



März 1987/158 W

Eidgenössische Forschungsanstalt  
für Milchwirtschaft  
CH-3097 Liebefeld

## Fluidextraktion und Fluidchromatographie: Eine kritische Literaturübersicht über die Zeitspanne 1962–1985

---

I. Physikalisch-chemische Eigenschaften überkritischer Gase

II. Fluidextraktion

III. Fluidchromatographie

---

W. Gmür, J.O. Bosset und E. Plattner

Sonderdruck aus Lebensmittel-Technologie **19**, Nr. 7, 194–197 (1986)  
" **19**, Nr. 8, 226–228 (1986)  
" **20**, Nr. 1–2, 2–11 (1987)



ÉCOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE LAUSANNE

# Fluidextraktion und Fluidchromatographie: Eine kritische Literaturübersicht über die Zeitspanne 1962-1985

## I. Physikalisch-chemische Eigenschaften überkritischer Gase

W. Gmür\*, J.O. Bosset\*\* und E. Plattner\*

\*Eidgenössische Technische Hochschule, CH-1015 Lausanne

\*\*Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, CH-3097 Liebefeld-Bern

Supercritical Fluid Extraction and Supercritical Fluid Chromatography:  
Critical Review Article over the Period of 1962 – 1985

### I. Physical and Chemical Properties of Supercritical Gases

*Highly compressed gases in their critical temperature region have gas like viscosities and diffusion coefficients substantially higher than that of liquids. However due to their high density, they have liquid like solvent power. During the last years these advantageous physical properties led to the application of supercritical gases as extractor (Supercritical Fluid Extraction) and as mobile phase in chromatography (Supercritical Fluid Chromatography). This review article discusses in the first part the special physical properties of supercritical fluids such as density, viscosity, diffusion coefficient and solvent power. Two later appearing articles will deal with supercritical fluid extraction and supercritical fluid chromatography.*

*Hochverdichtete Gase im kritischen Temperaturbereich besitzen gasähnliche Viskositäten und Diffusionskoeffizienten, die wesentlich über jenen von Flüssigkeiten liegen, zeigen jedoch wegen ihrer grossen Dichte ähnliche Lösungseigenschaften wie Flüssigkeiten. Diese vorteilhaften physikalischen Eigenschaften führten in den letzten Jahren zur Anwendung überkritischer Gase als Extraktionsmittel (Fluidextraktion) sowie als mobile Phase in der Chromatographie (Fluidchromatographie). Im folgenden Übersichtsartikel werden in dem hier vorliegenden ersten Teil die besonderen physikalisch-chemischen Eigenschaften überkritischer Fluide wie Dichte, Viskosität, Diffusionskoeffizient und Lösungsvermögen diskutiert. Der später erscheinende zweite und dritte Teil ist der Fluidextraktion und der Fluidchromatographie gewidmet.*

### Begriffserläuterungen

Unter Fluidextraktion (Supercritical Fluid Extraction) versteht man die Stofftrennung mit Hilfe verdichteter überkritischer Gase. Je nach der Art der beteiligten Phase unterscheidet man Fluid-Flüssig oder Fluid-Fest-Extraktion.

Chromatographische Verfahren lassen sich nach der Art der mobilen Phase einteilen in die Gaschromatographie (GC), in die Flüssigkeitschromatographie (Liquid Chromatography = LC), wobei für die modernen Ausführungsformen der LC die Bezeichnungen Hochdruck- bzw. Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (High Pressure bzw. High Performance Liquid Chromatography = HPLC) eingeführt wurden, und in die Fluidchromatographie (Supercritical Fluid Chromatography = SFC) mit verdichteten, überkritischen Gasen als mobiler Phase. Obwohl sich in der Zwischenzeit für dieses letztere Verfahren die Begriffe Fluidchromatographie respektive "Supercritical Fluid Chromatography" durchgesetzt haben, sei für Literaturrecherchen darauf hingewiesen, dass fluidchromatographische Arbeiten noch unter folgenden englischen Schlüsselwörtern zitiert werden: Gas Chromatography under High Pressure, High Pressure Gas Chromatography, Hyperpressure Gas Chromatography und Dense Gas Chromatography.

### Physikalisch-chemische Eigenschaften überkritischer Gase

Der thermodynamische Zustand eines reinen Stoffes wird durch die drei Variablen Druck, Temperatur und Volumen bestimmt. Für jede Substanz existiert eine feste Beziehung zwischen diesen drei Parametern, genannt Zustandsgleichung. Abb. 1 zeigt die  $p(T)$ -Projektion des Phasendiagramms von reinem Kohlendioxid. Die Dampfdruckkurve trennt den flüssigen (l) vom gasförmigen (g), die Sublimationskurve den gasförmigen (g) vom festen (s) und die Schmelzdruckkurve den festen (s) vom flüssigen (l) Bereich. Die Dampfdruckkurve endet im kritischen Punkt C, der durch seine kritische Temperatur, seinen kritischen Druck und seine kritische Dichte definiert wird. Das Gebiet oberhalb des kritischen Punktes stellt einen Übergangszustand zwischen der flüssigen und der Gasphase dar.

### Dichte

In Abb. 2 sind einige Druck-Dichte-Isothermen von reinem Kohlendioxid wiedergegeben. Unterhalb der kritischen Temperatur herrscht Diskontinuität zwischen der Dichte der gasförmigen und der flüssigen Phase. In einem Gebiet wenig oberhalb des kritischen Punktes (siehe schraffierter Bereich) bewirkt bereits eine kleine Druckerhöhung einen beträchtlichen

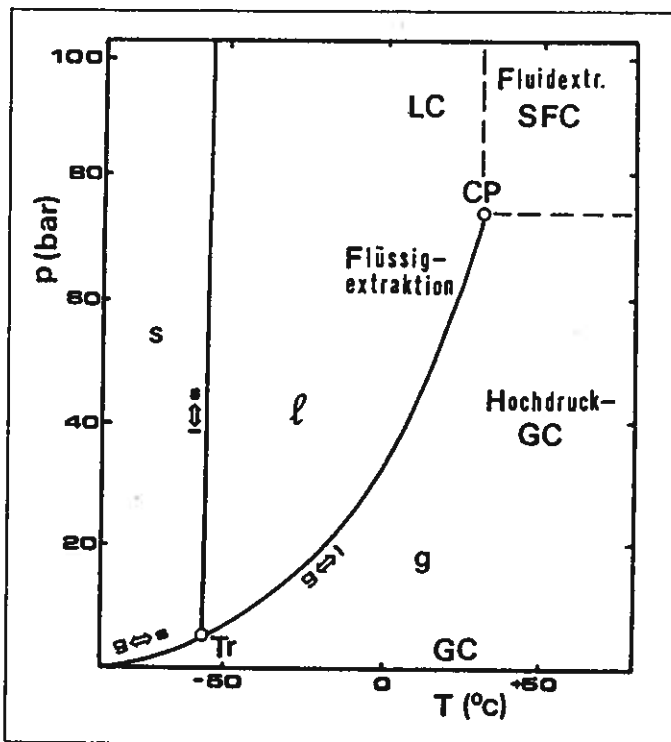


Abb. 1:  $p(T)$ -Projektion des Phasendiagramms von reinem Kohlendioxid (I).

Anstieg der Dichte. Dieses Verhalten ist sowohl für die Extraktion als auch für die Chromatographie mit überkritischen Gasen von grundlegender Bedeutung.

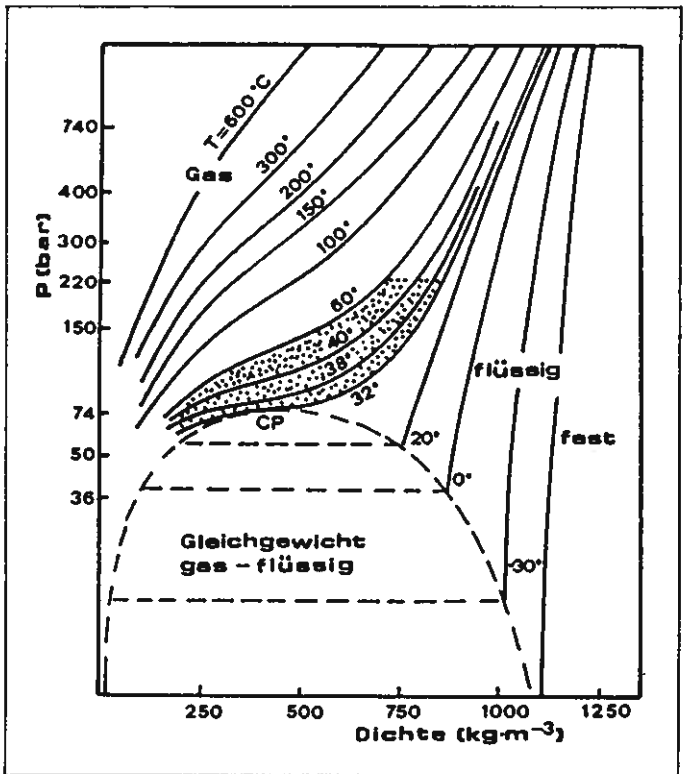


Abb. 2: Druck-Dichte-Isothermen von reinem Kohlendioxid (1).

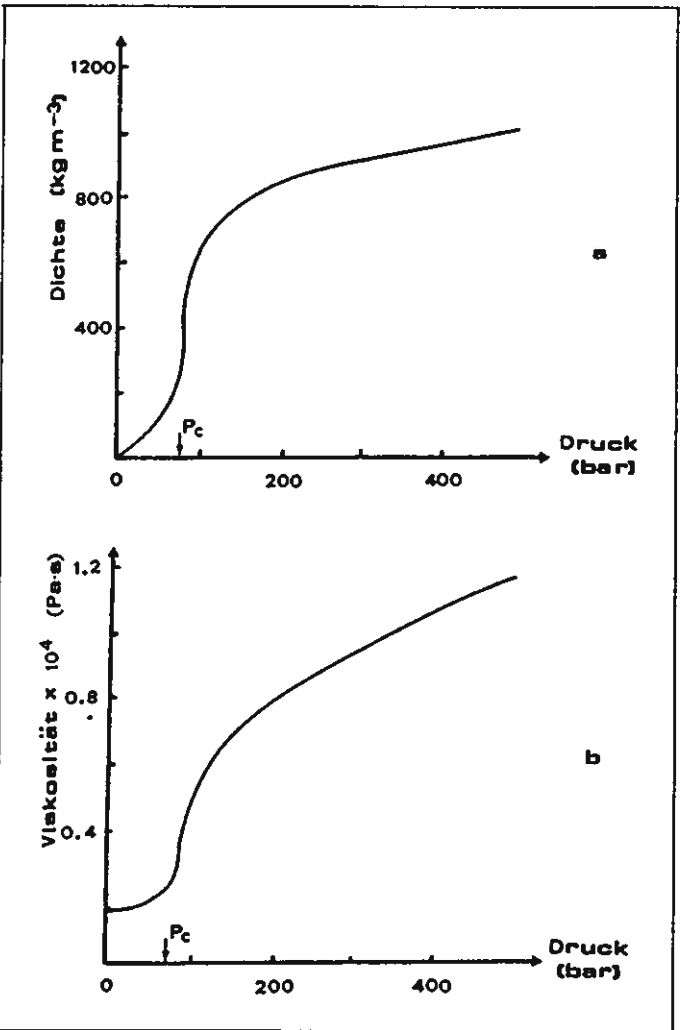


Abb. 3: Variation der Dichte (a) und der Viskosität (b) für CO<sub>2</sub> in Funktion des Drucks bei 40 °C ( $P_c = 73.8$  bar) (2).

Abb. 3a und b zeigen, dass die Dichte von Kohlendioxid im kritischen Gebiet wesentlich stärker mit dem Druck ansteigt als die Viskosität. Vergleicht man die Dichte von fluiden Lösungsmitteln mit charakteristischen Werten in Flüssigkeiten und Gasen (Tab. 1), so liegt die Dichte der überkritischen Phase viel näher bei jener von Flüssigkeiten als bei jener von Gasen. Überkritische Gase haben aus diesem Grunde ein ganz ähnliches Lösungsvermögen wie Flüssigkeiten (siehe Kapitel "Lösungsvermögen").

|                                  | $\rho$<br>( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ) | $\eta$<br>( $\text{Pa} \cdot \text{s}$ ) | $D$<br>( $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) |
|----------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Gase<br>1 bar, 15-30 °C          | 0.6-2                                         | $(1-3) \cdot 10^{-5}$                    | $(1-4) \cdot 10^{-5}$                       |
| Überkritische<br>Fluide          |                                               |                                          |                                             |
| $T_c, P_c$                       | 200-500                                       | $(1-3) \cdot 10^{-5}$                    | $7 \cdot 10^{-8}$                           |
| $T_c, 4P_c$                      | 400-900                                       | $(3-9) \cdot 10^{-5}$                    | $2 \cdot 10^{-8}$                           |
| Flüssigkeiten<br>1 bar, 15-30 °C | 600-1600                                      | $(2-30) \cdot 10^{-4}$                   | $(2-10) \cdot 10^{-10}$                     |

Tab. 1: Typische Werte der Dichte  $\rho$ , der Viskosität  $\eta$  und des Selbstdiffusionskoeffizienten  $D$  von Gasen, überkritischen Fluiden und Flüssigkeiten (3).

### Viskosität

Die Viskosität von überkritischen Phasen ist nur wenig größer als jene von Gasen, jedoch 10–100 mal kleiner als jene von Flüssigkeiten (Tab. 1). Aus diesem Grunde ist der Druckabfall in einer chromatographischen Säule mit überkritischen Gasen als fluiden Phase um eine Größenordnung kleiner als jener mit Flüssigkeiten. *Stephan und Lucas* (4) veröffentlichten eine ganze Reihe von Viskositätsdaten bei überkritischen Bedingungen. Die Viskosität erhöht sich mit dem Druck (siehe Abb. 3b), zeigt jedoch eine eindeutige Abhängigkeit vom molaren Volumen  $V$ .

$$\eta^{-1} = B \cdot (V - V_0) \cdot V_0^{-1}$$

wobei  $\eta$  der Viskosität,  $V_0$  dem extrapolierten molaren Volumen bei unendlich und  $B$  einer Konstante, welche vom Lösungsmittel abhängt, entspricht.

### Diffusionskoeffizient

Die Selbstdiffusionskoeffizienten eines hochverdichteten Gases im überkritischen Zustand sind zwar zwei bis drei Größenordnungen kleiner als in einem Gas bei Atmosphärendruck, aber um mindestens zwei bis drei Zehnerpotenzen größer als im flüssigen Zustand (siehe Tab. 1). Dies wirkt sich vorteilhaft auf die Geschwindigkeit der Phasengleichgewichtseinstellung und den Stoffaustausch aus. *Feist und Schneider* (5) sowie *Novotny und Springston* (6) haben die Diffusionskoeffizienten von einigen in überkritischen Fluiden gelösten Stoffen gemessen. Der Diffusionskoeffizient nimmt bei konstanter Temperatur mit steigender Dichte ab.

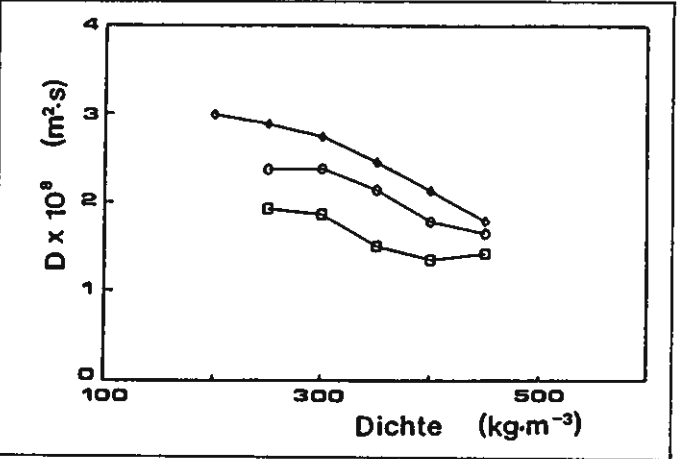


Abb. 4: Diffusionskoeffizienten von Phenanthren (◇), Chrysen (○) und Picen (□) in Butan bei 166 °C in Funktion der Dichte (91).

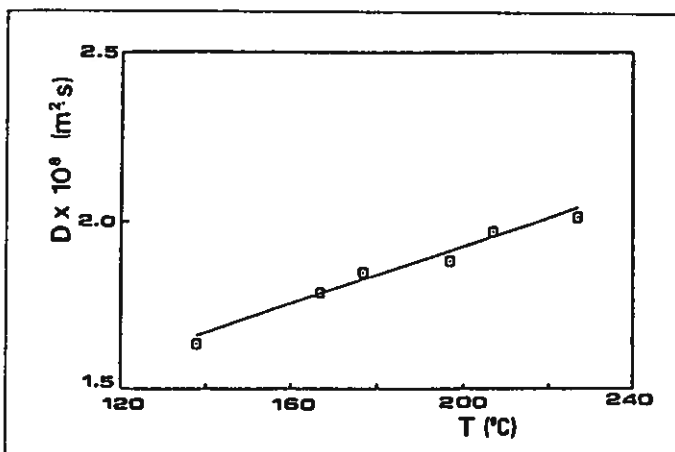


Abb. 5: Diffusionskoeffizient von Chrysen in Butan bei konstanter Dichte ( $400 \text{ kg/m}^3$ ) in Funktion der Temperatur (91).

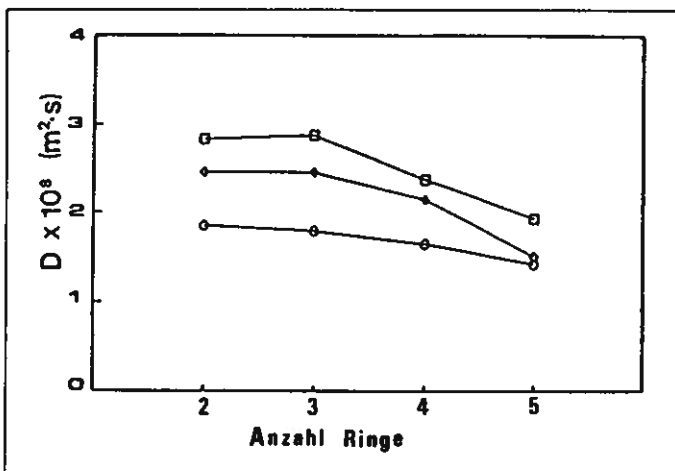


Abb. 6: Diffusionskoeffizienten von Naphtalin, Phenanthren, Chrysen und Picen in Butan ( $166^\circ\text{C}$ ) bei Dichten von  $250 \text{ (o)}$ ,  $350 \text{ (◇)}$  und  $450 \text{ kg/m}^3 \text{ (□)}$  in Funktion der Anzahl Ringe (91).

Stoffes jenem des Lösungsmittels kommt, desto besser ist seine Löslichkeit. Im weiteren konnte experimentell gezeigt werden, dass der Logarithmus des Molenbruchs ( $X$ ) eines in einem Fluid gelösten Stoffs gemäss einer parabolischen Funktion von  $\rho$  des Lösungsmittels abhängt ( $A, B, C$  sind Konstanten):

$$\log X = -A \cdot \delta^2 + B \cdot \delta + C \quad (2)$$

Ersetzt man  $\delta$  gemäss Gleichung 1 durch seinen Wert, so erhält man

$$\log X = -A' \rho^2 + B' \rho + C' \quad (3)$$

Die Löslichkeit durchläuft mit der Dichte ein Maximum, wobei dieses Maximum sowohl vom Lösungsmittel als auch vom gelösten Stoff abhängt. Gemäss experimentellen Resultaten kann der Term  $-A' \rho^2$  bei kleinen Dichten vernachlässigt werden, und die Löslichkeit zeigt somit eine lineare Abhängigkeit von der Dichte

$$\log X = B' \rho + C'$$

Gleichung 4 ist jedoch nur gültig, falls man sich nahe beim kritischen Druck und der kritischen Temperatur des Gases befindet. Wie am Beispiel der Löslichkeit von Naphtalin in Ethylen zu erkennen ist (Abb. 7), sinkt die Löslichkeit bei tiefen Drucken, erhöht sich jedoch bei hohen Drucken mit steigender Temperatur oder abnehmender Dichte.

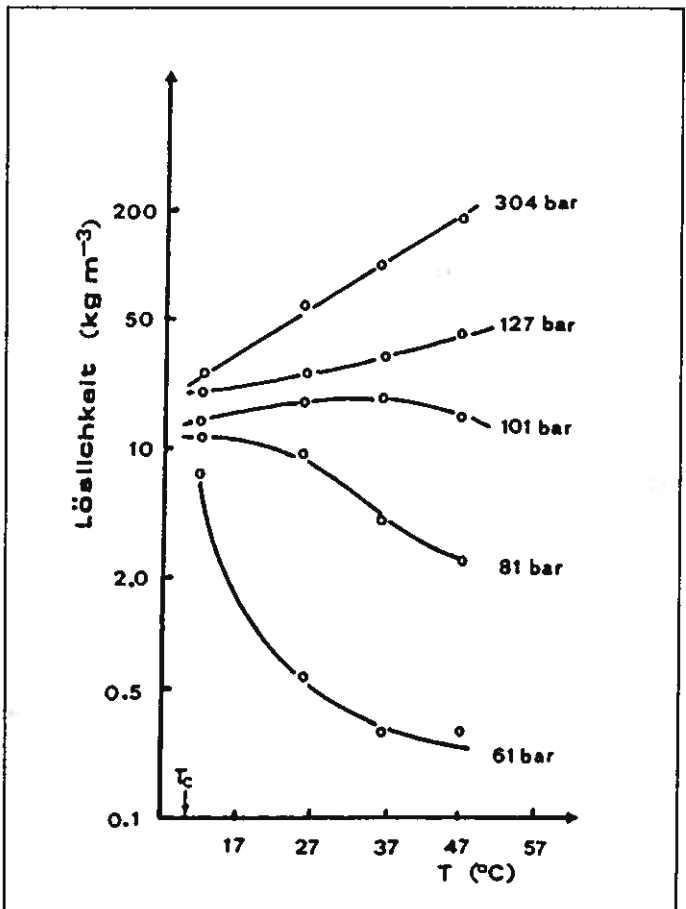


Abb. 7: Löslichkeit von Naphtalin in komprimiertem Ethylen in Funktion der Temperatur ( $T_c = 9.9^\circ\text{C}$ ,  $P_c = 50.5 \text{ bar}$ ) (10).

gender Dichte ab (Abb. 4), erhöht sich jedoch bei konstanter Dichte mit der Temperatur (Abb. 5). Die Diffusionskoeffizienten von gelösten Stoffen sind nur leicht höher als jene des überkritischen Lösungsmittels (Abb. 4). Gemäss Abb. 6 verringern sich die Diffusionskoeffizienten mit steigender Molekularmasse.

Erhöht man den Druck eines überkritischen Gases sehr stark, so nähern sich die Werte der Dichte, der Viskosität und auch der Diffusionskoeffizienten immer mehr jenen von Flüssigkeiten, und es gehen somit die Vorteile der fluiden Phase verloren. Tab. 1 zeigt jedoch, dass sowohl die Viskosität als auch der Diffusionskoeffizient beim Vierfachen des kritischen Drucks sich immer noch stark von den Werten der entsprechenden Flüssigkeit unterscheiden, und somit der mögliche Arbeitsbereich relativ gross ist.

#### Lösungsvermögen

Umfangreiche theoretische und experimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass hochverdichtete überkritische Gase beträchtliche Mengen schwer flüchtiger Substanzen lösen können. Dieses hohe Lösungsvermögen ist sowohl für die Fluidextraktion als auch die Fluidchromatographie von erheblichem praktischen Nutzen.

Eine einfache Theorie, die es erlaubt, das Lösungsvermögen eines überkritischen Gases bezüglich eines bestimmten Stoffes abzuschätzen, verwendet den Löslichkeitsparameter  $\delta$  (7, 8, 9):

$$\delta = 1.25 \cdot P_c^{1/2} \cdot \rho \cdot \rho_l^{-1} \quad [\text{cal/cm}^3] \quad (1)$$

wobei  $P_c$  dem kritischen Druck in bar,  $\rho$  und  $\rho_l$  der Dichte des Lösungsmittels im überkritischen respektive flüssigen Zustand entsprechen. Je näher der Löslichkeitsparameter des gelösten

Kompliziertere Berechnungsmethoden benutzen entweder die Redlich-Kwong (11, 12) oder die Peng-Robinson Gleichung (13, 14, 15). Obwohl mit ihnen alle Typen des Phasenverhaltens fluider Mischungen vorhergesagt werden können, fehlen für viele Substanzen die zur Auflösung dieser Gleichungen notwendigen Stoffparameter.

Oft ist die experimentelle Bestimmung der Löslichkeit eines Stoffes in einem Fluid unumgänglich.

## Mögliche Fluide

Tab. 2 zeigt eine Auswahl der Verbindungen, die für eine eventuelle Anwendung in der Fluidextraktion und/oder der Fluidchromatographie in Frage kommen. Nur ein kleiner Teil dieser Stoffe ist jedoch in der Praxis wichtig. Im besonderen besteht bei hohen kritischen Temperaturen die Gefahr der thermischen Zersetzung von gelösten Stoffen. Unter den Substanzen von Tab. 2 ist Kohlendioxid das bei weitem am meisten benutzte Fluid. Es ist billig, physiologisch unbedenklich, und sein kritischer Druck (73.8 bar) sowie seine kritische Temperatur (31.2 °C) erlauben eine schonende, sauerstofffreie Extraktion von thermolabilen Stoffen. In Abb. 8 werden die Löslichkeitsparameter (siehe Abschnitt "Lösungsvermögen") von Gasen bei flüssigkeitsähnlichen Dichten mit jenen von oft benutzten flüssigen Lösungsmitteln verglichen. Interessant scheint neben Kohlendioxid auch die Anwendung des wesentlich polaren Ammoniak (17).

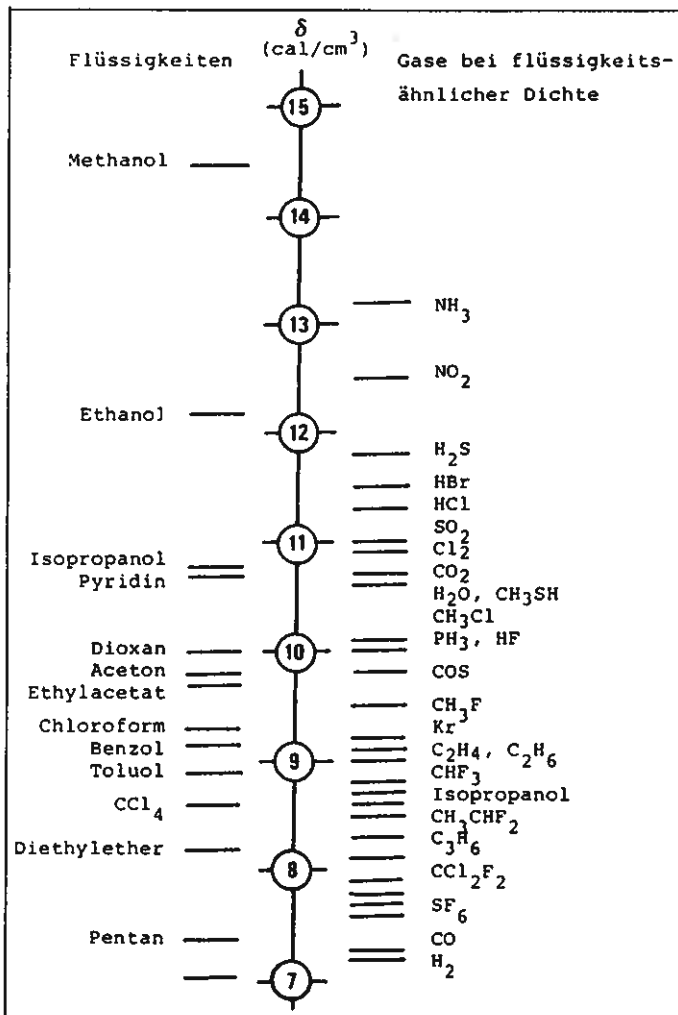


Abb. 8: Vergleich der Löslichkeitsparameter von Gasen bei flüssigkeitsähnlichen Dichten mit jenen von einigen oft verwendeten flüssigen Lösungsmitteln (9).

## Literatur

- (1) IUPAC: International Thermodynamics Tables of the Fluid State. Carbon Dioxide. Pergamon Press, Oxford (1976).
- (2) van Wasen, U., Swaid, I. und Schneider, G.M., Angew. Chemie, 92 (8), 585–670 (1980).

| Verbindung               | Siedetemp.<br>(°C, 1 bar) | T <sub>c</sub><br>(°C) | P <sub>c</sub><br>(bar) | ρ <sub>c</sub><br>(kg·m <sup>-3</sup> ) |
|--------------------------|---------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------------------------|
| Xenon                    | -107.1                    | 16.61                  | 58.0                    | 1105                                    |
| Kohlendioxid             | -78.5*                    | 31.2                   | 72.9                    | 448                                     |
| Ethan                    | -88                       | 32.4                   | 48.3                    | 203                                     |
| Distickstoffoxid         | -89                       | 36.5                   | 71.4                    | 457                                     |
| Schwefelhexafluorid      | -63.8*                    | 45.6                   | 37.1                    | 752                                     |
| n-Propan                 | -44.5                     | 96.8                   | 42.0                    | 220                                     |
| Dichlorodifluoromethan   | -29.8                     | 111.7                  | 39.4                    | 558                                     |
| Ammoniak                 | -33.4                     | 132.3                  | 111.3                   | 240                                     |
| Dichlorotetrafluoroethan | 3.5                       | 146.1                  | 35.5                    | 582                                     |
| n-Butan                  | -0.5                      | 152.0                  | 37.5                    | 228                                     |
| Schwefeldioxid           | -10                       | 157.5                  | 77.6                    | 524                                     |
| Methylethylether         | 7.6                       | 164.7                  | 43.4                    | 272                                     |
| Dichlorofluoromethan     | 8.9                       | 178.5                  | 51.0                    | 522                                     |
| Diethylether             | 34.6                      | 193.6                  | 36.3                    | 267                                     |
| n-Pentan                 | 36.3                      | 196.6                  | 33.3                    | 232                                     |
| Trichlorofluoromethan    | 23.7                      | 196.6                  | 41.7                    | 554                                     |
| 2,3-Dimethylbutan        | 58.0                      | 226.8                  | 31.0                    | 241                                     |
| n-Hexan                  | 69.0                      | 234.2                  | 29.6                    | 234                                     |
| Isopropanol              | 82.5                      | 235.3                  | 47.0                    | 273                                     |
| Methanol                 | 64.7                      | 240.5                  | 78.9                    | 272                                     |
| Ethanol                  | 78.4                      | 243.4                  | 63.0                    | 276                                     |
| n-Heptan                 | 98.4                      | 267.0                  | 27.0                    | 235                                     |
| Benzol                   | 80.1                      | 288.9                  | 48.3                    | 302                                     |
| Wasser                   | 100.0                     | 374.4                  | 226.8                   | 344                                     |

Tab. 2: Mögliche Verbindungen für die Fluidextraktion und/oder die Fluidchromatographie geordnet nach steigender kritischer Temperatur (16).

- (3) Randall, L.G., Sep. Sc. Techn., 17 (1), 1–118 (1982).
- (4) Stephan, K. und Lucas, K., Viscosity of dense fluids, Plenum Press, New York (1979).
- (5) Feist, R. und Schneider, G.M., Sep. Sci. Techn., 17 (1), 261–270 (1982).
- (6) Springston, S.R. und Novotny, M., Anal. Chem., 56, 1762–1766 (1984).
- (7) Giddings, J.C., Myers, M.N. und King, J.W., J. Chromatogr. Sci., 7, 276 (1969).
- (8) Hildebrand, J.H. und Scott, R.L., Regular Solutions. Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey (1962).
- (9) Bowman, L.M. Jr., Ph.D. Thesis, University of Utah (1976).
- (10) Hubert, P. und Vitzthum, O.G., Angew. Chemie Int. Ed. Engl., 17, 710–715 (1980).
- (11) Redlich, O. und Kwong, J.N.S., Chem. Reviews, 44, 233–244 (1949).
- (12) Deiters, U.K., Int. Symposium High Pressure Chemical Engineering, Erlangen 1984; Verein Deutscher Ingenieure VCI, Düsseldorf; 291–296.
- (13) Peng, P.Y. und Robinson, D.B., IEC Fund., 15, 59 (1976).
- (14) Donohue, M.D. und Prausnitz, J.M., AIChE. J., 849 (1978).
- (15) Schmidt, G. und Wenzel, H., Chem. Eng. Sci., 35, 1503 (1980).
- (16) Gouw, T.H. und Jentoft, R.E., Adv. Chromatogr., 13, 1–40 (1975).
- (17) Lentz, H. und Franck, E.U., Angew. Chemie, 90, 775–777 (1978).

# Fluidextraktion und Fluidchromatographie: Eine kritische Literaturübersicht über die Zeitspanne 1962-1985

## II. Fluidextraktion

W. Gmür\*, J. O. Bossel\*\* und E. Plattner\*

\*Eidgenössische Technische Hochschule, CH-1015 Lausanne

\*\*Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, CH-3097 Liebefeld-Bern

*Der erste Teil dieses Übersichtsartikels diskutierte die besonderen physikalisch-chemischen Eigenschaften überkritischer Gase. Dieser Artikel zeigt einen historischen Rückblick über die Fluidextraktion, behandelt die Verfahrensparameter bei Extraktion und Abscheidung und fasst die wichtigsten industriellen Anwendungen sowie einige kommerziell erhältliche Apparaturen zusammen. Ein später erscheinender dritter Teil ist der Fluidchromatographie gewidmet.*

**Supercritical Fluid Extraction and Supercritical Fluid Chromatography:  
Critical Review Article over the Period of 1962 – 1985**

### II. Supercritical Fluid Extraction

*The first part of this review article discussed some physical and chemical properties of supercritical fluids. This article shows a retrospective view of supercritical fluid extraction, deals with the process parameters at extraction and separation and summarizes the most important industrial applications as well as some purchasable installations for supercritical fluid extraction. A third part will deal with supercritical fluid chromatography.*

### Historischer Rückblick

Den ersten experimentellen Nachweis, dass komprimierte Gase ein Lösungsvermögen für Feststoffe haben, führten 1879 Hannay und Hogarth (18). Sie lösten Kaliumjodid in überkritischem Ethanol und fällten das Salz durch Drucksenkung wieder aus. Im Jahre 1938 zeigte Godlewicz (19) in einer Veröffentlichung über moderne Fraktionierverfahren von Mineralölen mittels leichter aliphatischer Kohlenwasserstoffe die wesentlichen Verfahrensmerkmale der Extraktion mit überkritischen Gasen und deren Anwendungen auf. Früh bekannt war auch, dass bei der Erdölförderung von hochkomprimiertem Erdgas schwer flüchtige Kohlenwasserstoffe mitgeschleppt werden (20). Zbuz (21) meldeten im Jahre 1955 ein Verfahren zur Desasphaltierung von Erdöl zum Patent an. In der Bundesrepublik Deutschland gaben die Arbeiten von Zosel (22) den Anstoss zur Entwicklung dieses neuen Stofftrennverfahrens. Er entdeckte auch die im Jahre 1978 im grosstechnischen Massstab anlaufende Variante der Entcoffeinierung mit überkritischem Kohlendioxid (23). Hubert und Vitzthum entwickelten eine ganze Reihe von Verfahren zur Extraktion von Naturstoffen (24). Peter und Brunner (25) untersuchten die Trennung schwerflüchtiger Stoffe mit komprimierten Gasen in Gegenstromprozessen. Schneider (26) beschäftigte sich hauptsächlich mit den physikalisch-chemischen Eigenschaften fluider Mischungen, und seit etwa 1970 wird in England die Extraktion von Kohle mit überkritischen Lösungsmitteln, z.B. Toluol, geprüft (27–29).

### Verfahrensparameter bei Extraktion und Abscheidung

Tab. 2 (siehe I. Teil dieses Artikels (29a)) zeigt Verbindungen, die als Extraktionsmittel in der Fluidextraktion in Frage kommen. Die Berechnung des im Abschnitt "Lösungsvermögen" (29a) beschriebenen Lösungsparameters lässt oft eine erste Abschätzung des Lösungsvermögens eines überkritischen Gases betreffend den zu lösenden Stoffen zu. Genauere Angaben liefert die experimentelle Bestimmung der Phasengleichgewichte. Viele Naturstoffe sind thermolabil, und es kommen deshalb als Extraktionsmittel nur Gase in Betracht, mit denen die überkritische Extraktion bei nicht zu hohen Temperaturen durchgeführt werden kann. Bei der Wahl eines Gases zur Fluidextraktion sollten auch seine Toxizität, seine Reaktivität, seine Explosivität und nicht zuletzt sein Preis berücksichtigt werden.

\*Eidgenössische Technische Hochschule, CH-1015 Lausanne

\*\*Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft,  
CH-3097 Liebefeld-Bern

Dies allein genügt jedoch nicht für die Beurteilung der Extrahierbarkeit einer bestimmten Komponente aus einem Feststoff, da hier nicht nur die Löslichkeit, sondern auch die Art der Bindung des zu extrahierenden Stoffes in der Feststoffmatrix von erheblichem Einfluss ist.

Je nach Extraktionsgut und Aufgabenstellung sind Verfahrensweise und Apparatur anzupassen. Abb. 9a–d zeigen vier mögliche Prinzipien der Extraktion mit überkritischen Gasen. In der Extraktionsstufe wird der lösliche Anteil vom verdichteten, überkritischen Gas aufgenommen. In Abb. 9a wird die Lösung durch das Drosselventil in den Abscheidebehälter hinein entspannt, wobei die Dichte des Gases sinkt und die Entmischung Extrakt/Lösungsmittel erfolgt. Das Gas wird erneut verdichtet und der Extraktionsstufe zugeführt. Die Entmischung kann zwar auch durch Temperaturänderung der überkritischen Lösung herbeigeführt werden (Abb. 9b), sie ist jedoch, hier in vielen Fällen nicht so vollständig wie bei den andern Verfahrensweisen. Abb. 9c stellt einen Prozess dar, bei dem der gelöste Extrakt durch Adsorption an geeigneten Sorbentien gebunden wird. Diese Technik erlaubt eine isobare und isotherme Betriebsweise im gesamten Kreislauf und wird im allgemeinen zur energiesparsamen Gewinnung des extrahierten Gutes angewendet. Abb. 9d zeigt einen Trennprozess, bei welchem sich das Lösungsvermögen des überkritischen Fluids durch Hinzufügen eines Gases mit geringerer Lösungskraft (z.B. Argon) vermindert. Hier stellt vor allem die Trennung der beiden Gase mittels Membrantechnologie Probleme (30).

### Industrielle Anwendungen

#### Lebensmittelindustrie

Die Extraktion von Wert- und Wirkstoffen aus pflanzlichen und tierischen Materialien sowie die Gewinnung und Aufbereitung von Speiseölen gehören heute zu den wichtigsten Anwendungsgebieten der Fluidextraktion. Für diesen Bereich hat sich Kohlendioxid als geeignetes Extraktionsmittel erwiesen: Seine kritische Temperatur (31 °C) erlaubt die Extraktion von thermolabilen Stoffen, es ist physiologisch unbedenklich und geht keine Reaktionen mit Bestandteilen der Lebensmittel ein. Ferner ist es billig und leicht in grossen Mengen bei hoher Reinheit erhältlich.

Die Entcoffeinierung von Kaffee mit überkritischem Kohlendioxid gilt als erste grosstechnische Anwendung der Fluidextraktion (23). Bei diesem Verfahren werden grüne Kaffeeboh-

nen mit einem bestimmten Wassergehalt mit überkritischem  $\text{CO}_2$  behandelt. Es scheint, dass bei der Entcoffeinierung mit überkritischem Kohlendioxid hochselektiv nur das Coffein entfernt wird, d.h. es gehen keinerlei Stoffe verloren, die beim anschließenden Rösten zur Bildung des Aromas beitragen (24). Die Entcoffeinierung kann in den drei folgenden Varianten betrieben werden (31). Bei der ersten behandelt man vorgequollene grüne Kaffeebohnen in einem Druckgefäß bei ca.  $70-90^\circ\text{C}$  mit  $\text{CO}_2$  von 110–220 bar, das im Kreislauf umgepumpt wird (Abb. 10a). Das Coffein diffundiert aus der Bohne in das überkritische  $\text{CO}_2$  und wird von diesem aus dem Druckgefäß in den Waschturm ( $70-90^\circ\text{C}$ ) transportiert, wo es sich im Wasser löst. Nach zehn Stunden befindet sich das gesamte Coffein im Waschwasser, das entgast und zur Gewinnung des Coffeins abdestilliert wird. Die Abtrennung gelingt statt mit Wasser auch mit Aktivkohle (Abb. 10b). Besondere Vorteile bringt die dritte Variante (Abb. 10c). Das Druckgefäß wird mit einer Mischung von Kaffeebohnen und Aktivkohle beschickt. Auf 3 kg Kaffee kommen 1 kg Aktivkohle. Ohne Umlauf diffundiert das Coffein bei  $90^\circ\text{C}$  und 220 bar durch das überkritische Kohlendioxid direkt zur Aktivkohle. Nach dem Entspannen trennt man die Mischung auf einem Schüttelsieb in die Komponenten. Überkritisches Kohlendioxid eignet sich auch zur Extraktion von Hopfen für die Bierbrauerei (32). Die konventionelle Hopfenextraktion arbeitet im allgemeinen mit Dichlormethan, das nach der Extraktion der Harze durch Abdampfen abgetrennt werden muss (maximal erlaubte Menge von Lösungsmittelrück-

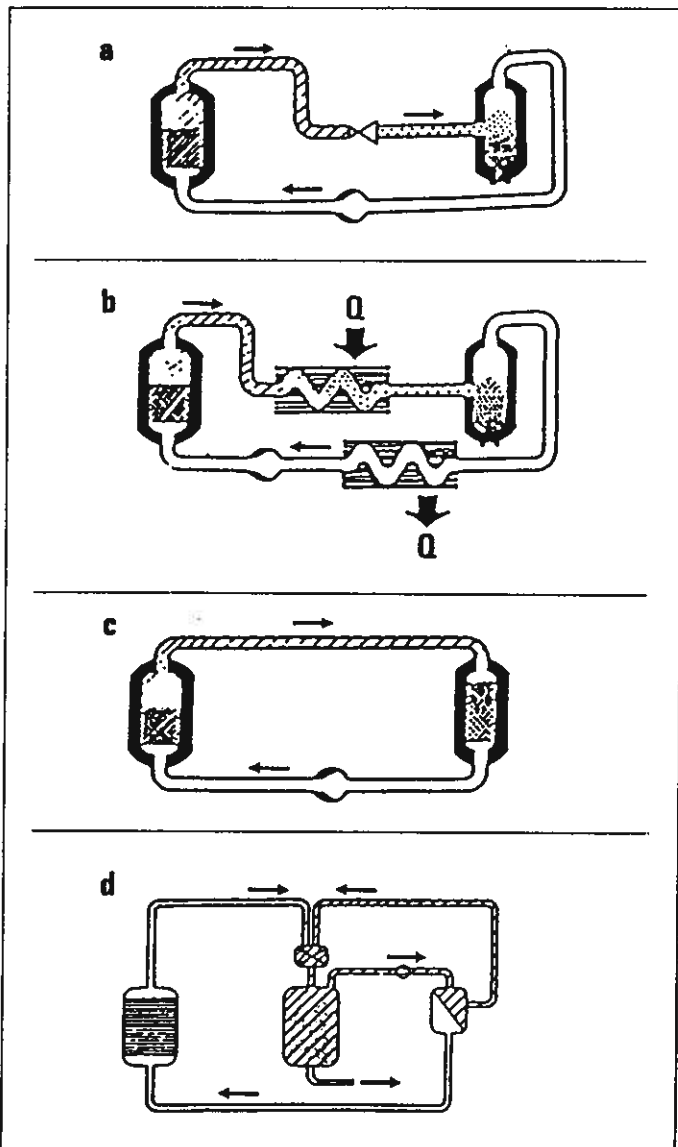


Abb. 9: Hochdruckextraktion mit Abscheidung des Extrakts durch Druckvariation (a), durch Temperaturvariation (b), durch Adsorption (c) und Zuzugabe eines Gases mit kleinem Lösungsvermögen (d) (24, 30).

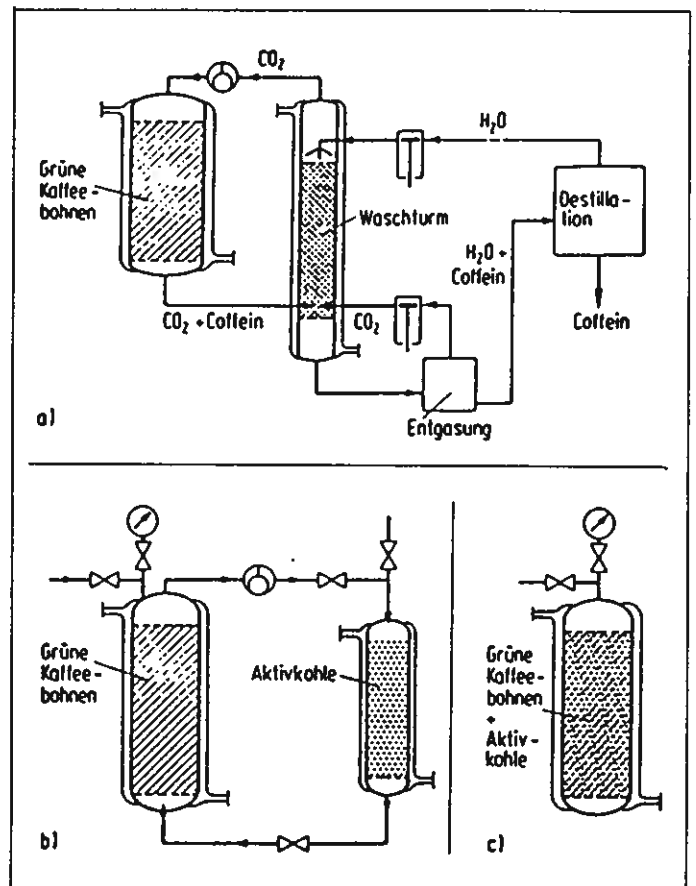


Abb. 10: Entcoffeinierung grüner Kaffeebohnen mit überkritischem  $\text{CO}_2$ . a)  $70-90^\circ\text{C}$ , 160–200 bar. Das Coffein wird durch Waschen mit Wasser entfernt. b) Gleiche Bedingungen wie bei a). Das Coffein wird durch Adsorption an Aktivkohle entfernt. c)  $90^\circ\text{C}$ , 220 bar. Das Coffein wird ohne Umlauf durch Adsorption an die den Kaffeebohnen zugemischte Aktivkohle entfernt (31).

ständen 2.2%). Mit überkritischem Kohlendioxid erhält man nach einstufiger Druckabsenkung einen Extrakt, der frei von Lösungsmittelrückständen ist und sich durch ein sehr intensives Hopfenaroma auszeichnet.

Pflanzliche Fette und Öle bestehen aus Glyceriden, Glycerin, freien Fettsäuren und den Fettbegleitstoffen (Phosphatide, Schleimstoffe, Farbstoffe, geruchs- und geschmacksaktive Stoffe, Terpene und Vitamine). Ihre Verwertung als Nahrungsmittel erfordert die vorübergehende Abtrennung der freien Fettsäuren und einiger Begleitstoffe (Entsäuren, Desodorisieren). Im Gegensatz zu den üblicherweise angewendeten mehrstufigen Verfahren (z.B. Neutralisation mit Alkalien, Destillation und Wasserdampfdestillation unter vermindertem Druck) erlauben überkritische Gase diese Trennprozesse zu einem einzigen Vorgang zusammenzufassen, der zudem noch unter schonenden Bedingungen bei niedriger Temperatur durchgeführt werden kann (33, 34).

Eine ähnliche Anwendung der Fluidextraktion benutzt die unterschiedliche Löslichkeit der Triglyceride in Kohlendioxid zur Fraktionierung des Butterfettes in einen leicht streichfähigen, aromatischen Teil (Pâtisseriebutter) und einen Rückstand mit hohem Schmelzpunkt (35).

#### Aroma- und Pharmazeutische Industrie

Ein weiterer wichtiger potentieller Anwender der Fluidextraktion stellt die Aromaindustrie dar. Auch hier sind möglichst reine und von Lösungsmittelrückständen freie Extrakte wichtig. Verschiedene Autoren beschrieben die Extraktion von Gewürzen wie Pfeffer, Muskatnuss, Chilies und Zimt (24, 36). Bei der Gewinnung von Aromastoffen aus Naturprodukten wie Blumen und Früchten ist es wichtig, alle für den Geruch und Geschmack wichtigen Verbindungen im richtigen Verhältnis abzutrennen. Die überkritische Extraktion bietet auch hier eine willkommene

Alternative zu den üblichen Trennmethode (Destillation, Flüssigextraktion). Insbesondere erlaubt die Fluidextraktion durch Anpassen der Extraktions- und Abscheidebedingungen (Druck, Temperatur) die Gewinnung von ganz verschiedenen Extrakten (37, 40a).

Stabl *et al.* untersuchten die Abtrennung von pflanzlichen Wirkstoffen für die pharmazeutische Industrie wie Kamillenblüten, Pfefferminzblätter, Haschisch oder Baldrian (36).

#### Petrochemische Industrie

Wegen der langsam zu Ende gehenden Erdölreserven unternimmt die petrochemische Industrie heute grosse Anstrengungen, Kohle bei milden thermischen Bedingungen (400–450 °C) in Anwesenheit eines überkritischen Gases (Toluol) in flüssige Kohlenwasserstoffe umzusetzen (23, 38). Das komprimierte Gas verhindert einerseits Kondensationsreaktionen der primären Reaktionsprodukte und erlaubt andererseits die Abtrennung der flüssigen, wasserstoffreichen Bestandteile vom zurückbleibenden Koks. Eine weitere Möglichkeit der Gewinnung von flüssigen Brennstoffen stellt die Ausbeutung der tertiären Ölreserven dar. Das sogenannte Schieferöl besteht aus fein verteilten Feststoffen mit einem Ölanteil bis zu 40 %. Bringt man Schieferöl mit einem komprimierten Gas wie Kohlendioxid, Ethan, Propan usw. bei Temperaturen oberhalb der kritischen Temperatur des Gases und einem Druck vom Mehrfachen des kritischen Drucks in Kontakt, so setzen sich die feinen Feststoffteilchen in relativ kurzer Zeit ab, und man gewinnt eine feststofffreie fluide Phase (25, 39, 40).

Vor dem katalytischen Cracking müssen in der petrochemischen Industrie die Katalysatorgifte enthaltenen Asphaltene von den schweren Erdölfractionen abgetrennt werden. Sowohl Zhuze (21) als auch Zosel (31) zeigten, dass die Extraktion mit überkritischem, gegenüber der üblicherweise angewendeten mit flüssigem Propan wesentliche Vorteile aufweist: Die Anlagenkosten sind wesentlich geringer, und im Extrakt findet man viel kleinere Vanadiumgehalte.

#### Einige kommerziell erhältliche Apparaturen

J&W Scientific (Rancho Codova, CA, USA) bietet einen zur Extraktion mit Kohlendioxid im Labormassstab geeigneten Soxhletextraktor an. Nova-Swiss (Vogelsangstrasse 24, CH-8307 Effretikon) liefert alle zum Arbeiten unter erhöhten Drucken im Labormassstab nötigen Komponenten wie Rohre, Ventile, Druckbehälter und Druckerzeuger. Ein ganz ähnliches Verkaufsprogramm zeigt auch Autoclave Engineers (2930 West 22 St./Erie, Pa. 16512, USA), wobei zusätzlich Produktionsautoklaven mit Kapazitäten bis zu 2000 l offeriert werden. Sitec (Aschbach 21, CH-8124 Maur) entwickelte eine sehr polyvalente CO<sub>2</sub>-Hochdruckanlage, die sich sowohl zur kontinuierlichen als auch zur chargenweisen Extraktion von Feststoffen eignet. Sotelem (92503 Rueil-Malmaison-Cedex-France) richtet ihre Produkte vor allem auf die Grundlagenforschung aus. Für grosstechnische Anwendungen gilt es im besonderen, auf das Gemeinschaftswerk der Firmen Messer Griesheim, Kohlensäurerwerke-Buse und Ube (Werk Hagen, Buschmühlstrasse 250, Postfach 4260, D-5800 Hagen) hinzuweisen, die gemeinsam versuchen, der Hochdruck-Extraktion einen neuen Schub zu breiterer Anwendung zu geben.

#### Schlussfolgerung und Ausblick

Die bisher durchgeführten Untersuchungen zeigten, dass die Fluidextraktion für verschiedene Anwendungsgebiete technisch leistungsfähig und wirtschaftlich tragbar ist. Im Vergleich zu herkömmlichen Verfahren sind jedoch sowohl

der Forschungsaufwand als auch die Investitionskosten relativ gross. Besonders für grosstechnische Anwendungen erweist sich das Fehlen von kontinuierlichen Fahrweisen und die mit einigen überkritischen Lösungsmitteln (Distickstoffoxid, Kohlenwasserstoffe) nötigen Sicherheitsvorkehrungen als grosser Nachteil. Die Variationsmöglichkeiten der Extraktions- und Abscheidebedingungen kommen zwar einerseits einem potentiellen Anwender sehr zugute, machen aber andererseits die Optimierung der Verfahrensparameter sehr aufwendig (zur Optimierung der überkritischen Hopfenextraktion waren rund tausend Extraktionen nötig (32)). Eine Möglichkeit, diese Optimierung wesentlich zu vereinfachen, bietet die direkte Kopplung mit der Fluidchromatographie.

Obwohl die Hochdruckextraktion noch vor dem Durchbruch zu breiterer Anwendung steht, ist zu erwarten, dass diese neue Trenntechnologie vor allem in der Aroma- und Nahrungsmittelindustrie schon in kurzer Zeit eine wichtige Rolle spielen wird.

#### Literatur

- (18) Hannay, J.B. und Hogarth, J., Proc. R. Soc. London, 29, 324 (1879).
- (19) Godlewicz, M., Petroleum, 34 (8), 1–5 (1938).
- (20) Katz, D.L. und Kurata, F., Ind. Eng. Chem., 32, 817 (1940).
- (21) Zhuze, T.P., Petroleum, 23 (8), 298–300 (1960).
- (22) Zosel, K., US-Pat. 3 969 196 (Priorität: 16.4.1963), Studiengesellschaft Kohle.
- (23) Zosel, K., DBP 20052 293 (Priorität: 5.2.1970), Studiengesellschaft Kohle.
- (24) Hubert, P. und Vitzthum, O.P., Angew. Chemie, 90, 756–762 (1978).
- (25) Peter, S. und Brunner, G., Angew. Chemie, 90, 794–798 (1978).
- (26) Schneider, G.M., Angew. Chemie, 90, 762–774 (1978).
- (27) Wise, W.S., Chem. Ind. (London), 950 (1970).
- (28) Whitehead, J.C.F. und Williams, D.F., J. Inst. Fuel, 48, 182 (1975).
- (29) Bartle, K.D., Martin, T.G. und Williams, D.F., Fuel, 54, 226 (1975).
- (29a) Gmür, W., Bosset, J.O. und Plattner, E., Lebensmitteltechnologie, 19, 194–197 (1986).
- (30) Gaebler, H.J., Int. Symposium High Pressure Chemical Engineering, Erlangen 1984; Verein Deutscher Ingenieure GVC, Düsseldorf; 255–259.
- (31) Zosel, K., Angew. Chemie, 90, 748–755 (1978).
- (32) Krueger, E., European Symposium, Mailand, 3.–5.6.1981.
- (33) DAS 23 32 038 (23.6.1973), Studiengesellschaft Kohle mbH, Muehlheim. Erfinder: K. Zosel.
- (34) DOS 2843 920 (9.10.1978), Fried. Krupp GmbH, Essen. Erfinder: Coenen, H., Kriegel, E.
- (35) Timmen, H., Frede, E. und Precht, D., Contributions at a Lipidforum symposium, Goeteborg, January 26–27, 1984, "Milkfat and its Modification", Reinhard Marcus (Ed.), 92–102. Scandinavian Forum for Lipid Research and Technology, c/o SIK, Box 5401, S-40229 Goeteborg.
- (36) Stabl, E., Schiltz, W., Schuetz, E. und Willing, E., Angew. Chemie, 90, 778–785 (1978).
- (37) Calame, J.P. und Steiner, R., Chemistry and Industry, 399–402, 19. Juni 1982.
- (38) Martin, T.G. und Williams, D.F., Royal Soc. Discussion Meeting and New Coal Chemistry, London, England, May 1980.
- (39) Hull, P., Oil Gas J., 57, 17. Aug. 1970, 57.
- (40) Holm, L.W. und O'Brien, L.J., J. Pet. Technol., 431, April 1971.
- (40a) Gmür, W., Bosset, J.O. und Plattner E., Lebensm.-Wiss. u. -Technol. (Im Druck)



# Fluidextraktion und Fluidchromatographie:

## Eine kritische Literaturübersicht über die Zeitspanne 1962-1985

### III. Fluidchromatographie

W. Gmür\*, J. O. Bosset\*\* und E. Plattner\*

\*Eidgenössische Technische Hochschule, CH-1015 Lausanne

\*\*Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, CH-3097 Liebefeld-Bern

*Im ersten und zweiten Teil dieses Artikels wurden physikalisch-chemische Eigenschaften überkritischer Gase und ihre Anwendung in der Fluidextraktion diskutiert. Der hier präsentierte dritte Teil behandelt nach einem historischen Rückblick die Verfahrensparameter der Fluidchromatographie und legt die apparativen Besonderheiten dieser neuen Methode dar.*

**Supercritical Fluid Extraction and Supercritical Fluid Chromatography:**  
Critical Review Article over the Period from 1962 to 1985

#### III. Supercritical Fluid Chromatography

*The first and second part of this article discussed some physical and chemical properties of supercritical fluids and their applications for supercritical fluid extraction. This third part, dedicated to supercritical fluid chromatography, deals with the process parameters of supercritical fluid chromatography and explains some of the apparative particularities of this new method.*

#### Historischer Rückblick

Im Gegensatz zur Flüssigchromatographie, die nach ihrer Entdeckung anfangs dieses Jahrhunderts durch Tsvet (41) lange Zeit unbeachtet blieb, erlebte die Gas-Flüssig-Chromatographie nach ihrer Einführung durch James und Martin (42) im Jahre 1952 eine stürmische Entwicklung und wurde in kurzer Zeit zu einem der wichtigsten analytischen Instrumente des Chemikers. Sie zeichnet sich durch hohe Trennleistungen ( $100 \cdot 10^3$ – $200 \cdot 10^3$  theoretische Böden pro Säule), kleine Nachweisgrenzen (Pico- bis Femtogramm) und kurze Analysenzeiten aus. Ihre Anwendung ist jedoch auf Stoffe begrenzt, die unterhalb von  $400^\circ\text{C}$  ohne Zersetzung verdampft werden können, was nur bei etwa einem Fünftel der bis heute bekannten Substanzen der Fall ist. Mit der Flüssigchromatographie können zwar auch schwer flüchtige und thermisch instabile Verbindungen ohne Derivatisierung analysiert werden, und die Einführung der HPLC führte auch zu ähnlichen Analysenzeiten wie in der Gaschromatographie (43, 44), jedoch sowohl in bezug auf Trennleistung ( $5 \cdot 10^3$ – $10 \cdot 10^3$  theoretische Böden pro Säule) als auch Nachweisgrenze (Micro- bis Nanogramm) kann die Flüssig- nicht mit der Gaschromatographie konkurrieren. Die kleinere Trennleistung der Flüssig- im Vergleich zur Gaschromatographie ist hauptsächlich auf die weniger günstigen Transporteigenschaften wie grössere Viskositäten (Faktor  $10^2$ ) und kleinere Diffusionskoeffizienten (Faktor  $10^4$ ) von Flüssigkeiten zurückzuführen (siehe Tab. 1 im I. Teil dieses Artikels (44a)).

Hochverdichtete Gase im kritischen Temperaturbereich besitzen gasähnliche Viskositäten und Diffusionskoeffizienten, die wesentlich über jenen von Flüssigkeiten liegen (Faktor  $10^2$ ), zeigen jedoch wegen ihrer grossen Dichte ähnliche Lösungseigenschaften wie Flüssigkeiten. Im Gegensatz zur Gaschromatographie können deshalb bei überkritischen Gasen als fluiden Phase (Fluidchromatographie, Supercritical Fluid Chromatography, SFC) auch schwer flüchtige und thermolabile Verbindungen analysiert werden. Wegen der gasähnlichen Transporteigenschaften sind weit grössere Trennleistungen ( $30 \cdot 10^3$ – $50 \cdot 10^3$  theoretische Böden pro Säule) als in der Flüssigchromatographie gewährleistet. Schon die erste Anwendung der Fluidchromatographie von Klesper et al. (45) im Jahre 1962 zeigte klar die Vorteile dieser Methode zur Trennung von thermisch instabilen Verbindungen. Die Weiterentwicklung und -verbreitung ging jedoch nicht so rasch und einfach vonstatten, wie man es entsprechend ihrer Leistungsfähigkeit hätte erwarten sollen. Dafür verantwortlich sind der ursprünglich grosse apparative Aufwand, wahrscheinlich auch die stürmische Ent-

wicklung anderer Methoden, speziell der HPLC, auf die sich Analytiker und Apparatehersteller konzentrierten. Da jedoch die apparativen Anforderungen der SFC mit jenen der HPLC vergleichbar sind, erwachte ab 1978 ein neues Interesse an der Fluidchromatographie. Es zeigte sich auch, dass in der Fluidchromatographie bei Verwendung von Kapillarsäulen die direkte Kopplung mit dem Massenspektrometer weit weniger Probleme als in der Flüssigchromatographie bietet (46).

Bereits sind mehrere ausführliche Übersichtsartikel über die auf dem Gebiete der Fluidchromatographie ausgeführten Arbeiten erschienen. Schon in den Jahren 1966/67 untersuchten zuerst Sie et al. (47, 48, 49, 50) und kurz danach Giddings et al. (51) und Myers und Giddings (52) wichtige Grundlagen der SFC. Ein Artikel von Karayannis (53) aus dem Jahre 1971 geht sehr ausführlich auf die bis zu jenem Zeitpunkt benutzten Apparaturen ein. Grosse Resonanz haben die Übersichten von Gouw und Jentoft (54, 55) gefunden, in denen alle für die Fluidchromatographie wichtigen Fragen behandelt sind. Klesper (56) veröffentlichte im Jahre 1978 eine Zusammenfassung, die sich hauptsächlich mit der Anwendung der SFC zur Trennung von Hochpolymeren befasst. Van Wassen et al. (57) beschrieben die physikalisch-chemischen Grundlagen und Anwendungen der Fluidchromatographie. Ein Artikel von Peaden und Lee (58) ist dem Einfluss von Druck, Temperatur, Viskosität und Diffusionskoeffizient auf die Trennleistung gewidmet. Im Jahre 1981 wurde erstmals auf die mögliche Anwendung von Kapillarsäulen in der Fluidchromatographie hingewiesen (46). Randall und Bowman (59) zeigten eine ausführliche Zusammenstellung von allen auf den Gebieten der Fluidextraktion und -chromatographie ausgeführten Arbeiten. Fjeldsted und Lee (60) diskutierten im Jahre 1984 die instrumentellen Aspekte der Kapillarfluidchromatographie, und Novotny (61) schrieb über dieses Thema einen wertvollen Übersichtsartikel.

#### Verfahrensparameter

##### Mobile Phase

Im Gegensatz zur Fluidextraktion, wo relativ grosse Mengen an überkritischem Fluid eingesetzt werden, spielen in der Fluidchromatographie die Toxizität und der Preis der mobilen Phase nur eine untergeordnete Rolle. Das gewählte Fluid muss im überkritischen Bereich stabil sein, darf keine Reaktionen mit den zu chromatographierenden Substanzen sowie der stationären Phase eingehen und soll ein ausreichendes Lösungsvermögen aufweisen. Um den technischen Aufwand in Grenzen

zu halten, vermeidet man Systeme, die zur Erreichung des verlangten Lösungsvermögens sehr hohe Drucke erfordern. Ebenfalls vermieden werden hohe Temperaturen, die die Chromatographie von thermolabilen Substanzen verunmöglichen. Asche (62) prüfte eine ganze Reihe von möglichen fluiden Phasen bezüglich ihrer chemischen Stabilität. Seine Untersuchungen zeigten, dass halogenierte Alkane, verzweigte Alkane, Ketone, Acetonitril und Freone wegen der Gefahr der thermischen Zersetzung oder Reaktionen mit der stationären Phase nur bedingt anwendbar sind. Tab. 3 fasst die analytisch nützlichen mobilen Phasen zusammen. Wiederum kommt dem Kohlendioxid aus den schon oben erwähnten Gründen eine spezielle Rolle zu.

| Mobile Phase             | P <sub>c</sub><br>(bar) | T <sub>c</sub><br>(°C) | ρ <sub>c</sub><br>(kg·m <sup>-3</sup> ) |
|--------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------------------------|
| Xenon                    | 58.0                    | 16.6                   | 1105                                    |
| Kohlendioxid             | 72.9                    | 31.1                   | 448                                     |
| Distickstoffoxid         | 71.4                    | 36.5                   | 457                                     |
| Schwefelhexafluorid      | 37.1                    | 45.6                   | 752                                     |
| Propan                   | 41.9                    | 96.7                   | 217                                     |
| Ammoniak                 | 111.3                   | 132.3                  | 240                                     |
| Dichlorotetrafluoroethan | 35.5                    | 146.7                  | 582                                     |
| Butan                    | 37.5                    | 152.0                  | 228                                     |
| n-Pentan                 | 33.3                    | 196.6                  | 232                                     |
| Isopropanol              | 47.0                    | 253.3                  | 273                                     |

Tab. 3: Einige für die Fluidchromatographie wichtige mobile Phasen (61).

Die Eignung einer mobilen Phase kann mit Hilfe des im Kapitel "Lösungsvermögen" (44a) eingeführten Löslichkeitsparameters abgeschätzt werden. Wechselt man das Fluid, so ändern sich auch die Kapazitätsverhältnisse (Definition siehe nächstes Kapitel) des gelösten Stoffes: In Abb. 11 sind die kleineren Kapazitätsverhältnisse mit Ethan auf eine bessere Löslichkeit des Naphthalins in Ethan als in Kohlendioxid zurückzuführen.

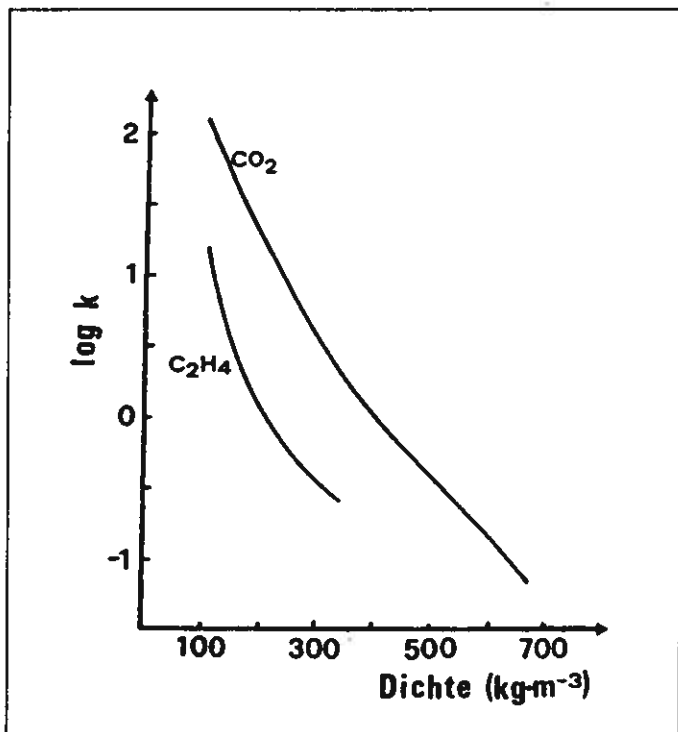


Abb. 11: Kapazitätsverhältnis (*k'*) von Naphthalin an desaktiviertem Silicagel (Reversed Phase, Perisorb RP-8) bei 40 °C für Kohlendioxid und Ethan als mobile Phasen in Funktion der Dichte (2)

Wichtig erscheint auch das Zusammenspiel zwischen mobiler und stationärer Phase: Sie und Rijnders (63) zeigten, dass eine Polaritätszunahme der mobilen Phase die Trennung der Komponenten nach dem Molekulargewicht und eine Polaritätszunahme der stationären Phase die Trennung nach den funktionellen Gruppen fördert. Arbeitet man mit gepackten Säulen, so wird die Selektivität ähnlich wie in der HPLC weitgehend von der mobilen Phase bestimmt. Der Zusatz von Moderatoren zum überkritischen Fluid führt zu einer Reduktion der Kapazitätsverhältnisse und zu einer besseren Trennleistung (Abb. 12). Gemäss Untersuchungen von Board et al. (64) beruht dieser Effekt hauptsächlich auf einer durch den Moderator bewirkten Modifizierung der Oberfläche der stationären Phase. Die benutzte mobile Phase beeinflusst auch die Wahl des Detektors; so ist es zum Beispiel mit Flammenionisationsdetektoren nicht möglich, Fluide mit mehr als einem Kohlenstoffatom zu benutzen.

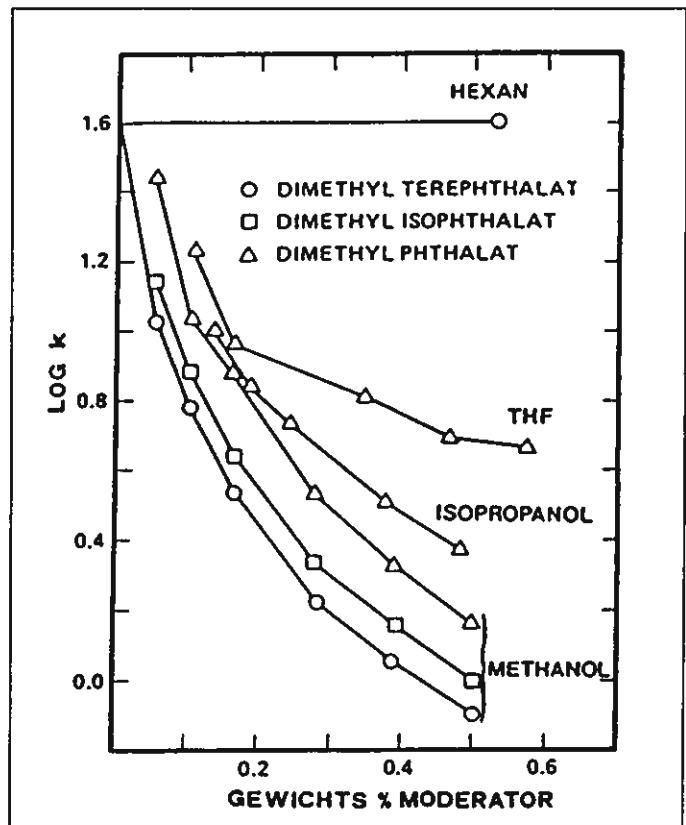


Abb. 12: Einfluss der Konzentration einiger Moderatoren auf das Kapazitätsverhältnis von Phthalatisomeren. Mobile Phase: Kohlendioxid. Kolonne: RP-18, 4.6 mm x 20 cm (64).

### Dichte

Die Retention in der Chromatographie wird mit dem Kapazitätsverhältnis *k* gemessen:

$$k = \frac{c(\text{stat})}{c(\text{mob})} \cdot \frac{V(\text{stat})}{V(\text{mob})} = K \frac{V(\text{stat})}{V(\text{mob})}$$

wobei *c*(stat) und *c*(mob) die Konzentrationen einer bestimmten Komponente in der stationären beziehungsweise in der fluiden Phase sowie *V*(stat) und *V*(mob) die Volumina der stationären und der mobilen Phase in einer Säule sind. *K* wird Verteilungskoeffizient des gelösten Stoffes zwischen den beiden Phasen genannt. Wie im Kapitel "Lösungsvermögen" (44a) abgeleitet wurde, zeigt der Logarithmus der Löslichkeit einer bestimmten Substanz eine parabolische Abhängigkeit von der Dichte des Fluids. Daraus folgt die Beziehung:

$$\log k = a \cdot \rho^2 - b \cdot \rho + c$$

wobei  $a$ ,  $b$ ,  $c$  Konstanten sind. Bei tiefen Drucken kann der Term  $a\rho^2$  wiederum vernachlässigt werden, und der Logarithmus des Kapazitätsverhältnisses hängt somit praktisch linear von der Dichte des überkritischen Fluids ab (Abb. 13):

$$\log k \cong -b \cdot \rho + c \quad (5)$$

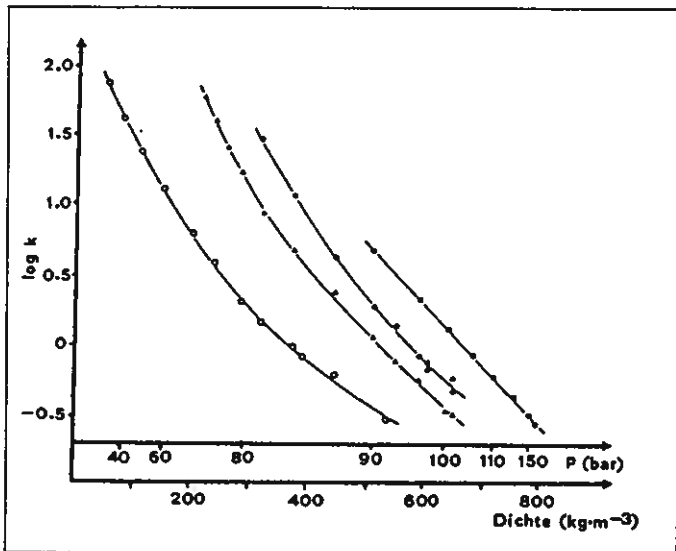


Abb. 13: Variation des Logarithmus des Kapazitätsverhältnisses von Decan (○), Hexadecan (▲), Eicosan (●) und Squalan (■) in Funktion der Dichte von Kohlendioxid bei 40°C. Kolonne: Carbowax 400 auf Porasil C als Träger (125–150  $\mu$ m), 1,4 mm x 2 m (65).

In der Fluidchromatographie spielt die Dichte eine ähnliche Rolle wie in der Gaschromatographie die Temperatur und in der Flüssigchromatographie die Zusammensetzung der mobilen Phase. Dies führte zur Entwicklung einer Technik, die der Temperaturprogrammierung in der GC oder des Lösungsmittelgradienten in der HPLC entspricht: Erhöht man die Dichte kontinuierlich während einer SFC, so ist es möglich, Komponenten mit ganz verschiedenen Molekulargewichten und Polaritäten zu eluieren. Das Retentionsverhältnis  $\alpha$  zwischen zwei Verbindungen ist folgendermassen definiert:

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1}; k_2 > k_1 \quad (6)$$

Aus Gleichung 5 und 6 folgt, dass der Logarithmus des Retentionsverhältnisses linear von der Dichte des überkritischen Fluids abhängt (47, 58) ( $B_0$  und  $m$  sind Konstanten):

$$\log \alpha = B_0 - m \cdot \rho \quad (7)$$

Von dieser Beziehung leiten sich zwei wichtige praktische Konsequenzen für die SFC ab: Einerseits erreicht man maximale Auflösung bei der tiefstmöglichen Dichte, andererseits sollte zur Trennung von Verbindungen mit sehr unterschiedlichen Molekulargewichten nicht mit linearen, sondern mit asymptotischen Dichteprogrammen gearbeitet werden (Abb. 14).

#### Druck

Infolge seiner kleineren Viskosität ist der Druckabfall in einer chromatographischen Säule mit einem überkritischen Gas als mobiler Phase wesentlich geringer als mit einer Flüssigkeit. Da jedoch ein Druckgradient eine Verminderung der Dichte und damit des Lösevermögens des Fluids bewirkt, ist er von wesentlich grösserer Bedeutung als in der Flüssigchromatographie. Eine Verminderung des Drucks führt zu einer Erhöhung des Kapazitätsverhältnisses (Abb. 15), wobei diese Erhöhung um so

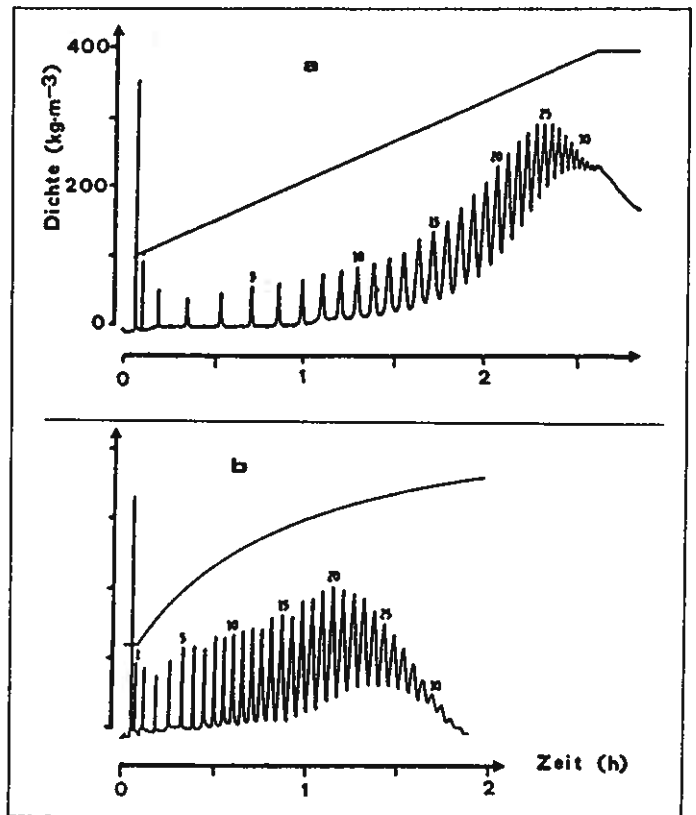


Abb. 14: Elution eines Gemisches von 2000 MW Polystyrol Oligomeren mit linearer (a) und asymptotischer (b) Dichteprogrammierung. Stationäre Phase: 50% Phenyl-Methylphenyl-polyisiloxan. Mobile Phase: n-Pentan, 210°C (66).

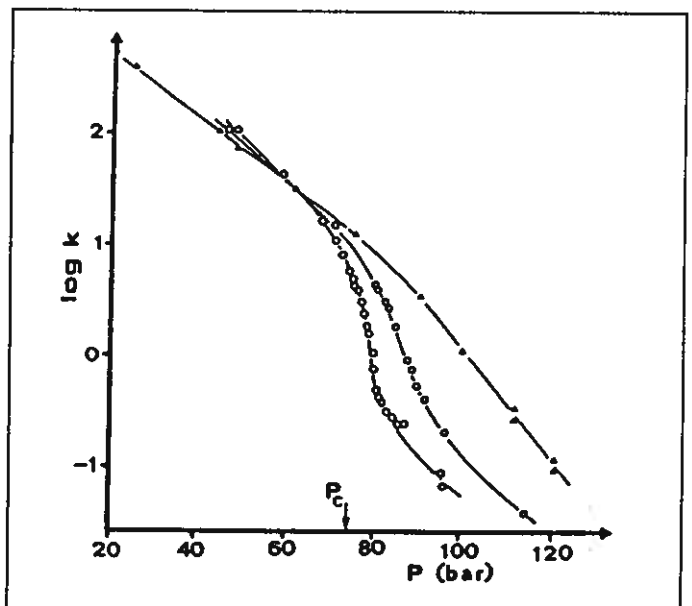


Abb. 15: Variation des Logarithmus des Kapazitätsverhältnisses von Naphthalin in Funktion des Drucks in überkritischem Kohlendioxid bei 35°C (○), 40°C (□) und 45°C (▲). Stationäre Phase: Perisorb RP 8 (30–40  $\mu$ m) (2).

grösser ist, je näher man sich beim kritischen Punkt befindet. Die Verluste an Auflösung infolge des Druckabfalls haben einige Autoren dazu veranlasst, Säulenpackungen mit grösseren Partikeldurchmessern oder Kapillarsäulen zu benutzen (67). Die Auswirkungen des Druckabfalls vermindern sich hingegen bei erhöhten Temperaturen (50–100 °C >  $T_c$ ) und Drucken ( $P = 4\text{--}5 \times P_c$ ), da sich die Dichte in diesem Bereich nur wenig mit dem Druck ändert (siehe Abb. 1 (44a)).

## Temperatur

In Abb. 16 wurde der Logarithmus des Kapazitätsverhältnisses in Funktion des Kehrwertes der Temperatur bei konstanten Drucken und konstanter Dichte für Hexadecan aufgetragen. Der erste Teil der Kurve entspricht einem GC-ähnlichen Verhalten: Das Kapazitätsverhältnis erhöht sich mit dem Kehrwert der Temperatur, d.h. die Retention wird hauptsächlich durch den Dampfdruck der zu chromatographierenden Komponente bestimmt. Erniedrigt man jedoch die Temperatur, so durchläuft das Kapazitätsverhältnis ein Maximum und nimmt danach wieder ab. Dies lässt sich durch die mit sinkender Temperatur zunehmenden Dichte und der damit verbundenen Erhöhung der Löslichkeit im überkritischen Gas erklären. In diesem Temperaturbereich zeigt die Retention also LC-ähnliches Verhalten.

In Abb. 17 wurden dieselben Kurven wie in Abb. 16 für eine Reihe von Homologen bei Drucken von 81 und 98 bar dargestellt. Der vertikale Abstand zwischen den Kurven von zwei Komponenten, d.h. bei konstanter Temperatur, entspricht dem Logarithmus des Retentionsverhältnisses. Man erkennt, dass sich im GC-ähnlichen Bereich, d.h. bei erhöhter Temperatur, wesentlich grössere Retentionsverhältnisse als bei tiefen Temperaturen ergeben. Bei Temperaturprogrammierung im Verlaufe einer SFC-Trennung müssen zur Erniedrigung des Kapazitätsfaktors im GC-ähnlichen Bereich positive, im LC-ähnlichen Bereich jedoch negative Temperaturprogramme angewendet werden.

## Flussrate

Sowohl für gepackte als auch für Kapillarsäulen ist die optimale Geschwindigkeit proportional zu  $D/d$ , wobei  $D$  dem Diffusionskoeffizienten des gelösten Stoffes und  $d$  dem Partikeldurchmesser bei gepackten Säulen respektive dem Durchmesser der Kapillarsäule entspricht. Da überkritische Fluide etwa 10–100 mal grössere Diffusionskoeffizienten als Flüssigkeiten aufweisen, sollte auch die optimale Geschwindigkeit und damit die Effizienz (d.h. die theoretische Bodenzahl pro Zeiteinheit) in der Fluidchromatographie 10–100 mal grösser als in der Flüssigchromatographie sein. Abb. 18 zeigt, dass die theoretische Bodenhöhe für gepackte Säulen bis 1.2 cm/s unabhängig von der linearen Geschwindigkeit verläuft.

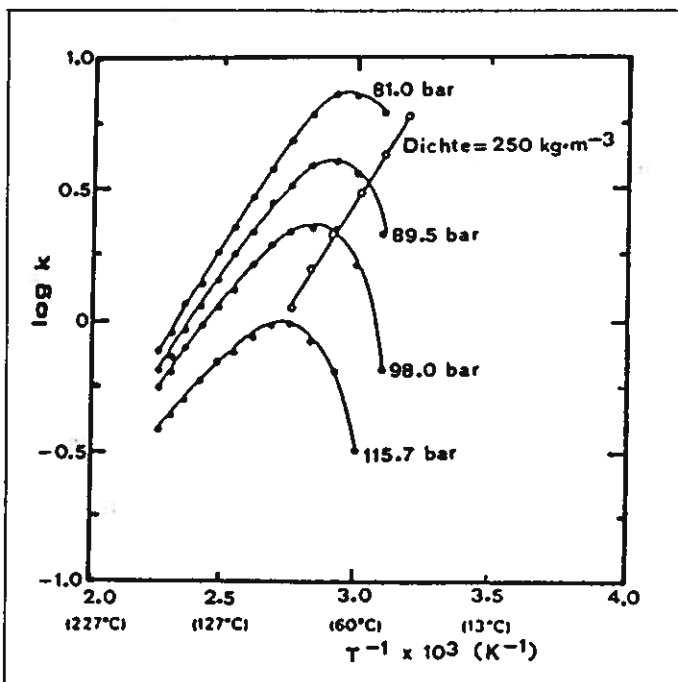


Abb. 16: Variation des Logarithmus des Kapazitätsverhältnisses von Hexadecan in Funktion von  $T^{-1}$  in Kohlendioxid bei konstantem Druck (●) und konstanter Dichte (◐). Kolonne: BP-10; 6 m x 0.1 mm (68).

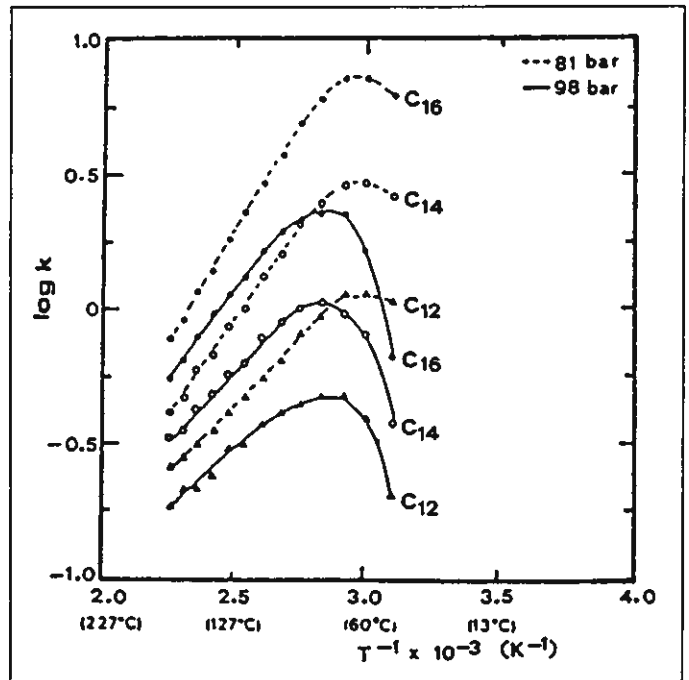


Abb. 17: Variation des Logarithmus des Kapazitätsverhältnisses von drei n-Kohlenwasserstoffen in Funktion von  $T^{-1}$  in Kohlendioxid bei Drucken von 81 bar und 98 bar. Kolonne: BP-10; 6 m x 0.1 mm (68).

Mit Kapillarsäulen ist es zur Erhöhung der optimalen Flussrate und damit zur Erreichung einer grösseren Effizienz wichtig, mit möglichst kleinen Säulendurchmessern zu arbeiten (70).

## Apparatur

Abb. 19 zeigt den schematischen Aufbau eines Fluidchromatographen. Die benötigte Apparatur gleicht in vielen Punkten jener der Gas- und Flüssigchromatographie. Trotzdem gilt es einige wichtige Unterschiede zu beachten:

- Die Temperaturprogrammierung in der Gas- oder die Programmierung von Lösungsmittelgradienten in der Flüssigchromatographie wird in der Fluidchromatographie oft durch die Programmierung des Drucks ersetzt.

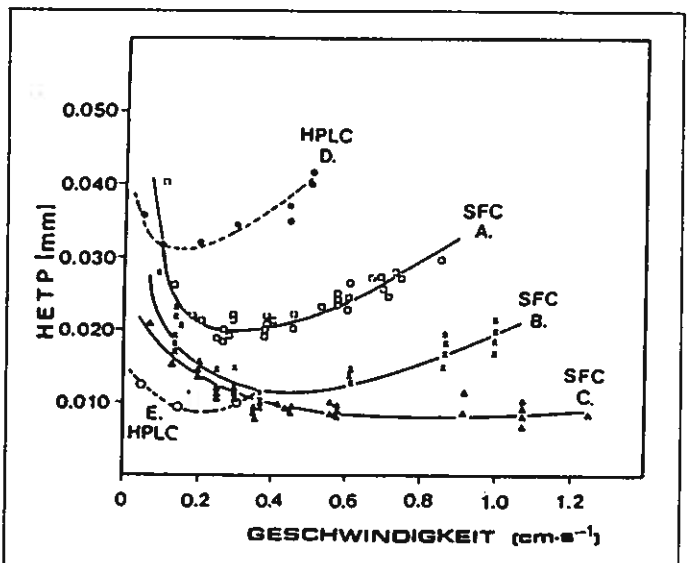


Abb. 18: Variation der theoretischen Bodenhöhe in Funktion der linearen Geschwindigkeit der mobilen Phase ( $\text{CO}_2$ ) für Naphthalin. Kolonne: 15 cm x 4.6 mm, Octadecyl bonded Spherisorb ODS silica. Korngrössen: A, D = 10  $\mu\text{m}$ ; B = 5  $\mu\text{m}$ ; C, E = 3  $\mu\text{m}$  (69).

- In der SFC ist es wichtig, den überkritischen Zustand bis ins Detektionssystem aufrecht zu erhalten. Dies bedeutet, dass der Detektor entweder hohen Drucken standhalten muss oder aber die Entspannung erst kurz vor der Detektion stattfinden sollte.

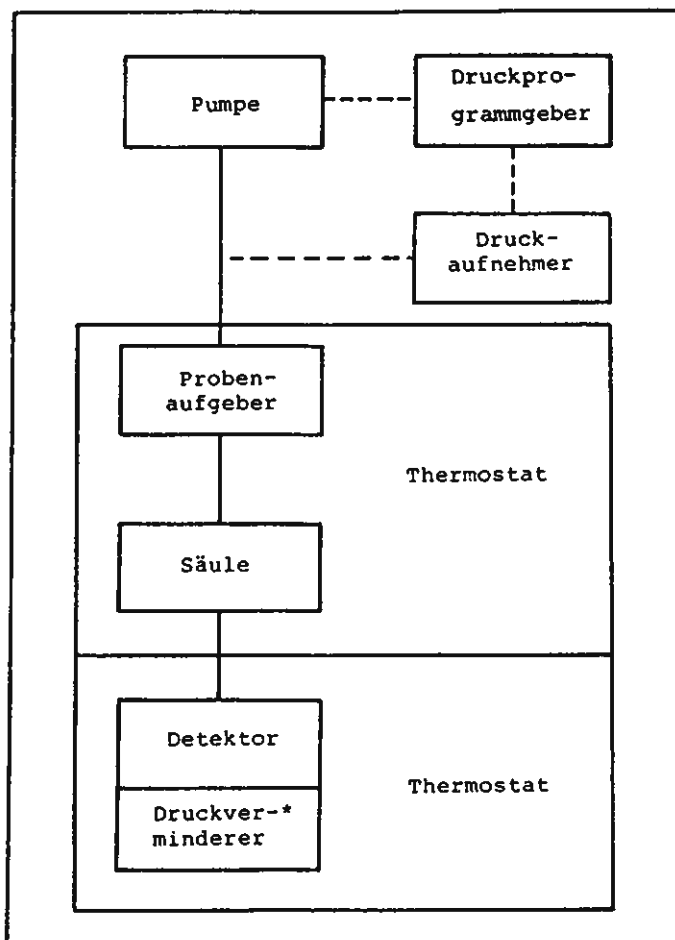


Abb. 19: Schematischer Aufbau eines Fluidchromatographen.  
\* Vor oder nach Detektor

#### Pumpe

Das wohl einfachste Druckaufbausystem besteht aus einem beheizten Druckzylinder, dem ein Entspannungshahn nachgeschaltet wird (mit Kohlendioxid erreicht man auf diese Weise durch Heizen auf 60 °C einen Druck von 150 bar (71)). Für höhere Drücke eignen sich die für die HPLC entwickelten Pumpentypen, wobei die Druckprogrammierung eine entsprechende Abänderung erfordert (72). Damit das Fluid als Flüssigkeit gepumpt wird, benötigen bei Normalbedingungen gasförmige Verbindungen eine Kühlung des Pumpenkörpers (73). In der SFC am besten bewährt haben sich die sogenannten Spritzenpumpen (74). Sie liefern einen ideal pulsfreien Fluss, und die Modifizierung zur Druckprogrammierung gestaltet sich relativ einfach. Ausserdem verwendet man auch die heute in der HPLC weit verbreiteten Doppelkolben-Membran-Pumpen (73, 75). Sie eignen sich besonders zur Gradienten-Elution und erlauben einen schnellen Lösungsmittelwechsel. Schwierigkeiten bietet jedoch ihr relativ stark pulsierender Fluss (7 bar) (76).

#### Probenaufgeber

Für den niedrigen Druckbereich (<100 bar) ist die in der GC übliche Aufgabe mit einer Spritze über ein Septum möglich (74). Die genaueste Art, die Probenmenge festzusetzen, ist jedoch die Injizierung mit einem HPLC-Dosiersystem mit Einspritzschleife (75). Für Kapillarsäulen mit kleinen Innendurchmessern (<100 µm) wird ein Splitting empfohlen (61). Die Splitting-

Technik erfordert aber einerseits relativ konzentrierte Proben und macht andererseits quantitative Bestimmungen sehr schwierig. Eine alternative Möglichkeit zur Einspritzung kleiner Probenvolumina bietet die sogenannte Hoch-Geschwindigkeits-HPLC-Einspritzung (123). In der Fluidchromatographie existiert leider noch keine zur "Splitless"-Injizierung in der GC analoge Technik, die auch die Chromatographie von verdünnten Proben erlaubt.

#### Säule

In Tab. 4 werden die wichtigsten Eigenschaften von Kapillarsäulen mit jenen von gepackten Säulen verglichen.

|                                   | Kapillar-säule (119)                   | Gepackte Säule (69)                   | Vor- und Nachteile von Kapillar- gegenüber von gepackten Säulen                                                            |
|-----------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Theoret. Bodenzahl pro Säule      | 50'000                                 | 17'000                                | Erhöhte Trennleistung                                                                                                      |
| Druckabfall über Säule            | 0.5 bar                                | 128 bar                               | Grössere Säulenlängen, d.h. höhere theoretische Bodenzahl                                                                  |
| Vol. Fluss durch Säule            | 2.3 µl/min                             | 10 <sup>4</sup> µl/min                | -Einfachere Kopplung mit FID und MS<br>-Kleinerer Verbrauch an mobiler Phase<br>-Kleinere Toleranzen bezüglich Totvolumina |
| Theor. Bodenzahl pro Analysenzeit | 50 s <sup>-1</sup>                     | 1000 s <sup>-1</sup>                  | Längere Analysenzeiten                                                                                                     |
| Belastbarkeit                     | 10 <sup>-12</sup> - 10 <sup>-8</sup> g | 10 <sup>-9</sup> - 10 <sup>-5</sup> g | Kleinere Belastbarkeiten, d.h. höhere Anforderungen an die Empfindlichkeit des Detektors.                                  |

Tab. 4: Vergleich einiger wichtiger Eigenschaften von Kapillarsäulen und gepackten Säulen für die SFC anhand zweier Beispiele aus der Literatur

#### Gepackte Säulen

In der Fluidchromatographie werden ähnlich wie in der Flüssigchromatographie Adsorptionsmittel, chemisch gebundene Phasen und Molekularsiebe verwendet. Es zeigte sich, dass der spezifische Einfluss der stationären Phase im Gegensatz zur Gaschromatographie gering ist und die Selektivität wie bei der HPLC überwiegend von der mobilen Phase abhängt (77, 78). Konventionell belegte Phasen der GC kommen für fluidchromatographische Anwendungen kaum in Frage, da die aufgetragene Trennflüssigkeit durch die überkritische mobile Phase leicht vom Trägermaterial abgelöst würde; besser haben sich die heute in der HPLC üblichen chemisch gebundenen Phasen bewährt (79). Bei relativ hoher kritischer Temperatur der mobilen Phase werden in der Regel Adsorptionsmittel (Silicagel, Aluminiumoxid) oder Molekularsiebe (80, 81) verwendet. Der Druckabfall, als in der SFC sehr wichtiger Parameter, hängt hauptsächlich von der Korngrösse ab. Dies veranlasste einige Autoren (67), relativ grosse Partikeldurchmesser (120–160 µm) zu verwenden. Arbeitet man jedoch bei Drucken, die beim Mehrfachen des kritischen Wertes liegen, zeigen kleine Korngrössen (3–10 µm) wesentlich bessere Trennleistungen (82). Nebst den in der HPLC üblichen Säulendimensionen (4.6 mm x 15 cm) ist zur Reduktion des Verbrauchs an mobiler Phase auch die Verwendung von sehr kleinen Säulendurchmessern (0.2 – 1 mm) möglich (83, 84, 85).

#### Kapillarsäulen

Die in den letzten Jahren erzielten Fortschritte in der Herstellung von Kapillarsäulen für die Gaschromatographie kommen auch der Fluidchromatographie zugute. Geschmolzene Quarz- (fused silica) Kapillaren wurden im Jahre 1979 eingeführt und fanden sehr schnell weite Verbreitung. Beschichtet mit einem

Polyimidfilm sind sie wegen ihrer grossen Flexibilität viel einfacher zu handhaben als Glaskapillaren. Obwohl die chemisch gebundenen stationären Phasen im Hinblick auf eine erhöhte thermische Stabilität entwickelt wurden, zeigte es sich, dass sie auch in der Fluidchromatographie, wo vor allem das grosse Lösungsvermögen der mobilen Phase Probleme stellt, verwendet werden können. Einige Autoren beschrieben die Herstellung von speziellen Kapillarsäulen für die SFC (86, 87, 88, 89). Wegen der kleineren Diffusionskoeffizienten von überkritischen Gasen verwendet man in der SFC oft Kapillaren mit kleineren Innendurchmessern als in der Gaschromatographie. Abb. 20 zeigt die Abhängigkeit der Bodenhöhe von der Strömungsgeschwindigkeit für vier verschiedene Kapillarinneindurchmesser. Man erkennt, dass mit kleineren inneren Durchmessern nicht nur die Bodenhöhe abnimmt, sondern auch die Zunahme der Bodenhöhe mit der linearen Geschwindigkeit kleiner ist.

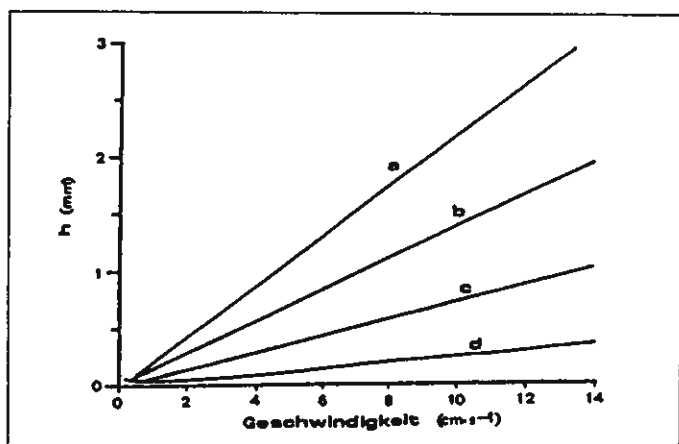


Abb. 20: Theoretische Bodenhöhe für *n*-Decan in Funktion der linearen Geschwindigkeit der mobilen Phase ( $\text{CO}_2$ ) für Kolonnendurchmesser von 100  $\mu\text{m}$  (a), 74  $\mu\text{m}$  (b), 50  $\mu\text{m}$  (c) und 25  $\mu\text{m}$  (d) (70).

Kapillaren mit kleineren Innendurchmessern stellen jedoch wegen ihrer geringen Belastbarkeiten hohe Anforderungen an die Empfindlichkeit des Detektors. Erhöht man in der Gaschromatographie die Filmdicke der stationären Phase, so vergrössert man zwar die Belastbarkeit einer Säule, verringert jedoch gleichzeitig ihre Trennleistung. Dieser Effekt beruht auf den verglichen mit der Gasphase viel kleineren Diffusionskoeffizienten in der stationären Phase (Faktor  $10^4$ ). Da in der Fluidchromatographie dieses Verhältnis viel kleiner ist (Faktor  $10^2$ ), hat eine Vergrösserung der Filmdicke eine viel kleinere Erhöhung der Bodenhöhe zur Folge (Abb. 21).

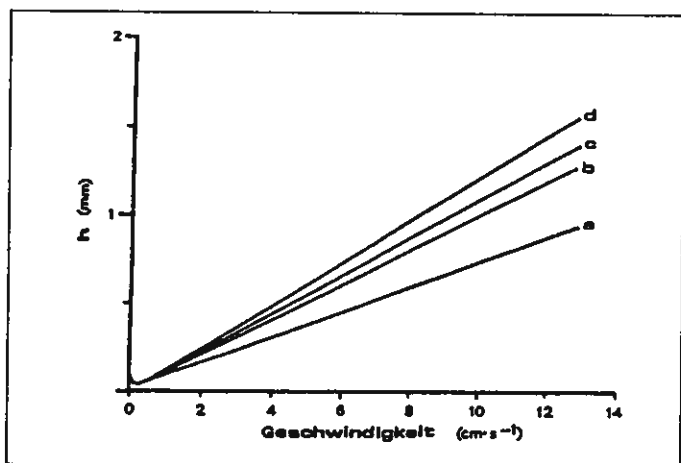


Abb. 21: Theoretische Bodenhöhe für *n*-Decan in Funktion der linearen Geschwindigkeit der mobilen Phase ( $\text{CO}_2$ ) für stationäre Phasendicken von 0.25  $\mu\text{m}$  (a), 0.50  $\mu\text{m}$  (b), 0.75  $\mu\text{m}$  (c) und 1.00  $\mu\text{m}$  (d) (90).

Bei der Verwendung von Kapillarsäulen in der SFC gilt es noch zwei ganz spezielle Phänomene zu beachten: Einerseits ist es möglich, dass die stationäre Phase infolge der Einwirkung des überkritischen Gases aufquillt, andererseits scheint die Trennleistung auch vom Wicklungsradius der Säule abzuhängen (91).

#### Detektor

Der Detektor hat die Aufgabe, eine Konzentration oder einen Fluss von Materie in ein elektrisches Signal umzuwandeln. Ändert man die Detektoren der Gas- oder Flüssigchromatographie so ab, dass sie entweder hohen Drucken standhalten oder aber die Entspannung erst kurz vor der Detektion stattfindet, so können sie prinzipiell auch in der Fluidchromatographie angewendet werden. Alle im folgenden beschriebenen und in Tab. 5 zusammengefassten Detektionsprinzipien sind bereits bestens aus der Gas- oder Flüssigchromatographie bekannt, wurden jedoch für die SFC im obigen Sinne modifiziert.

| Detektor                              | Nachweisgrenze  | Volumen                 |
|---------------------------------------|-----------------|-------------------------|
| UV-Sichtbar Absorptions-Detektor (91) | 1 ng            | 10 nl - 8 $\mu\text{l}$ |
| Flammen-ionisations-detektor (99)     | 1 pg            | <1 $\mu\text{l}$        |
| Massenspektrometer (105)              | 1 pg            | <1 $\mu\text{l}$        |
| Infrarotspektrometer (109)            | 1 $\mu\text{g}$ | 1 $\mu\text{l}$         |
| Fluoreszenz-detektor (114)            | 1 pg            | 100 nl                  |

Tab. 5: Mögliche Detektoren in der Fluidchromatographie

#### UV-Sichtbar-Absorptionsdetektor

UV-Sichtbar-Absorptionsdetektoren messen die Lichtabsorption einer bestimmten Probensubstanz im sichtbaren oder ultravioletten Wellenlängenbereich. Sie haben eine vergleichsweise hohe Nachweisgrenze (1 ng), und ihre Anwendung beschränkt sich auf Substanzen mit bei den entsprechenden Wellenlängen absorbierenden chromophoren Gruppen. Ihre Konstruktion ist relativ einfach, und sie erlauben das Arbeiten mit Kapillarsäulen.

Sie et al. (49), die als erste den UV-Detektor in der SFC gebrauchten, entspannten die fluide Phase (*n*-Pentan, iso-Propanol) kurz vor der Detektion. Dies ist einerseits nur mit bei Normalbedingungen flüssigen Fluiden möglich, andererseits vergrössert das wegen der Gasblasenbildung nötige Gasabscheidegefäss das Totvolumen (400  $\mu\text{l}$ ). Schon bald entwickelten deshalb zuerst Karayannis (53), dann Jentoft und Gouw (92) UV-Zellen, die hohen Drucken standhielten. Auch für weitere in den siebziger Jahren auf dem Gebiete der SFC ausgeführte Arbeiten wurden solche druckfesten, thermostatisierten Messzellen benutzt (75, 93). Im Jahre 1982 war während kurzer Zeit ein speziell für die Fluidchromatographie bestimmter UV-Detektor kommerziell erhältlich (94). Eine besonders elegante und einfache Lösung fanden Novotny et al. (46). Sie verwendeten direkt den letzten Teil einer GC-Quarz-Trennsäule als Detektionsvolumen. Nach Entfernen der Polyimidschicht sind solche GC-Quarz-Kapillaren transparent bis zu Wellenlängen von 210 nm und ergeben sehr kleine Totvolumina (10 nl) (91).

### Flammenionisationsdetektor

In einer in Luft brennenden Wasserstoffflamme bilden die Probenkomponenten Ionen und erzeugen in einem Spannungsfeld zwischen zwei Elektroden einen Strom. Der Flammenionisationsdetektor (FID) gehört in der Fluidchromatographie wegen seiner Universalität, seiner Empfindlichkeit, seines grossen linearen Bereichs und seines kleinen Totvolumens zu den beliebtesten Detektoren. Problematisch ist die Anwendung des FID bei sehr schwerflüchtigen Komponenten, da bei der Entspannung die Gefahr der Wandkondensation und Clusterbildung besteht. Weil der FID auf praktisch alle Verbindungen mit mehr als einem Kohlenstoffatom anspricht, können solche Stoffe weder als mobile Phase noch als Moderator benutzt werden.

Bei Erhöhung des Drucks nimmt die Empfindlichkeit des FID stark ab (95). In der Fluidchromatographie muss deshalb das Trägermedium kurz vor der Detektion entspannt werden. *Giddings et al.* (51) verwendeten dazu einen Mikrohahn. Sie beobachteten bei grossen Probenmengen Verstopfungserscheinungen und sehr unregelmässige Peaks. Im Jahre 1975 erschien ein Patent für einen FID, bei dem der Druck durch eine in geringem Abstand von der Brennerdüse in der Zuleitung des Probengases angeordneten Blende (2–10  $\mu\text{m}$ ) herabgesetzt wurde (96). *Rawdon* (97) benutzte eine modifizierte Brennerdüse zur Druckverminderung. Es gelang ihm, Substanzen bis zu einem Molekulargewicht von 2000 zu chromatographieren. Im weiteren wurden auch an ihren Enden abgeflachte Platin-Iridium-Kapillaren zur Entspannung des fluiden Mediums angewendet (71, 98). Diese Methode scheint jedoch nicht ohne Probleme zu sein (99). *Fjeldsted et al.* (100) benutzten einen Kapillarrestriktor aus geschmolzenem Quarz (9 cm x 10  $\mu\text{m}$ ), wobei sie das sogenannte "Spiking" mit einem elektronischen Filter unterdrückten. Im Zusammenhang mit der Anwendung des FID in der SFC gilt es ganz speziell auf die beiden ausgezeichneten Arbeiten von *Chester et al.* (99, 101) hinzuweisen. Er verwendete zur Entspannung Fused-Silica-Kapillaren (14  $\mu\text{m}$ ), die zur Verminderung des Innendurchmessers in einer Flamme ausgezogen wurden. Ein Roboter ermöglichte die Reproduzierbarkeit dieses Vorganges. Gemäss *Chester* gilt es, bei der Anwendung von Flammenionisationsdetektoren in der SFC folgende Punkte zu beachten: Besteht ein Kondensationsproblem, so sollte einerseits der Druck durch Ausziehen der Kapillare möglichst lange hoch gehalten werden, andererseits ist der Restriktion möglichst viel Wärme zuzuführen, was man durch Heizen des Detektorblocks (400 °C) und erhöhte Säulentemperatur erreicht.

### Massenspektrometer

In einem Massenspektrometer (MS) werden die Probenmoleküle ionisiert, die Ionen in einem Analysator nach Massen getrennt und dann registriert. Das MS darf wegen seines hohen Informationsgehalts und seines äusserst geringen Substanzbedarfs (pg) als idealer Detektor der Chromatographie bezeichnet werden. Kritisch ist jedoch die Kopplung zwischen der Trennsäule und dem unter Hochvakuum arbeitenden Massenspektrometer. In der HPLC erfordern die grossen Volumenströme entweder die Abscheidung des Lösungsmittels oder sehr hohe Pumpenkapazitäten. Mit Kapillarsäulen und überkritischen Gasen als fluider Phase sind einerseits die Volumenströme viel kleiner, andererseits ist die Gefahr der Clusterbildung bei der Entspannung wegen der grösseren Flüchtigkeit von überkritischen Fluiden viel geringer als mit Flüssigkeiten.

Als erste erkannten *Randall* und *Wahrhaftig* (102) im Jahre 1981 die Vorteile der Kopplung zwischen SFC und Massenspektrometrie. Ihr für gepackte Säulen ausgelegtes, komplexes Gerät wies jedoch kleine Empfindlichkeiten auf, und die Massenspektren waren nur schwer zu interpretieren. Wie *Smith et al.* (103, 104) im Jahre 1982 darlegten, gestaltet sich die Kopplung zwischen Kapillarfluidchromatographie und MS viel einfacher: Sie kann auf dieselbe Weise wie jene mit dem Flammenionisationsdetektor vorgenommen werden, wobei sich wiederum in einer Flamme ausgezogene, beheizte Fused-Silica-Kapillaren am besten bewährt haben (105). Zudem genügt bei

den kleinen volumetrischen Flussraten (1–10  $\mu\text{l/min}$ ) in Kapillarsäulen die Kapazität der herkömmlichen GC/MS-Pumpen. Wurden zu Beginn nur Massenspektrometer mit chemischer Ionisation verwendet, so zeigte es sich in der Zwischenzeit, dass die Kopplung zu Massenspektrometern mit Elektronenstoss-Ionisation ebenfalls möglich ist (106). Die Empfindlichkeit nimmt zwar im Vergleich zur chemischen Ionisation etwas ab, es stehen jedoch zur Identifikation von Verbindungen umfassende Bibliotheken von EI-Spektren (Electron Impact) zur Verfügung.

### Infrarot-Spektrometer

Das Infrarotspektrometer misst die Absorption einer Probe im Infrarotbereich (2.5–50  $\mu\text{m}$ ). Erlaubt das MS die Bestimmung der Molekularmasse, so lässt die Infrarot-Spektrometrie eine Aussage über die in einem Molekül vorhandenen funktionellen Gruppen zu. Diese beiden Methoden ergänzen sich deshalb in idealer Art und Weise. Im Gegensatz zur Massenspektrometrie steht die Anwendung des Infrarot-Spektrometers als Detektor noch in ihren Anfängen: Die Nachweisgrenzen sind trotz der Entwicklung der Fourier-Transform-Infrarot-Spektrometrie (FTIR) relativ hoch ( $\mu\text{g}$ ) und verunmöglichen das Arbeiten mit Kapillarsäulen mit kleinen Innendurchmessern. Nachteilig ist auch der hohe Preis solcher Geräte sowie das heutige Fehlen an umfassenden Bibliotheken von IR-Spektren.

Als erste berichteten *Shafer* und *Griffiths* (107) von der direkten Kopplung der SFC mit der FTIR: Ihre Durchflusszelle hatte ein Volumen von 8  $\mu\text{l}$ . Sie benötigten zur eindeutigen Identifikation Probenmengen im Mikrogrammbereich. Schwierigkeiten bot die druckabhängige Absorption der meisten überkritischen Gase. Auch mit einer verbesserten Durchflusszelle (1  $\mu\text{l}$ ) (108) und mit Xenon (109) als ideal lichtdurchlässigem Lösungsmittel gelang es nicht, die Empfindlichkeit wesentlich zu erhöhen. *Jordan et al.* (110) diskutierten verschiedene Konstruktionen von Durchflusszellen und benutzten ausser Kohlendioxid auch Freon 23 als fluide Phase.

Entfernt man die mobile Phase vor der Detektion, so erhält man Infrarotspektren, die frei von Interferenz mit Lösungsmitteln sind. *Fujimoto et al.* (111) berichten von der erfolgreichen Anwendung der "Buffer-Memory-Technik" (die Probensubstanzen werden für die Infrarot-Spektrometrie auf einer Kaliumbromidplatte angereichert). Sie erreichten ebenfalls Nachweisgrenzen im Mikrogrammbereich. Eine wesentliche Verbesserung der Empfindlichkeit (50 ng) gelangen *Shafer et al.* (112, 113) mit der "Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared" Spektrometrie (die eluierte Probe wird auf einem Kaliumbromidpulver angehäuft).

### Fluoreszenzdetektoren

Die Probe wird mit einem Lichtbündel bestimmter Intensität und Wellenlänge bestrahlt und angeregt. Fluoreszierende Probenkomponenten senden dann eine Strahlung grösserer Wellenlänge aus, die sich messen lässt. Der Fluoreszenzdetektor zeichnet sich durch seine niedrige Nachweisgrenze (1 pg) und seine hohe Selektivität aus. Leider zeigen nur wenige Substanzklassen nach Anregung Fluoreszenz.

*Fjeldsted et al.* (114) entwickelten einen Fluoreszenzdetektor für die Fluidchromatographie mit einem Zellvolumen von 100 nl und einer Nachweisgrenze von 1 pg. Dieser Detektor ermöglichte die Aufnahme des gesamten Fluoreszenzspektrums, und seine Empfindlichkeit wurde durch Verflüssigung der fluiden Phase vor dem Eintritt in den Detektor noch verbessert (115). Auch *Springston* (91) berichtet über die Anwendung des Fluoreszenzdetektors in der Fluidchromatographie: Ähnlich wie beim UV-Detektor verwendete er direkt den letzten Teil der Kapillarsäule als Detektorzelle.

### Weitere mögliche Detektionssysteme

*Bartmann* (116) benutzte im Jahre 1972 einen Wärmeleitfähigkeitsdetektor. Dieser Detektor scheint jedoch wegen der hohen Wärmeleitfähigkeit der meisten fluiden Phasen nicht besonders für die SFC geeignet zu sein.



Cashaw et al. (117) entwickelten einen Mikroadsorptionsdetektor für die Fluidchromatographie, wobei auch dieser Detektor wegen seines grossen Zellvolumens (4.5 ml) und seiner Komplexität keine weitere Anwendung fand.

Differentialrefraktometer wären wegen ihrer Universalität sehr interessant, doch ergeben sich infolge der grossen Temperaturabhängigkeit des Brechungsindex Probleme mit der Grundlinienstabilität (62).

Fjeldsted et al. (100) benutzten den Thermoionischen Detektor (NPD) zum selektiven Nachweis von stickstoff- und phosphorhaltigen Verbindungen. Ausser dem thermoionischen Detektor sollte auch die Anwendung des Flammenphotometrischen Detektors möglich sein.

Ein weiteres aus der Gaschromatographie bekanntes sehr empfindliches Detektionsprinzip ist die Photoionisation. Mit einer im betreffenden Wellenlängenbereich (90–130 nm) transparenten fluiden Phase könnte unter hohen Drucken gearbeitet werden, und es entfielen somit die Probleme der Entspannung (122).

Eine besonders interessante Möglichkeit scheint die Anwendung von thermo-optischen Absorptionsmessungen. Leach und Harris (118) zeigten, dass diese Geräte mit überkritischen Fluiden eine hundertmal grössere Empfindlichkeit aufweisen.

#### Druckverminderer

Um ein vorzeitiges Ausfallen der Probensubstanzen zu verhindern, sollte die fluide Phase, wenn immer möglich, erst nach der Detektion entspannt werden. Trotzdem erfordern einige sehr leistungsfähige Detektoren (FID, MS) eine vorhergehende Druckverminderung (siehe entsprechende Abschnitte). Zur Entspannung nach der Detektion benutzt man mit gepackten Säulen hauptsächlich Rückdruckverminderer. Sie erlauben auf relativ einfache Weise die Konstanthaltung des Druckes am Detektorausgang (94). Kapillarsäulen lassen wegen den mit ihnen verbundenen kleinen volumetrischen Flüssen weder Rückdruckregler noch Mikrohähnen zu. Hier am besten bewährt haben sich Kapillaren mit sehr kleinen Innendurchmessern (10–50 µm) (91). Es gilt zu beachten, dass die Wahl der Restriktion die Flussrate in der Kapillarsäule und diese wiederum die Trennleistung stark beeinflusst (siehe Kapitel "Flussrate"). Die Flussrate kann durch Variation der Länge sowie der Temperatur der Restriktion oder aber, und dies scheint die weit elegantere und flexiblere Methode zu sein, durch Anlegen eines Gegendruckes angepasst werden (74).

#### Schlussfolgerung und Ausblick

Die bisher durchgeführten Untersuchungen auf dem Gebiet der Fluidchromatographie führten zu einem grundlegenden Verständnis des Trennvorganges sowie zur Entwicklung einiger wichtiger apparativer Einzelteile. Die SFC weist gegenüber der Gas- und Flüssigchromatographie bedeutende Vorteile zur Trennung von schwer flüchtigen und thermisch labilen Substanzen auf. Es sind hauptsächlich technische Schwierigkeiten, die eine rasche Verbreitung dieses sehr vielversprechenden Analyseverfahrens vorläufig noch vermindern. Als schwachster Punkt der Fluidchromatographie muss immer noch die Detektion bezeichnet werden. Da kein kommerziell erhältlicher Detektor direkt in der SFC verwendet werden kann, ist man gezwungen, die notwendigen Anpassungen selbst vorzunehmen. Besondere Schwierigkeiten bieten sich noch beim Arbeiten mit Kapillarsäulen: Es fehlen Injizierungstechniken, die die Aufgabe von relativ verdünnten Proben erlauben. Eine zum "cold-trapping" der Gaschromatographie analoge Technik bestände darin, die Probenmoleküle direkt am Anfang der Trennsäule in einer erwärmten Zone zu konzentrieren ("thermo-trapping"). Erwünscht wären auch kommerziell erhältliche Kapillarsäulen mit kleineren Innendurchmessern, jedoch zur Erhöhung der Belastbarkeit, mit dickeren, chemisch gebundenen stationären Phasen (J & W Scientific, Rancho Cordova, CA (USA) bieten speziell für die Fluidchromatographie hergestellte Kapillarsäulen mit kleinen Innendurchmessern an).

Da die Schwierigkeiten bei der Anwendung der SFC schon mit

den heute existierenden technischen Möglichkeiten gelöst werden können und dieses neue Chromatographieverfahren immer grösseres Interesse unter den Analytikern findet, wie die zunehmende Anzahl von Veröffentlichungen belegt, dürfte die Fluidchromatographie schon in naher Zukunft einen wichtigen Platz unter den Analysemethoden einnehmen.

#### Literatur

- (41) Tsvet, M., Trav. Soc. Nat. Warsovic, 14 (1903).
- (42) James, A.T. und Martin, A.J.P., Analyst, 77, 915 (1952).
- (43) Huber, J.F.K., J. Chromatogr. Sci., 7, 85 (1969).
- (44) Kirkland, J.J., J. Chromatogr. Sci., 7, 7 (1969).
- (44a) Gmür, W., Bosset, J.O. und Plattner, E., Lebensmittel-Wiss. u. -Technol. (Im Druck)
- (45) Klesper, E., Corwin, A.H. und Turner, D.A., J. Org. Chem., 27, 701 (1962).
- (46) Novotny, M., Springston, S.R., Peaden, P.A., Fjeldsted, J.C. und Lee, M.L., Anal. Chem., 53, 407 A – 414 A (1981).
- (47) Sie, S.T., van Beersum, W. und Rijnders, G.W.A., Sep. Sci., 1, 459 (1966).
- (48) Sie, S.T. und Rijnders, G.W.A., Sep. Sci., 2, 699 (1967).
- (49) Sie, S.T. und Rijnders, G.W.A., Sep. Sci., 2, 729 (1967).
- (50) Sie, S.T. und Rijnders, G.W.A., Sep. Sci., 2, 755 (1967).
- (51) Giddings, J.C., Myers, M.N. und King, J.W., J. Chromatogr. Sci., 276 (1969).
- (52) Myers, M.N. und Giddings, J.C., Prog. Sep. Purif., 3, 133 (1970).
- (53) Karayannis, N.M., Anal. Chem., 1, 43–83 (1971).
- (54) Gouw, T.H. und Jentoft, R.E., J. Chromatogr., 68, 303–323 (1972).
- (55) Gouw, T.H. und Jentoft, R.E., Chromatogr. Sci. (Chromatogr. Pet. Anal.), 11, 313 (1979).
- (56) Klesper, E., Angew. Chemie Int. Ed. Engl., 17, 738–746 (1978).
- (57) van Wasen U., Swaid, I. und Schneider, G.M., Angew. Chemie Int. Ed. Engl., 19, 575 (1980).
- (58) Peaden, P.A. und Lee, M.C., J. Liquid Chromatogr., 5, 179–221 (1982).
- (59) Randall, G.L. und Bowman, M.L., Sep. Sci. and Technol., 17, 1–288 (1982).
- (60) Fjeldsted, J.C. und Lee, M.L., Anal. Chem., 56, 619 A – 628 A (1984).
- (61) Novotny, M., J. Chromatogr. Libr. Microcolumn Sep., 30, 105–120 (1985).
- (62) Asche, W., Chromatographia, 11, 411–412 (1978).
- (63) Sie, S.T. und Rijnders, W.A., Anal. Chim. Acta., 38, 61 (1967).
- (64) Board, R., McManigill, D., Weaver, H. und Gere, D., Presented at 1982 Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry, Hewlett-Packard Company, Avondale.
- (65) Smith, R.D., Chapman, E.G. und Wright, B.W., Anal. Chem., 57, 2829–2836 (1985).
- (66) Fjeldsted, J.C., Jackson, W.P., Peaden, P.A. und Lee, M.L., J. Chromatogr. Sci., 21, 222–225 (1983).
- (67) Graham, J.A., Rogers, L.B., J. Chromatogr. Sci., 18, 75 – 84 (1980).
- (68) Chester, T.L. und Innis, D.P., J. High Resolut. Chromatogr. & Chromatogr. Commun. 8, 561–566 (1985).
- (69) Gere, D., Board, R. und McManigill, D., Presented at 1982 Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry, Hewlett-Packard Company, Avondale.
- (70) Fields, S.M., Kong, R.C., Fjeldsted, J.C., Lee, M.L. und Peaden, P.A., J. High Resolut. Chromatogr. & Chromatogr. Commun., 7, 312–318 (1984).
- (71) Grob, K., J. High Resolut. Chromatogr. & Chromatogr. Commun., 6, 178–184 (1983).
- (72) Lenten van, F.J. und Rothman, D.L., Anal. Chem., 48, 1430–1432 (1976).



- (73) Gere, D.R., Application Note AN 800-2/Hewlett-Packard Company, Avondale.
- (74) Peaden, P.A., Fjeldsted, J.C., Lee, M.L., Springston, S.R. und Novotny, M., Anal. Chem., 54, 1090–1093 (1982).
- (75) van Wasen, U., Dissertation, Universität Bochum, 1978.
- (76) Greibrokk, T., Blilie, A.L., Jobansen, E.J. und Lundanes, E., Anal. Chem., 56, 2681–2684 (1984).
- (77) Bartmann, D., Dissertation, Universität Bochum, 1972.
- (78) Bartmann, D., Ber. Bunsenges. Phys. Chem., 76, 336 (1972).
- (79) Gouw, T.H. und Jentoft, R.E., Adv. Chromatogr. 13, (1975).
- (80) Andronikashvili, T.G., Berezkin, V.G., Laperashvili, L. Y. und Nadiradze, N.A., J. Chromatogr., 288, 95–103 (1984).
- (81) Ecknig, W. und Polster, H.-J., Chem. Techn., 31, 89–91 (1979).
- (82) Gere, R.D., Board, R. und McManigill, D., Anal. Chem., 54, 736–740 (1982).
- (83) Hirata, Y., J. Chromatogr., 315, 39–44 (1984).
- (84) Hirata, Y. und Nakata, F., J. Chromatogr., 295, 315–322 (1984).
- (85) Takeuchi, T. und Ishii, D., J. Chromatogr., 295, 323–331 (1984).
- (86) Kong, C.R., Fields, S.M., Jackson, W.P. und Lee, M.L., J. Chromatogr., 289, 105–116 (1984).
- (87) Springston, S.R., Melda, K. und Novotny, M.V., J. Chromatogr., 267, 395–398 (1983).
- (88) Kong, R.C., Woolley, C.L., Fields, S.M. und Lee, M.L., Chromatographia, 18, 362–366 (1984).
- (89) Kuci, J.C., Tarbet, B.J., Jackson, W.P., Bradshaw, J.S., Machides, K.E. und Lee, M.L., Chromatographia, 20, 25–30 (1985).
- (90) Fields, S.M., Kong, R.C., Lee, M.L. und Peaden, P.A., J. High Resolut. Chromatogr. & Chromatogr. Commun., 7, 423–428 (1984).
- (91) Springston, S.R., Ph.D. Thesis, Indiana University 1984.
- (92) Jentoft, R.E. und Gouw, T.H., Anal. Chem., 44, 681–686 (1972).
- (93) Klesper, E. und Hartmann, W., J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed., 15, 9 (1977).
- (94) McManigill, D., Board, R., und Gere, D., Presented at 1982 Pittsburg Conference on Analytical Chemistry, Hewlett-Packard Company, Avondale.
- (95) Blu, G., Lazzare, F. und Guicchon, G., Anal. Chem., 45, 1375–1380 (1973).
- (96) Vitzthum, O., Deutsches Patentamt, Patentschrift 21 59 339, Ausgabetag 13.11.75.
- (97) Rawdon, M.G., Anal. Chem., 56, 831–832 (1984).
- (98) Lundanes, E., J. Chromatogr., 349, 439–446 (1985).
- (99) Chester, T.L., J. Chromatogr., 299, 424–431 (1984).
- (100) Fjeldsted, J.C., Kong, R.C. und Lee, M.L., J. Chromatogr., 279, 449–455 (1983).
- (101) Chester, T.L., Innis, D.P. und Owens, G.D., Anal. Chem., 57, 2243–2247 (1985).
- (102) Randall, L.G. und Wahrhaftig, A.L., Rev. Sci. Instrum., 52, 1283–1295 (1981).
- (103) Smith, R.D., Felix, W.D., Fjeldsted, J.C. und Lee, M.L., Anal. Chem., 54, 1883–1885 (1982).
- (104) Smith, R.D., Fjeldsted, J.C. und Lee, M.L., J. Chromatogr., 247, 231–243 (1982).
- (105) Smith, R.D., Kalinoski, H.T., Udseth, H.R. und Wright, B. W., Anal. Chem., 56, 2476–2480 (1984).
- (106) Smith, R.D., Udseth, H.R. und Kalinoski, H.T., Anal. Chem., 56, 2973–2974 (1984).
- (107) Shafer, K.H. und Griffiths, P.R., Anal. Chem., 55, 1939–1942 (1983).
- (108) Olesik, S.V., French, S.B. und Novotny, M., Chromatographia, 18, 489–495 (1984).
- (109) French, S.B. und Novotny, M., Anal. Chem., 58, 164–166 (1986).
- (110) Jordan, J.W., Skelton, R.J. und Taylor, L.T., Prepr. Pap., Am. Chem. Soc., Div. Fuel Chem., 30, 154–160 (1980).
- (111) Fujimoto, C., Hirata, Y. und Kiyokatsu, J., J. Chromatogr., 332, 47–56 (1985).
- (112) Shafer, K.H., Pentoney, S.L. Jr. und Griffiths, P.R., J. High Resolut. Chromatogr. & Chromatogr. Commun., 7, 707–709 (1984).
- (113) Shafer, K.H., Pentoney, S.L. und Griffiths, P.R., Anal. Chem., 58, 58–64 (1986).
- (114) Fjeldsted, J.C., Richter, B.E., Jackson, W.P. und Lee, M.L., J. Chromatogr., 279, 423–430 (1983).
- (115) Fjeldsted, J.C. und Lee, M.L., Anal. Chem., 56, 619 A – 628 A (1984).
- (116) Bartmann, D., Dissertation, Universität Bochum, 1972.
- (117) Casbaw, J.L., Segura, R. und Zlatkis, A., J. Chromatogr. Sci., 8, 363–369 (1970).
- (118) Leach, R.A. und Harris, J.M., Anal. Chem., 56, 1481–1487 (1984).
- (119) Fields, S.M. und Lee, M.L., J. Chromatogr., 349, 305–316 (1985).
- (120) Springston, S.R. und Novotny, M., Chromatographia, 14, 679–684 (1981).
- (121) Gmuer, W., Bosset, J.O. und Plattner, E., Lebensm.-Wiss. u. -Technol., im Druck.
- (122) Gmür, W., Bosset, J.O. und Plattner, E., Chromatographia (1987, im Druck).
- (123) Haervey, M.C., Stearns, S.D. und Averette, J.P., Liquid Chromatography, 3, (1985).