

# SFC – Superkritische Fluid Chromatographie oder Science Fiction Chromatographie?

Stefan Bieber, Thomas Letzel

Analytische Forschungsgruppe (AFG) am Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft der Technischen Universität München

## Vorwort

Von einer Chromatographie, die superkritische Fluide nutzt, haben viele bereits gehört. Allerdings stammt das Wissen über diese Technik meist aus den frühen 1980er Jahren und somit auch die Einschätzung Ihrer Möglichkeiten. Zusätzlich verfügt kaum ein Analytiker des 21. Jahrhunderts (außerhalb der Pharmaindustrie) über praktische Erfahrung mit dieser Technik. Bislang fristete die SFC, auch auf Grund ihrer wechselvollen Geschichte ein Dasein als Nischenprodukt. Dies dürfte sich aber vermutlich gerade gewaltig ändern. Warum?

Um es kurz zu machen, weil die Gerätetechnik soweit ist! So können nun mit der SFC stabile Trennungen und robuste Retentionszeiten gewährleistet werden.

Aber nun zunächst einmal Eines nach dem Anderen:

Auch wir nutzen eine analytische SFC erst seit Ende 2013 (Abbildung 1). Nach anfänglicher Zurückhaltung waren wir von dieser Technik und den damit verbundenen analytischen Möglichkeiten jedoch schnell begeistert. Unsere Erfahrung bezog bis dahin auf klassische Umkehrphasen-Chromatographie (RPLC) über Größenausschluss-, Ionenaustausch- und Komplex-Chromatographie sowie Andere, bis hin zur Hydrophilic Interaction Chromatography (HILIC). In der Untersuchung Letzterer wurde uns damals schnell bewusst, dass es sich lohnt genau hinzusehen, bevor man sich ein Urteil bildet. Wir taten das für SFC und kamen zu einem erstaunlichen Ergebnis.

In dieser Serie möchten wir dieses Ergebnis darstellen und die SFC als ebenbürtige aber auch komplementäre Chromatographietechnik vorstellen. Wir werden einige Einsatzmöglichkeiten aufzeigen und Hilfestellungen für Probleme bei SFC-Trennungen anbieten.

Nun zurück zur Eingangsfrage: Was bedeutet SFC?

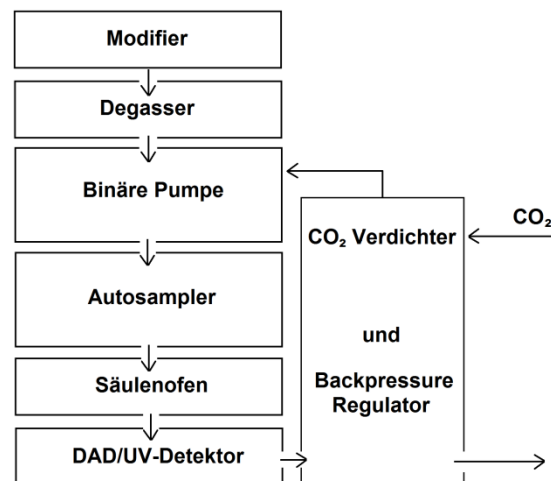


Abb. 1: Links: Analytische SFC (Agilent Technologies) im Labor der AFG. Der Aufbau ist sehr ähnlich zu einer 1260 Infinity HPLC. Das Gerät auf der rechten Seite der HPLC ist das Backpressure Module (Aurora), welches die Verwendung von CO<sub>2</sub> als mobile Phase möglich macht.

Rechts: Schematische Darstellung der Geräteanordnung, wie sie in der Arbeitsgruppe verwendet wird. Das Aurora Modul dient als CO<sub>2</sub> Verdichter und Rückdruckregler, um den thermodynamischen Zustand des CO<sub>2</sub> kontrollieren zu können. Hinter dem Backpressure Modul besteht die Möglichkeit ein Massenspektrometer anzuschließen.

## 1) Superkritische Fluidchromatographie?

Super- oder überkritische Fluide sind durch den kritischen Punkt definiert, der sich aus einer kritischen Temperatur und einem kritischen Druck zusammensetzt (Abbildung 2). An diesem Punkt nähern sich die Dichten von Gas und Flüssigkeit an. Eine weitere Erhöhung von Druck oder Temperatur, über den kritischen Punkt hinaus hat keine weitere Veränderung zur Folge. Oberhalb des kritischen Punktes besitzen Flüssigkeiten eine hohe Dichte bei gleichzeitig niedriger Viskosität und einem gasähnlichen Diffusionsvermögen. Die Geschichte der SFC reicht zurück bis zu James Lovelock, der 1958 die Nutzung superkritischer Fluide als mobile Phase in chromatographischen Trennungen vorschlug.<sup>1</sup> Zu dieser Zeit wurde nach Möglichkeiten gesucht, bisher nicht eluierbare Substanzen mittels Hochdruck-Gaschromatographie analysieren zu können. Klesper et al., präsentierten 1962 erstmals die praktische Anwendung superkritischer Fluide für die Elution von thermolabilen Metall-

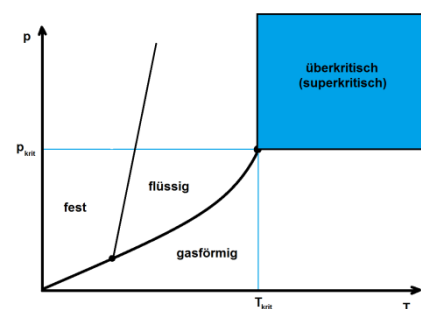


Abb. 2: Beispielhaftes Druck-Temperatur Diagramm. An dem Punkt  $p_{krit}$  und  $T_{krit}$  beginnt der super- bzw. überkritische Bereich. Die Dichten von Gas und Flüssigkeit hab sich hier angeglichen.

Porphyrienen in gepackten Säulen.<sup>2</sup> Der Name dieser neuen Technik lautete „Hochdruck-Gaschromatographie oberhalb kritischer Temperaturen“. Dieser Name war irreführend, da die mobile Phase als Lösungsmittel diente und im Gegensatz zur Gaschromatographie nicht inert war.<sup>3</sup> In den folgenden

Jahren kamen weitere Namen für diese Technik auf und verschwanden wieder. Sie und Rijnders nutzen erstmals Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>) für ihre Trennungen und führten 1967 den Begriff der superkritischen Fluidchromatographie ein.<sup>3,4</sup> Dieser Begriff setzte sich letztendlich durch, jedoch beschreibt auch er diese Technik nicht korrekt. Es wird vermittelt, dass das Fluid grundsätzlich superkritisch sein muss um eine ausreichend gute Trennung zu erhalten. Wie später gezeigt wird, ist das allerdings nicht notwendig.

## oder 2) Science Fiction Chromatographie?

In der Entwicklung der SFC wurden Erwartungen geweckt, die meist nicht erfüllt werden konnten. Dazu zählte auch die Einschätzung, dass verdichtetes CO<sub>2</sub> ähnlich polar sein könnte wie Isopropanol.<sup>5</sup> Dies führte zu der Vorstellung, dass man die Elutionsstärke von CO<sub>2</sub> durch Druckveränderung auf das Niveau eines Alkohols bringen kann. Diese Annahme konnte allerdings nie bestätigt werden. Zusätzlich wurde beobachtet, dass die Effizienz von Trennungen mit gepackten Säulen bei steigendem Druck abnahm. Als Grund hierfür wurden der Druckabfall entlang der Säule und die daraus resultierende Abkühlung des Fluids vermutet.<sup>6</sup> Es wurde gefolgert, dass SFC-Trennung nicht mehr als 20.000 theoretische Böden erreichen könnten. Das Problem wurde damals aber wohl eher durch die schlechte Packung der Säulen hervorgerufen. 1993 zeigten T. A. Berger und W. H. Wilson dann nämlich, dass SFC-Trennungen (trotz eines Druckabfalls innerhalb der Säule von 300 bar) bis 220.000 theoretische Böden erreichen können und widerlegten somit obige Annahme.<sup>7</sup>

Anfang der 1980er konnte sich die Kapillar-SFC auf dem Markt etablieren. Das größte Potential wurde in der Trennung von polaren Substanzen gesehen. Auch diese Annahme beruhte auf der Aussage, dass sich die Elutionsstärke von CO<sub>2</sub> durch Druckveränderung beeinflussen lässt. All diese nicht fundierten Aussagen und Annahmen führten leider dazu, dass SFC für lange Zeit als „Science Fiction Chromatographie“ bezeichnet und in der Fachwelt nicht ernst genommen wurde. Einige Wissenschaftler ließen sich davon aber nicht beirren und arbeiteten glücklicherweise über die Jahre an der Entwicklung robuster Geräte.

## SFC – Chromatographie mit Kohlenstoffdioxid

Die Wende für die SFC als verlässliche Trenntechnik fand zunächst auf dem Feld der chiralen Chromatographie statt. Es zeigte sich schnell (Ende der 1980er), dass die Trennung von Enantiomeren mittels SFC

deutlich schneller ist, als mit einer HPLC.<sup>3</sup> Zusätzlich wird deutlich weniger organisches Lösungsmittel benötigt. Den Durchbruch schaffte die SFC folglich im Pharmasektor als Aufreinigungstechnik für Arzneistoffe und dort vor allem im präparativen Maßstab. Effektive SFC-Trennungen im analytischen Maßstab wurden ab 2009 möglich. Das Aurora SFC Modul bot die Möglichkeit eine Agilent HPLC als SFC mit CO<sub>2</sub> zu betreiben (siehe Abbildung 1). Die Firma Aurora wurde 2012 von Agilent Technologies übernommen. Waters führte 2010 die UPC<sup>2</sup>, als eigenständige SFC ein. Diese beiden Markteinführungen gelten als Neubeginn der SFC, weil diese Geräte äußerst robust sind und reproduzierbar arbeiten.

Heutzutage werden bei SFC-Trennungen dem CO<sub>2</sub> als mobile Phase vor allem sogenannte ‚Modifier‘ zugesetzt. Es handelt sich dabei meist um Methanol oder Ethanol. Diese Zusätze verändern die Elutionsstärke der mobilen Phase, aber auch die Lage des kritischen Punktes. Während er für reines CO<sub>2</sub> bekannt ist (31,0°C und 73,8 bar), kann er für eine Mischung aus CO<sub>2</sub> und Methanol bisher nur geschätzt werden. Gerade bei der Gradientenelution kann es passieren, dass eine Trennung im superkritischen Bereich startet, sich aber der kritische Punkt durch zunehmende Zugabe von ‚Modifier‘ verlagert. Im „schlimmsten“ Fall erreicht man einen Zustand unterhalb des kritischen Punktes (flüssig und nicht gasförmig). Dies führt dazu, so müssen sich Anwender bewusst sein, dass sie zwar SFC betreiben, sich aber durchaus im „subkritischen“ Bereich befinden können. Auch hier zeigen sich Probleme mit der Nomenklatur, denn ein „subkritischer“ Bereich existiert nicht. Unterhalb des kritischen Punktes ist ein Medium gasförmig oder flüssig. Bemerkenswert ist jedoch, dass es für SFC-Trennungen unerheblich ist, ob sich die mobile Phase im superkritischen oder „subkritischen“ Zustand befindet. Man kann einem Chromatogramm nicht ansehen, in welchem Zustand die Trennung erfolgte.<sup>8</sup>

Was ist nun das besondere an SFC-Trennungen? – Die Verwendung von Kohlenstoffdioxid als mobile Phase. Die Abkürzung SFC ist mittlerweile vermutlich zu bekannt um sie noch zu ändern. Der Hersteller Waters nennt sein Gerät zwar UPC<sup>2</sup>, was für „Ultra Performance Convergence Chromatography“ steht. Eine Umbenennung von SFC zu UPC<sup>2</sup> erscheint momentan aber eher unwahrscheinlich. Folglich wird nach wie vor über einen passenderen Namen für diese Technik nachgedacht, zuletzt im Rahmen von Diskussion auf den International Symposium on Chromatography 2014 in Salzburg und der Konferenz SFC 2014 in Basel. Möglicher-

weise wird der Begriff SFC beibehalten, aber eben als ‚Chromatographie mit CO<sub>2</sub>‘ erklärt.

Zusammenfassend ist zunächst wichtig, dass man sich bewusst wird, dass die „Superkritische Fluid Chromatographie“ nicht notwendigerweise mit superkritischen Fluiden erfolgen muss und dass dieses Wissen die Trenneffizienz auch nicht unbedingt beeinflusst. Auf der anderen Seite hat die Technik schon lange das Klischee der „Science Fiction Chromatographie“ hinter sich gelassen. Oft war die Science Fiction eine Inspiration für Forschung und Entwicklung. Auch für die SFC ist dies der Fall, denn durch Zugabe von Modifier können heute auch äußerst polare Substanzen mittels SFC getrennt werden, was in den Anfangsjahren dieser Technik noch Wunschenken war.

Mehr über die Eigenschaften, Vorteile und Einsatzgebiete von SFC können Sie in den folgenden Teilen dieser Serie erfahren, die voraussichtlich monatlich erscheinen werden.

## Danksagung

Wir danken dem Lehrfonds der TUM für die finanzielle Unterstützung unseres Lehrkonzeptes 'Analytik+' in dessen Rahmen unter Anderem diese Serie entsteht.



## Referenzen:

- (1) White, C. M. *Modern Supercritical Fluid Chromatography*; Hüthig Verlag: Heidelberg, 1988; p. 239.
- (2) Klesper, E.; Corwin, A. H.; Turner, D. A. J. *Org. Chem.* 1962, 27, 700–701.
- (3) Berger, T. A. *Chromatogr. Today* 2014, 7, 26–29.
- (4) Sie, S. T.; Rijnders, G. W. A. *Sep. Sci.* 1967, 2, 729–753.
- (5) Giddings, J. C.; Myers, M. N.; McLaren, L.; Keller, R. A. *Science* 1968, 162, 67–73.
- (6) Gouw, T. H.; Jentoft, R. E. J. *Chromatogr.* 1972, 68, 303–323.
- (7) Berger, T.; Wilson, W. *Anal. Chem.* 1993, 1451–1455.
- (8) Tarafder, A.; Hill, J. F.; Baynham, M. *Chromatogr. Today* 2014, 7, 34–36.