

SFC – ‚Wenn die mobile Phase dem Druck nachgibt‘

Druckbeeinflussende Parameter in der SFC-Trennung

Stefan Bieber und Thomas Letzel

Analytische Forschungsgruppe am Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft der Technischen Universität München

Im **vorhergehenden Artikel** dieser Serie haben wir uns mit den stationären Phasen beschäftigt die in der ‚Supercritical Fluid Chromatography‘ (SFC) für achirale Trennungen eingesetzt werden können. Wie wir dort erfahren haben ist es nur schwer möglich, Trenneigenschaften von stationären Phasen in der SFC vorherzusagen. Aus diesem Grund wurden letztlich Klassifizierungsschemata etabliert, die es erlauben stationäre Phasen nach charakteristischen Eigenschaften einzuteilen. Dies hat somit zur Konsequenz, dass zu Beginn einer Methodenentwicklung zunächst verschiedene stationäre Phasen getestet werden müssen. In diesem Artikel möchten wir Ihnen nun aufzeigen, welche weiteren Parameter in der SFC Einfluss auf die Trennung nehmen können und somit ebenfalls bei der Methodenentwicklung berücksichtigt werden müssen.

Wie bereits im **ersten Artikel** dieser Serie erwähnt, verdient der thermodynamische Zustand der mobilen Phase in der SFC besondere Beachtung. Dieser kann durch Temperatur und Druck beeinflusst werden und je nach Einstellung in einem flüssigen, überkritischen oder gasförmigen Aggregatzustand der mobilen Phase resultieren. SFC Trennungen können, wie der Name bereits verrät, mit einer überkritischen mobilen Phase durchgeführt werden. Für reines Kohlendioxid (CO_2) liegt der kritische Punkt bei 73,8 bar und 31°C. Wird jedoch organisches Lösungsmittel als Modifizier zur Variation der Elutionskraft der mobilen Phase zugegeben, verlagert sich der kritische Punkt in Richtung höherer Temperatur und höherem Druck. Wird während der Trennung der Anteil an Modifizier erhöht (Gradientenelution), kann es somit passieren, dass sich der kritische Punkt des Gemisches an einen Punkt oberhalb der Betriebsparameter verlagert. Die mobile Phase geht somit in den flüssigen Aggregatzustand über. Das thermodynamische Verhalten von 2-Stoffgemischen ist deutlich komplexer als das von Reinstoffen, was eine Vorhersage der Lage des kritischen Punktes erschwert.¹ Der Punkt an dem sich

der thermodynamische Zustand der mobilen Phase während der Trennung ändert, ist in der Regel aber nicht feststellbar. Beim Übergang von superkritischem zum flüssigem Aggregatzustand kann es zur Phasentrennung zwischen CO_2 und Modifizier kommen, was sich auf die Retention auswirken kann und zu verstärktem Rauschen in der UV-Detektion führt.² Das Wissen um diese Zustandsänderung während Trennungen (vor allem bei hohen Modifizieranteilen) führte dazu, dass häufig von „subkritischen“ Trennungen die Rede ist. (Es sei hier erwähnt, dass kein „subkritischer“ Zustand von Stoffen existiert, gemeint ist ein flüssiger Zustand der mobilen Phase). Dies diente als Auslöser, für eine Debatte über den Namen und die Bedeutung der SFC. Die Phasentrennung kann vermieden werden, indem Trennungen bei Drücken oberhalb des kritischen Drucks und Temperaturen unterhalb der kritischen Temperatur (31°C) durchgeführt werden.² Letztlich ist es den Trennungen in der Regel nicht anzusehen, ob sie unter überkritischen oder flüssigen Bedingungen durchgeführt wurden.³

Wenn somit nicht der thermodynamische Zustand der mobilen Phase für die Eigenschaften von SFC Trennungen ausschlaggebend ist, dann muss dies an den Eigenschaften des CO_2 liegen. Diese sind vor allem der Gas-ähnlichen Viskosität und der Flüssigkeits-ähnlichen Dichte zu verdanken. Selbst bei Zugabe von moderaten Mengen organischen Modifizier, verändern sich Viskosität und Dichte der mobilen Phase in der SFC nur geringfügig.³ Die Dichte der mobilen Phase in der SFC (sowohl reines CO_2 , wie auch CO_2 /Modifizier-Mischungen), kann aber durch andere Parameter beeinflusst werden. Veränderungen des Rückdrucks im System, starke Änderungen des Modifizieranteils und viele weitere Parameter können direkt, bzw. indirekt Einfluss auf die Dichte der mobilen Phase nehmen. Wird der Druck der mobilen Phase erhöht steigt die Dichte des Fluids an, was sich auf die Löslichkeitseigenschaften auswirkt.⁴ Diese Kompressibilität der mobilen

Phase kann massiven Einfluss auf Retention und Selektivität haben und ist ein zentraler Parameter in SFC-Trennungen. Eine klare Abgrenzung welcher Parameter Retention oder Selektivität beeinflusst, ist meist nicht möglich, allerdings können unterschiedlich starke Einflüsse festgestellt werden.

Welche Parameter können justiert werden und wie hängen diese zusammen bzw. voneinander ab?

In der SFC, wie auch bei anderen chromatographischen Techniken, haben sowohl die stationäre, als auch die mobile Phase starken Einfluss auf die Trenneigenschaften. Zusätzlich gibt es auch mehrere Parameter, die am Instrument direkt eingestellt werden und entsprechende Wirkung auf die Trennung zeigen können. Eine Übersicht der verschiedenen Parameter und deren Wechselwirkungen, bzw. deren Einflüsse auf Retention und Selektivität sind in Abbildung 1 dargestellt.

Druckbeeinflussende Parameter in der mobilen Phase:

Hier steht die Dichte der mobilen Phase als Parameter im Zentrum. Einfluss auf diese nimmt unter anderem die Temperatur der mobilen Phase. Des Weiteren verändert die Zugabe von Modifizier die Viskosität der mobilen Phase, was den Druck beeinflusst und somit zu veränderter Retention und Selektivität führen kann. Bei der Verwendung von Modifizier können über die Dichte der mobilen Phase auch die Eigenschaften der stationären Phase verändert werden.

Druckbeeinflussende Parameter in der stationären Phase:

Dies geschieht durch Adsorption von mobiler Phase in die stationäre Phase, was deren Polarität beeinflusst.² Auch das Porenvolumen der stationären Phase kann durch die Dichte des CO_2 und den Systemdruck verändert werden. Grund hierfür ist das Quellen oder Schwinden der stationären Phase durch

Adsorption der mobilen Phase je nach verwendetem Modifizier.² Den stärksten Einfluss auf die Selektivität hat die Art der verwendeten stationären Phase. Diese entscheidet primär darüber, welche Substanzen getrennt werden können und welche nicht. Zusätzlich entscheidet die Art der stationären Phase auch darüber, wie stark die Retention der einzelnen Analyten ist. Neben der Polarität der stationären Phase nimmt in der SFC auch die Dimension der verwendeten Säule Einfluss auf Selektivität und Retention. Die Änderung von Säulenlänge, -durchmesser oder Partikelgröße resultiert in einer Druckveränderung am Säulenkopf. Erhöht man beispielweise die Säulenlänge, wird ein größerer Druck benötigt, um die mobile Phase durch die Säule zu transportieren. Der gleiche Effekt ist auch in der Flüssigphasenchromatographie zu beobachten. In der SFC jedoch bewirkt der höhere Druck eine Erhöhung der Dichte der mobilen Phase auf Grund der Kompressibilität. Dadurch verändern sich Elutionskraft und Temperaturleitfähigkeit der mobilen Phase.²

Druckbeeinflussende Parameter in Einstellungen an den Instrumenten

Auch am Gerät selbst können Einstellungen geändert werden, die sich auf Retention und Selektivität auswirken. Dies sind einerseits der Rückdruck, welcher direkt den Gesamtdruck im System beeinflusst, und andererseits die Flussrate der mobilen Phase. Eine Variation der Flussrate bewirkt eine Änderung des Drucks am Säulenkopf und somit auch eine Änderung des Gesamtdrucks. Auf Grund der Kompressibilität der mobilen Phasen, wirkt sich eine Druckänderung auf die Dichte der mobilen Phase und somit auf Retention und Selektivität aus. Beide Parameter könnten dazu genutzt werden, um Druckeffekten entgegen zu wirken, die durch andere Parameter entstehen. Denkbar wäre es, die Druckzunahme durch Erhöhung des Modifizieranteils, durch parallele Verringerung der Flussrate oder des Rückdrucks zu verringern. Eine entsprechende Regelung von Flussrate und Rückdruck ist heute bereits manuell möglich.

Aus all diesen Parametern und deren Wechselwirkungen, bzw. Verbindungen kann ein äußerst komplexes Netzwerk von Einflüssen entstehen. Wenn beispielsweise die Änderung der Zusammensetzung der mobilen Phase auch Auswirkungen auf die Polarität der stationären Phase haben kann, dann können beabsichtigte Effekte, durch unbewusst veränderte Parameter verstärkt oder abgeschwächt werden. Für die Methodenentwicklung bedeutet dies, dass möglichst alle Parameter und deren Wechselwirkungen berücksichtigt und abgewogen werden sollten,

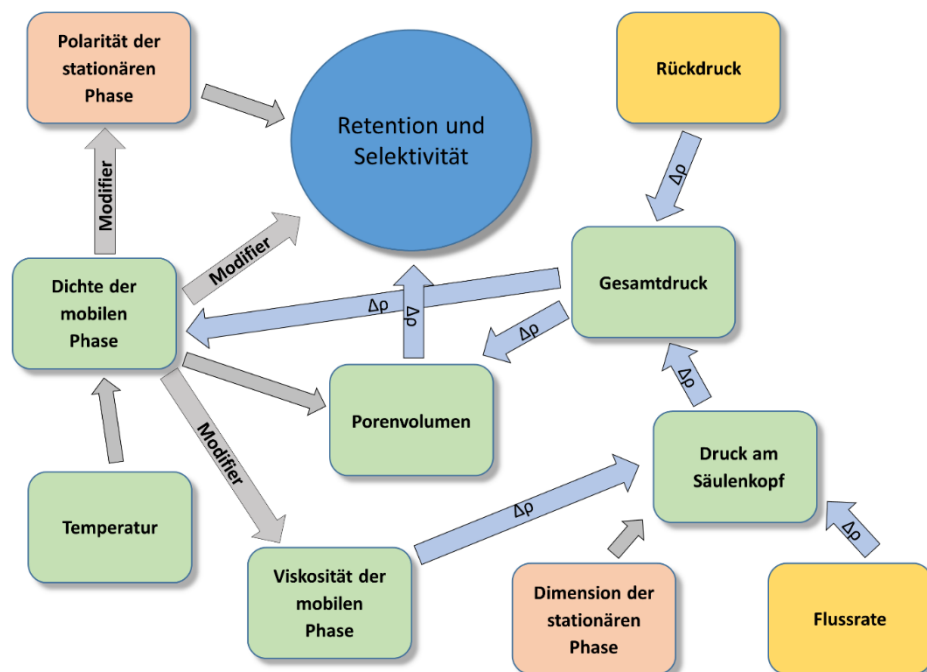


Abb. 1: Trennungsbeeinflussende Parameter, die in SFC-Trennungen Einfluss auf Retention und Selektivität nehmen können. Parameter, die der mobilen Phase zuordenbar sind, sind grün markiert. Parameter die auf Eigenschaften der stationären Phase zurückgehen, sind in rot markiert und Parameter, die durch direkte Einstellungen am Instrument verändert werden können in Gelb. Tiefere Erläuterungen sind unter Literaturreferenz 2 zu finden.

was bisher eine große Herausforderung darstellt. Über die Einteilung der Parameter nach ihrem Einfluss auf die verschiedenen Trennungseigenschaften, ist es jedoch möglich Schemata zu entwickeln, die die Methodenentwicklung deutlich vereinfachen. Ein Beispiel hierfür werden Sie im nächsten Teil der Serie finden können.

Danksagung

Wir möchten uns besonders bei Frau Sylvia Große für die vielfältige und stets hervorragende Unterstützung dieser Arbeiten bedanken und wünschen ihr alles erdenklich Gute für ihre Zukunft.

Dem Lehfonds der TUM danken wir für die finanzielle Unterstützung unseres Lehrkonzeptes 'Analytik+' in dessen Rahmen unter Anderem diese Serie entsteht.



Referenzen:

- (1) Guiochon, G.; Tarafder, A. J. *Chromatogr. A* **2011**, 1218 (8), 1037–1114.
- (2) Lesellier, E.; West, C. J. *Chromatogr. A* **2015**, 1382, 2–46.
- (3) Tarafder, A.; Hill, J. F.; Baynham, M. *Chromatogr. Today* **2014**, 7 (3), 34–36.
- (4) Berger, T. A. *Supercritical Fluid Chromatography - Primer*; Agilent Technologies, Inc., 5991-5509EN; 2015.