und $44.9 \text{ kp}/\text{cm}^2$ kleinere α -Werte. Bei der letztgenannten Kombination ergab sich bei einem Druck von $35 \text{ kp}/\text{cm}^2$ eine starke Änderung von α mit der Temperatur (Abb. 14), die zu durchaus brauchbaren α -Werten führt^[14]. Es wäre allerdings wünschenswert, ähnliche Messungen zusätzlich bei konstanter Dichte statt konstantem Druck durchzuführen. Man würde dann, welcher Anteil der Änderung von α auf die Änderung der Temperatur und nicht auf die Dichte zurückzuführen ist.

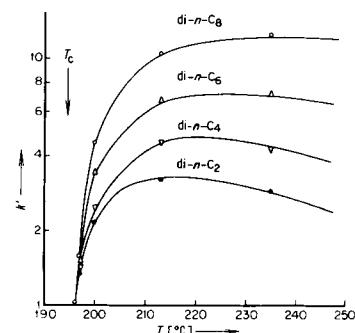


Abb. 14. Kapazitätsverhältnisse k' von Di-*n*-alkylphthalaten mit 12 bis 24 C-Atomen in Abhängigkeit von der Temperatur. Stationäre Phase: Polyethylen-glykol 6000 (≈ 23 Gew.-%) an Sil-O-Cel, mobile Phase: *n*-Pentan bei $35 \text{ kp}/\text{cm}^2$ (nach [14]).

Die Anzahl der theoretischen Böden N ist umgekehrt proportional zur Bodenhöhe H . Man kann daher die Einflüsse, die zur Peakverbreiterung führen und damit der Auflösung entgegenwirken, mit Hilfe von H beschreiben. In Abbildung 15 ist H gegen die mittlere lineare Geschwindigkeit \bar{v} der mobilen Phase in den Zwischenräumen zwischen den Partikeln für CO_2 als mobile Phase und n -Pentan als Substrat aufgetragen^[38]. Die Bodenhöhen steigen mit \bar{v} und dem Druck stark an. Der Anstieg mit dem Druck wird allerdings oberhalb 30 kp/cm² kleiner. Üblicherweise wird H in Form der van-Deemter-Gleichung beschrieben^[38]:

$$H = A + \frac{B}{\bar{v}} + C \cdot \bar{v} \quad (5)$$

Durch Extrapolation des Hochgeschwindigkeitsteils der Kurven auf $\bar{v}=0$ wird es wahrscheinlich, daß $A > 0$. Andererseits ist A nicht der Hauptbeitrag zu H bei höheren \bar{v} . Ähnliches gilt für den Beitrag des Terms B/\bar{v} , der in der Gaschromatographie zu einem Minimum in der Kurve Anlaß gibt. Reste dieses Minimums sind noch bei den Kurven für 5 und 10 kp/cm² zu erkennen. Es ist demnach der Term $C \cdot \bar{v}$, der schon bei mäßigem \bar{v} den größten Beitrag zu H liefert.

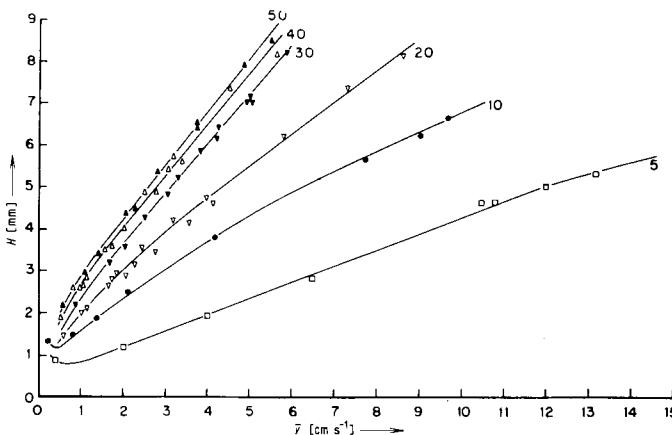


Abb. 15. Bodenhöhe H in Abhängigkeit von der Geschwindigkeit \bar{v} der fluiiden Phase CO_2 bei 40°C, aufgetragen mit dem Druck P_{CO_2} (in kp/cm²) als Parameter. Stationäre Phase: Squalan an Sil-O-Cel, 50/70 mesh. Substrat: n -Pentan (nach [38]).

Gleichung (5) kann detaillierter geschrieben werden^[41, 42]:

$$H = 2\lambda d_p + \frac{2\gamma D_m}{\bar{v}} + \left\{ 2 \frac{k'_2}{(1+k'_2)^2} \cdot t_s + \frac{\omega d_p^2}{D_m} \right\} \bar{v} \quad (6)$$

Dabei ist λ der Korrekturfaktor für Säulenpackung (≈ 0.5), d_p der Durchmesser der gepackten Partikeln, γ der Labyrinthfaktor der Diffusion (≈ 0.7), D_m der Diffusionskoeffizient des Substrats in der mobilen Phase, t_s die durchschnittliche Aufenthaltszeit eines Substratmoleküls in der stationären Phase zwischen dem Verlassen der mobilen Phase und dem Wiedereintritt in die mobile Phase und ω ein vom Strömungsmuster abhängiger Faktor.

Der erste Term (A) der Gl. (6) soll für die konvektive, longitudinale Durchmischung als Ursache der Peakverbreiterung gelten. Diese Durchmischung hängt nicht von \bar{v} ab und geht auf das Strömungsmuster mit seinen unterschiedlichen Geschwindigkeiten in den verschiedenen geformten interpartikulären Räumen zurück. Der zweite Term (B/\bar{v}) berücksichtigt die longitudinale Diffusion als Ursache der Peakverbreiterung. Da die relative Größe von D_m klein und die der üblicherweise verwendeten \bar{v} groß ist, kann dieser zweite Term wahrscheinlich in vielen Fällen vernachlässigt werden – eine Schlussfolgerung, die durch Abbildung 15 gestützt wird. Der dritte Term ($C \cdot \bar{v}$) besteht aus zwei additiven Gliedern. Das erste kommt durch die Nichteinstellung des Gleichgewichtes für den radikalen Transport des Substrates zwischen mobiler und stationärer Phase zustande. Es wird klein durch ein großes k' und ein kleines t_s , d. h. durch eine hohe Geschwindigkeit des Substrattransfers zwischen mobiler und stationärer Phase. Für dieses Glied dürfen ein möglichst niedriger Druck und eine möglichst hohe Temperatur neben einer möglichst dünnen Schicht der stationären Phase auf dem Trägerkorn von Vorteil sein. Das zweite Glied kann man auf den behinderten diffusiven und konvektiven radikalen Substrattransport in der mobilen Phase zwischen den Bereichen verschiedener Geschwindigkeiten in den interpartikulären Räumen zurückführen. Hier werden ein kleiner Partikeldurchmesser, eine höhere Temperatur und wohl auch turbulente Strömung vorteilhaft sein. Die eingangs erwähnten hohen Diffusionskoeffizienten und niedrigen Viskositäten für fluide Phasen sind für beide Glieder dieses Terms C von Bedeutung, denn sie führen zu einer Verkleinerung von t_s und ω .

Durch Verwendung von Partikeln mit kleinerem Durchmesser d_p wurde gezeigt, daß das zweite Glied von C bei höheren \bar{v} und höheren Drücken das wichtigere ist, zumindest für die verwendeten porösen Partikel. Abbildung 16 zeigt, daß eine Verringerung von d_p bei Konstanthaltung der anderen Bedingungen zu einer starken Verringerung von H führt. Bei dem kleinsten Partikeldurchmesser bleibt wenig Raum für

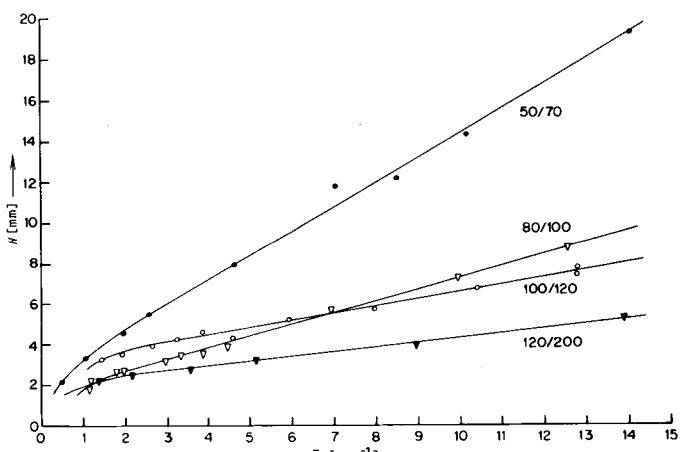


Abb. 16. Bodenhöhe H in Abhängigkeit von der Geschwindigkeit \bar{v} der fluiiden Phase CO_2 bei 40°C und 57 kp/cm², aufgetragen mit dem Partikeldurchmesser d_p (in mesh) als Parameter. Stationäre Phase: Squalan an Sil-O-Cel, Substrat: n -Pentan (nach [38]).

andere Beiträge zu H , außer dem Beitrag durch den A-Term^[38]. Hierzu wird angenommen, daß aufgrund der hohen Porosität der Partikel das erste Glied von C durch die Reduktion in d_p weniger beeinflußt wird.

6. Ausblick

Die apparative Entwicklung der Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen steht nach wie vor im Vordergrund

des Interesses. Benötigt werden leicht zu beherrschende und störungsanfällige Geräte, wie sie etwa für die Gas- und Flüssigkeitschromatographie kommerziell erhältlich sind. Die Geräte sollten automatische Druckregelungen und Programmierungen neben der in der Gaschromatographie üblichen Temperaturprogrammierung ermöglichen.

Gleichlaufend zur apparativen Entwicklung sind Untersuchungen über den Einfluß der Art der mobilen Phase auf die Auflösung und andere chromatographische Parameter von Interesse, z. B. in der Reihe von Propan bis Hexan. Es ist zu erwarten, daß die mobile Phase bei der Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen von größerer Bedeutung ist als zumindestens bei gaschromatographischen Trennungen. In diesem Zusammenhang sollten auch die Möglichkeiten, die sich aus hohen Reynolds-Zahlen und damit durch turbulente Strömungen ergeben, auf ihre praktische Verwertbarkeit zur Erhöhung der Trenneffizienz geprüft werden. Ebenfalls ist noch keine Untersuchung mit Zusammensetzungsgradienten für binäre mobile Phasen durchgeführt worden.

Die in der Gas- und Flüssigkeitschromatographie bewährten sowie die neu entwickelten stationären Phasen, einschließlich der gebundenen Phasen und der „porous layer beads“, sollten vollständiger auf ihr Verhalten in der Fluidchromatographie geprüft werden als dies bisher geschehen ist. Von Analogieschlüssen abgesehen ist es noch nicht ersichtlich, welche stationären Phasen für die Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen besonders geeignet sind. Man kann jedoch davon ausgehen, daß die Korngröße und das intrapartikuläre Volumen erheblich kleiner sein sollten als bei der Gaschromatographie.

Ein methodisches Charakteristikum der Fluidchromatographie stellen die Auswirkungen des Druckgradienten über der Trennsäule dar. Sowohl bei der Gas- als auch der Flüssigkeitschromatographie existiert kein derartig großer Einfluß des Druckgradienten auf das Löseverhalten und andere Eigenschaften der mobilen Phase. Es sollte versucht werden, diese Eigenart der Chromatographie mit überkritischen fluiden Phasen für die Verbesserung der Trennungen auszunutzen.

Eine neue Entwicklung der letzten Jahre wird Anwendung finden, nämlich die selektive Extraktion mit fluiden Phasen, an die sich zur Identifizierung und weiteren Trennung eine normale Dünnschichtchromatographie anschließt^{43]}.

Für die finanzielle Unterstützung der Arbeit danke ich der Arbeitsgemeinschaft Industrieller Forschungsvereinigungen.

Eingegangen am 4. Juli 1978 [A 239]

- [1] J. B. Hannay, J. Hogarth, Proc. Roy. Soc. (London) 29, 324 (1879).
- [2] P. Villard, Z. Phys. Chem. 23, 373 (1879).
- [3] H. S. Booth, R. M. Bidwell, Chem. Rev. 44, 447 (1949).
- [4] J. S. Rowlinson, M. J. Richardson, Adv. Chem. Phys. 2, 85 (1959).
- [5] E. Klesper, A. H. Corwin, D. A. Turner, J. Org. Chem. 27, 700 (1962).
- [6] S. T. Sie, W. van Beersum, G. W. A. Rijnders, Sep. Sci. 1, 459 (1966).
- [7] J. C. Giddings, M. N. Myers, L. McLaren, R. A. Keller, Science 162, 67 (1968).
- [8] N. M. Karayannis, A. H. Corwin, E. W. Baker, E. Klesper, J. A. Walter, Anal. Chem. 40, 1736 (1968).
- [9] M. N. Myers, J. C. Giddings in E. S. Perry, C. J. van Oss: Progress in Separation and Purification. Vol. 3. Wiley-Interscience, New York 1970, S. 133.
- [10] T. H. Gouw, R. E. Jentoft, J. Chromatogr. 68, 303 (1972).
- [11] M. N. Myers, J. C. Giddings, Anal. Chem. 38, 294 (1966).
- [12] P. D. Schettler, M. Eikelberger, J. C. Giddings, Anal. Chem. 39, 146 (1967).
- [13] S. T. Sie, G. W. A. Rijnders, Sep. Sci. 2, 755 (1967).
- [14] S. T. Sie, G. W. A. Rijnders, Sep. Sci. 2, 729 (1967).
- [15] R. E. Jentoft, T. H. Gouw, Anal. Chem. 44, 681 (1972).
- [16] N. M. Karayannis, A. H. Corwin, J. Chromatogr. Sci. 8, 251 (1970).
- [17] N. M. Karayannis, A. H. Corwin, J. Chromatogr. 47, 247 (1970).
- [18] J. A. Niemann, L. B. Rogers, Sep. Sci. 10, 517 (1975).
- [19] R. E. Jentoft, T. H. Gouw, J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed. 7, 811 (1969).
- [20] E. Klesper, W. Hartmann, J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed. 15, 9 (1977).
- [21] W. Hartmann, E. Klesper, J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed. 15, 713 (1977).
- [22] S. T. Sie, J. P. Bleumer, G. W. A. Rijnders, Gas Chromatogr. 1968, 235.
- [23] E. Klesper, W. Hartmann, Eur. Polym. J. 14, 77 (1978).
- [24] D. Bartmann, Ber. Bunsenges. Phys. Chem. 76, 336 (1972).
- [25] M. N. Myers, J. C. Giddings, Sep. Sci. 1, 761 (1966).
- [26] T. H. Gouw, R. E. Jentoft, Adv. Chromatogr. 13, 1 (1975).
- [27] O. Vitzthum, P. Hubert, M. Barthels, US-Pat. 3827859.
- [28] D. Bartmann, G. M. Schneider, J. Chromatogr. 83, 135 (1973); G. Schneider, Angew. Chem. 90, 762 (1978); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 17, Nr. 10 (1978).
- [29] S. Peter, G. Brunner, R. Riha, Chem.-Ing.-Tech. 46, 623 (1974); S. Peter, G. Brunner, Angew. Chem. 90, 794 (1978); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 17, Nr. 10 (1978).
- [30] D. Oeder, G. M. Schneider, Ber. Bunsenges. Phys. Chem. 73, 229 (1969).
- [31] K. G. Liphard, G. M. Schneider, J. Chem. Thermodyn. 7, 805 (1975).
- [32] G. M. Schneider, Pure Appl. Chem. 47, 277 (1976).
- [33] G. M. Schneider, Fortschr. Chem. Forsch. 13, 559 (1970).
- [34] G. M. Schneider, Adv. Chem. Phys. 17, 1 (1970).
- [35] J. C. Giddings, Sep. Sci. 1, 73 (1966).
- [36] V. van Wasen, G. M. Schneider, Chromatographia 8, 274 (1975).
- [37] D. Bartmann, Dissertation, Universität Bochum 1972.
- [38] S. T. Sie, G. W. A. Rijnders, Sep. Sci. 2, 699 (1967).
- [39] J. H. Hildebrand, R. L. Scott: The Solubility of Nonelectrolytes. Reinhold, New York 1950.
- [40] S. T. Sie, G. W. A. Rijnders, Anal. Chim. Acta 38, 31 (1967).
- [41] B. L. Karger in J. J. Kirkland: Modern Practice in Liquid Chromatography. Wiley-Interscience, New York 1971, S. 3.
- [42] S. G. Perry, R. Amos, P. I. Brewer: Practical Liquid Chromatography. Plenum Press, New York 1972.
- [43] E. Stahl, W. Schilz, Chem.-Ing.-Tech. 48, 773 (1976); Z. Anal. Chem. 280, 99 (1976).