

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
30. November 2006 (30.11.2006)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2006/125564 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:

**B01D 15/08** (2006.01)    **B01J 47/00** (2006.01)  
**G01N 30/60** (2006.01)    **B01D 57/02** (2006.01)  
**G01N 30/02** (2006.01)    **G01N 27/00** (2006.01)

(74) **Anwalt:** MAMMEL, Ulrike; Mammel und Maser,  
Tilsiter Strasse 3, 71065 Sindelfingen (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2006/004744

(22) Internationales Anmeldedatum:  
18. Mai 2006 (18.05.2006)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
10 2005 024 154.9    23. Mai 2005 (23.05.2005)    DE

(81) **Bestimmungsstaaten** (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(71) **Anmelder** (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): **BISCHOFF ANALYSENTECHNIK UND -GERÄTE GMBH** [DE/DE]; Böblinger Strasse 23, 71229 Leonberg (DE).

(84) **Bestimmungsstaaten** (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) **Erfinder; und**

(75) **Erfinder/Anmelder** (*nur für US*): **BISCHOFF, Klaus** [DE/DE]; Tuttlinger Strasse 9, 71229 Leonberg (DE). **NYIREDY, Sz** [HU/HU]; c/o Research Institute for Medical Plants, Lupaszigeti St.4, H-2011 Budakalasz (HU). **SZÜCS, Zoltan** [HU/HU]; c/o Research Institute for Medical Plants, Lupaszigeti St.4, H-2011 Budakalasz (HU).

**Veröffentlicht:**

— *ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts*

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

(54) **Title:** ELEMENTS FOR SEPARATING SUBSTANCES BY DISTRIBUTING BETWEEN A STATIONARY AND A MOBILE PHASE, AND METHOD FOR THE PRODUCTION OF A SEPARATING DEVICE

(54) **Bezeichnung:** ELEMENTE ZUR TRENNUNG VON SUBSTANZEN DURCH VERTEILUNG ZWISCHEN EINER STATIONÄREN UND EINER MOBILEN PHASE UND VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG EINER TRENNVORRICHTUNG

(57) **Abstract:** The invention relates to elements for separating substances by distributing between a stationary and a mobile phase. Said separating elements comprise any stationary phase and a support element. The separating elements are part of a set that is provided with at least two separating elements  $T_i$  ( $i = 2$ ) encompassing different stationary phases  $S_i$  ( $i = 2$ ). The set comprises at least three pieces of each type of separating element  $T_i$  with a specific stationary phase  $S_i$ . The separating elements can be coupled to each other or interconnected in another manner so as to form a separating device. The invention further relates to a method for producing an optimized device for separating substance mixtures.

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft Elemente zur Trennung von Substanzen durch Verteilung zwischen einer stationären und einer mobilen Phase, welche Trennelemente eine beliebige stationäre Phase und ein Trägerelement umfassen, wobei die Trennelemente Teil eines Sets sind, wobei das Set wenigstens zwei Trennelemente  $T_i$  ( $i \geq 2$ ), die unterschiedliche stationäre Phasen  $S_i$  ( $i \geq 2$ ) umfassen, aufweist und das Set von jeder Art von Trennelement  $T_i$  mit einer bestimmten stationären Phase  $S_i$  wenigstens drei Stück umfasst, und die Trennelemente dazu vorgesehen sind, miteinander zu einer Trennvorrichtung gekoppelt oder auf sonstige Weise verbunden zu werden. Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Herstellung einer optimierten Vorrichtung zur Trennung von Substanzgemischen.

WO 2006/125564 A2

**Elemente zur Trennung von Substanzen durch Verteilung  
zwischen einer stationären und einer mobilen Phase und  
Verfahren zur Herstellung einer Trennvorrichtung**

- Die vorliegende Erfindung betrifft Elemente zur Trennung von Substanzen durch Verteilung zwischen einer stationären und einer mobilen Phase, insbesondere für die Chromatographie, sowie ein Verfahren zur Herstellung der die stationäre Phase umfassenden Trennvorrichtung, insbesondere einer chromatographischen Säule.

Chromatographie ist ein physikalisch-chemisches Trennverfahren, bei dem die zu trennenden Substanzen zwischen zwei Phasen verteilt werden, von denen eine, die stationäre Phase, festliegt, während die andere, mobile Phase sich in eine bestimmte Richtung bewegt.

Die stationäre Phase ist eine der beiden Phasen, aus denen das chromatographische System besteht. Als stationäre Phase kann eine feste Phase

(Sorbens), eine flüssige Phase (Trennflüssigkeit) oder ein Gel eingesetzt werden. Im Falle der flüssigen Phase ist diese auf einem Festkörper (Träger) aufgezogen, der auch am Trennprozess mitbeteiligt sein kann. Bei einer gebundenen Phase ist die trennwirksame Schicht chemisch an einen Träger oder an die Innenseite einer Kapillare gebunden.

Die stationären Phasen im Rahmen der vorliegenden Erfindung schließen auch die quasistationären Phasen bei der Liquid-Liquid-Chromatographie mit ein.

Um bei einer chromatographischen Trennung die Trennsäule gegen Verunreinigungen zu schützen, wird der Trennsäule teilweise eine Vorsäule vorgeschaltet. Die Vorsäule ist im Allgemeinen mit derselben stationären Phase wie die Trennsäule gefüllt, oder es wird ein Material mit einer geringeren Retention verwendet.

Bei der isokratischen Analyse bleibt die Zusammensetzung der mobilen Phase während des gesamten Elutionsvorgangs konstant.

Im Gegensatz dazu wird bei der Gradientenelution die Zusammensetzung der mobilen Phase kontinuierlich oder auch stufenweise (Stufengradient) geändert.

In der Praxis werden Substanzen unterschiedlicher Polaritäten chromatographisch über einen weiten Polaritätsbereich häufig mittels Gradientenelution getrennt, da hierdurch eine selektive Trennung erreicht werden kann. Hierbei wird zu einer anfänglich zumeist unpolaren mobilen Phase kontinuierlich oder stufenförmig eine polarere mobile Phase zugemischt (Normalphasenchromatographie) oder einer polareren mobilen Phase wird eine weniger polare zugemischt (Umkehrphasenchromatographie oder Reversed Phase Chromatographie).

Zur Bildung der mobilen Phase mittels Gradient sind Chromatographen für die Gradientenelution mit wenigstens zwei Pumpen für die verschiedenen Lösemittel oder zumindest ein Niederdruckmischer sowie Software zur Kontrolle notwendig. Die Robustheit der Gradiententrennung ist immer schlechter als die bei isokratischen Trennungen.

Ein weiterer Nachteil der Gradientenelution besteht darin, dass nach einer Elution mit z.B. einem zunehmend polarerem Lösemittelgemisch das chromatographische System in Bezug auf die bei der nächsten Elution anfänglich unpolare mobile Phase wieder in das thermodynamische Ausgangsgleichgewicht gebracht werden muss, und zwar durch umfangreiches Spülen mit der in diesem Beispiel unpolaren Phase, bevor die Säule für die nächste Gradientenelution verwendet werden kann. Das Rückspülen erfolgt im Allgemeinen mit dem Fünfzehn- bis Zwanzigfachen des Säulenvolumens und führt zu einer Verlängerung der gesamten Zykluszeit und einem erheblichen Verbrauch von Lösemitteln.

Der Trennung gerade einer großen Anzahl von zu überprüfender und zu trennender Proben durch Gradientenelution, beispielsweise bei der Qualitätskontrolle, steht somit nachteilig die verlängerte gesamte Zykluszeit gegenüber, wobei gerade für Routineuntersuchungen einer Vielzahl von Proben die Zeit pro Analyse bei guter Trennung aus wirtschaftlichen Gründen selbstverständlich so gering wie möglich sein sollte.

Ein weiterer Nachteil der Gradientenelution besteht darin, dass die sich hierbei ändernde Zusammensetzung der mobilen Phase den Einsatz bestimmter Detektionsprinzipien nicht zulässt. So scheidet z.B. der Einsatz von Detektoren, die auf der Messung des Brechungsindex beruhen, bei einer sich ändernden Zusammensetzung der mobilen Phase prinzipiell aus.

Selbst die meisten benutzten UV/VIS Detektoren werden in der Gradientenelution durch eine Vielzahl von zugemischten Lösemitteln und Additiven wie z.B. Methanol, THF, TFA, Ameisensäure, Essigsäure etc., die im unteren UV-Bereich < 230 nm selbst stark absorbieren, in ihrem Einsatzbereich erheblich eingeschränkt.

Auch bei den in jüngster Zeit als universelle Detektoren eingesetzten Massenspektrometern treten bei der Gradientenelution Sekundäreffekte wie z.B. Probleme der Ionisierung in unterschiedlicher chemischer Umgebung auf, wodurch die quantitative Analyse erheblich erschwert wird.

Nicht zuletzt stehen der Trennung der Substanzen mittels Gradientenelution auch ökologische Nachteile gegenüber: die nach einer Elution als

Gemisch anfallende mobile Phase ist nicht oder nur schwer wiederzuverwerten, so dass das Lösemittelgemisch kostenpflichtig entsorgt werden muss und zudem noch Kosten für die Bereitstellung der (neuen) Lösemittel für die Bildung des Gradienten anfallen. Ferner müssen bei der Gradientelution wesentlich teurere und reinere Lösemittel verwendet werden als im isokratischen Fall.

Darüber hinaus fallen nicht unerhebliche Lösemittelmengen durch das Rückspülen der Trennsäule an, die nicht wieder verwertbar sind.

Wenn der Anwender in der Praxis auch im Rahmen von Vorversuchen zunächst aus Säulen mit verschiedenen stationären Phasen die Säule mit der am besten geeigneten stationären Phase entwickelt (solche Säulen werden als Versuchssäulen angeboten), erfolgt die Optimierung der Trennmethode in der Praxis letztendlich durch Optimierung der mobilen Phase, nämlich durch die Auswahl der Art der Lösemittel, des pH-Werts der mobilen Phase, durch weitere Zusätze etc., die dann zu der verbesserten Trennung führen.

Einfacher ist es jedoch, bestimmte Selektivitäten über die geschickte Auswahl der richtigen stationären Phase zu erreichen. Häufig tritt hierbei jedoch die Situation auf, dass – sobald eine Trennung zwischen einem bestimmten kritischen Peakpaar gelingt – an einer anderen Stelle des Chromatogramms ein anderes Peakpaar zu einem Peak zusammenfällt.

Um dies zu verhindern wurde vorgeschlagen, als stationäre Phase ein Gemisch geeigneter stationärer Phasen (Mischbett) einzusetzen, wodurch für ein spezifisches Trennproblem bei isokratischer Analyse häufig eine selektive Trennung erreicht werden kann.

Von G.J. Eppert und P. Heitmann wurde in LC.GC Europe, S. 2, Oktober 2003 eine Optimierung von Mischbettsäulen vorgeschlagen, die darauf beruht, zunächst anhand von drei oder vier Testsäulen unterschiedlicher Selektivität die Retentionszeiten eines zu untersuchenden Substanzgemischs zu bestimmen und anschließend dann eine für das spezifische Trennproblem geeignete Mischbettsäule zu berechnen.

Nachteilig bei diesen stationären Phasen als Mischbett ist jedoch, dass der Hersteller der Säulen bei jedem neuen Trennproblem mit dem Packen einer entsprechenden Mischbett-Säule beauftragt werden muss. Kurzfristig hat der Anwender somit keine Möglichkeit, mit der gewünschten Selektivität eine isokratische Analyse vorzunehmen. Ein Packen der Säule durch den Anwender ist nicht möglich, da die hierfür erforderlichen Geräte beim Anwender nicht vorhanden sind und das diesbezügliche Know-how fehlt. Ferner ist es auch relativ schwierig, ein Mischbett reproduzierbar gut in eine Trennsäule zu packen.

Aus der multidimensionalen Chromatographie ist bekannt, von einer Hauptsäule abzweigende, zeitabhängig ankoppelbare Säulen vorzusehen, wobei einzelne Fraktionen von der Hauptsäule an einem bestimmten Zeitpunkt über die dann temporär angekoppelte Säule „abgezweigt“ werden. Letztendlich erfolgt die Trennung des Gemisches bei der multidimensionalen Chromatographie nur zu einem gewissen Anteil an der stationären Phase der Trennvorrichtung, und die wesentliche Trennung wird durch Schalten in eine zusätzliche Trennvorrichtung mit einer zusätzlichen Eluentenförderung erreicht.

Wenn mit der multidimensionalen Chromatographie auch gute Trennungen erzielt werden können, so ist diese doch sehr aufwändig, störanfällig und für Routinemessungen nur unter sehr großem Kostenaufwand geeignet.

Zur Lösung spezieller Trennprobleme wie der Trennung eines 20 Komponenten umfassenden Aminosäuren-Gemischs wurde von J. L. Glajch et al. in „Journal of Chromatography“, 318 (1985), Seite 23 vorgeschlagen, die Selektivität dadurch zu verbessern, dass neben vier mobilen Phasen auch stationäre Phasen kombiniert werden. Jedoch erfolgte dieser Ansatz aus rein empirischen Versuchen heraus und ist daher nicht gezielt berechnet.

Zur Optimierung der mobilen Phase bei der Flüssigkeitschromatographie wurde von Sz. Nyiredy, B. Meier, C. A. J. Erdelmeier, O. Sticher in „High Resolution Chromatogr. & Chromatogr. Communications“ 8, (1985) das sogenannte „Prisma“-Modell vorgeschlagen. Hierbei wird die Lösemittelstärke vertikal und die zweidimensionale Darstellung der Anteile der

Komponenten, die hauptsächlich die Selektivität beeinflussen, in einer horizontalen Ebene aufgetragen.

Später wurde in der Säulenflüssigkeitschromatographie aus fünfzehn einzelnen Messung das gesamte Optimum der mobilen Phase und aus zwölf einzelnen Messungen das lokale Optimum der mobilen Phase vorausgesagt (Sz. Nyiredy, W. Wosniok, H. Thiele, O. Sticher „Fluid Chromatogr.“ 14, 3077 (1991)).

Ebenfalls wurde dieses Modell auch auf die Optimierung der Extraktionsmittel in der flüssig-flüssig-Extraktion angewandt, wobei hier optimierte Extraktionsmittel aus zwölf Messwerten ermittelt werden konnten (Sz. Nyiredy „Chromatographia“ 51, 288 (2000)).

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren anzugeben, mit der ein chromatographisches Trennproblem bei optimaler Selektivität und Detektierbarkeit schnell, effizient und umweltfreundlich gelöst werden kann.

Diese Aufgabe wird durch die Merkmale des Anspruchs 1 und 15 gelöst.

Erfindungsgemäß wird ein Set von verschiedenen Trennelementen bereitgestellt, aus denen eine Trennvorrichtung mit unterschiedlichen stationären Phasen aufbaubar ist, wobei der Aufbau durch Kopplung oder Verbindung von verschiedenen Trennelementen miteinander erfolgt.

Ein solches erfindungsgemäßes Set umfasst Trennelemente unterschiedlicher stationärer Phasen  $S_i$  ( $i \geq 2$ ) und von jeder dieser unterschiedliche stationäre Phasen  $S_i$  enthaltenden Trennelementen wenigstens drei Stück, die miteinander koppel- oder verbindbar sind.

Die Kopplung oder Verbindung erfolgt dabei durch Kopplung oder Verbindung der Trennelemente als solcher, insbesondere Kopplung der Trägerelemente, die zusammen mit der jeweiligen stationären Phase das Trennelement bilden. Beispielsweise kann eine Kopplung von Säulensegmenten dadurch erfolgen, dass die Säulensegmente an ihren jeweiligen Rohrenden aneinandergesetzt werden.

Ebenfalls ist eine Kopplung der Trennelemente über zusätzliche Kopplungs- oder Verbindungsstücke möglich.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind zwei stationäre Phasen  $S_A$  und  $S_B$  dann verschieden, wenn sie sich voneinander durch ihre Selektivität unterscheiden.

Das Minimalset besteht somit aus jeweils drei Trennelementen bzw. Säulensegmenten  $S_A$  und jeweils drei Trennelementen bzw. Säulensegmenten  $S_B$ , wobei A und B stationäre Phasen unterschiedlicher Selektivität sind.

Bevorzugt besteht ein Set aus wenigstens drei unterschiedlichen stationären Phasen  $S_A$ ,  $S_B$  und  $S_C$  umfassenden Trennelementen oder Säulensegmenten, wobei von jedem dieser Arten von Trennelementen in dem Set 3, vorzugsweise wenigstens 5, bevorzugt wenigstens 7 und besonders bevorzugt jeweils 10 oder mehr Stück enthalten sind.

Die jeweiligen stationären Phasen sollten so ausgewählt werden, dass sie unterschiedliche physiochemische Eigenschaften besitzen.

Ein solches Set kann beispielsweise Trennelemente mit stationären Phasen, die gesättigte oder ungesättigte Alkylgruppen (C1, C2, C3, C4, C6, C8, C12, C14, C16, C18, C22, C27, C30), die mono-, poly- oder acyclisch, ali- oder heterocyclisch sein können, Nitro-, Cyano-, Carbonyl-, Carboxyl-, Hydroxyl-, Diol-, oder Thiolgruppen, Glycidoxy-Gruppen, ggf. verethert, Amino- oder chiralen Gruppen, Amidgruppen, Carbamate, Harnstoff, Perfluoralkylgruppen oder Perfluorarylgruppen und andere Halogenalkyl- und Halogenarylgruppen, Polybutadiengruppen oder andere organische Polymere, affinitätschromatographischen Modifizierungen oder ionenaustauschfähige Gruppen (Kationenaustauscher, Anionenaustauscher, Zwitterionen), nichtmodifizierte Trägermaterialien (z.B. Kieselgel), molekular geprägte Polymere (MIPs) oder deren Kombinationen z.B. multifunktionelle stationäre Phasen umfassen, enthalten, ggf. zusätzlich oder anstelle der zuvor genannten drei verschiedenen Arten von Trennelementen.

Im Gegensatz zu der multidimensionalen Chromatographie erfolgt die Trennung der Substanzen an der aufgrund der Optimierung gekoppelten oder verbundenen Trennvorrichtung bzw. Säule, d.h. die Komponenten des Gemisches durchqueren die gesamte Trennvorrichtung. Die miteinander gekoppelten Trennelemente bleiben wenigstens für eine gesamte Trennung miteinander verbunden, eine während des Trennvorgangs erfolgende An- oder Abkopplung, die von der multidimensionalen Chromatographie bekannt ist, erfolgt nicht.

Wesentlich ist weiterhin, dass das Verhältnis der stationären Phasen der aneinandergesetzten Trennvorrichtung zueinander veränderbar ist, denn die Trennvorrichtung kann wiederum in die einzelnen Trennelemente zerlegt und aus diesen eine Trennvorrichtung mit einem anderen Verhältnis der stationären Phasen zueinander und mit einer anderen Selektivität aufgebaut werden.

Im Gegensatz zu den bekannten Mischbettsäulen erfolgt der Aufbau der gewünschten Säule erfindungsgemäß durch mechanische Kupplung einzelner einsatzbereiter Trennelemente, und zwar im Allgemeinen dadurch, dass die Trägerelemente (z.B. Rohrstücke als Säulensegmente) miteinander verbunden oder gekoppelt werden. Hierdurch werden die weiterhin in den Trennelementen unverändert vorliegenden stationären Phasen nicht verändert, insbesondere nicht miteinander vermischt.

Im Gegensatz zur Herstellung vorausberechneter Mischbettsäulen, bei denen letztendlich der Säulenhersteller eine den spezifischen Kundenwünschen entsprechende Säule packt, das heißt, eine spezielle stationäre Phase herstellen und mischen muss, kann erfindungsgemäß der Benutzer vor Ort durch einfaches mechanisches Koppeln der erforderlichen Säulensegmente die gewünschte Trennvorrichtung herstellen.

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Herstellung einer optimierten Vorrichtung zur Trennung von Substanzgemischen.

Zunächst wird mit jeder der wenigstens zwei Arten von stationären Phasen  $S_i$  ( $i \geq 2$ ) eine Basismessung des zu trennenden Gemischs in einer festzulegenden mobilen Phase durchgeführt und der betreffende Retentionsfaktor  $k$  einer jeden Komponente mit

$$k = (t_R - t_M) / (t_M - t_M^{Ec}) \quad (1)$$

bestimmt ( $t_R$ : Retentionszeit,  $t_M$ : Durchflusszeit,  $t_M^{Ec}$ : Extracolumn-Volume-correction). Die Extra-Column-Volume-correction berücksichtigt den zeitlichen Beitrag durch das Volumen der Zuleitungen, des Injektors und der Detektorzelle. Es empfiehlt sich, die mobile Phase so festzulegen, dass die K-Werte zwischen der zuerst und der zuletzt zu eluierenden Substanzen im Bereich von 1 bis 20 liegen.

Die Basismessung sollte vorzugsweise an einer jeden Art von Trennelement (z.B.  $S_A$ ,  $S_B$ ,  $S_C$ ) oder an mehreren gleichartigen oder verschiedenen zusammengekoppelten Elementen (d.h. z.B. 10 gekoppelte Elemente  $S_A$  oder 5  $S_A$ , 3  $S_B$ , 2  $S_C$ ; 3  $S_A$ , 5  $S_B$ , 2  $S_C$  und 2  $S_A$ , 3  $S_B$ ; 5  $S_B$ ) erfolgen. Auch kann die Basismessung an einer gesonderten Basismessungssäule durchgeführt werden.

Aus den bestimmten k-Werten einer jeden zu trennenden Komponente und einer jeden Art von Trennelementen mit der stationären Phase  $S_i$  wird anschließend die optimierte Kombination von Trennelementen und deren Dimension für das spezifische Trennproblem berechnet und die optimierte Trennvorrichtung dann in der vorausberechneten Weise aus den Trennelementen der vorbestimmten Dimension gekoppelt oder auf sonstige Weise verbunden.

Unter der Dimension eines Trennelements wird das Volumen der jeweiligen stationären Phase in dem Trennelement verstanden. Bei Trennelementen mit einem konstanten Durchmesser ist die Dimension der Länge proportional. Weisen alle Trennelementen denselben Durchmesser und dieselbe Länge auf, ist die Dimension der Anzahl N der zu koppelnden Trennelemente proportional.

Die Berechnung der für das spezifische Trennproblem am meisten geeigneten Kombination der Trennelemente erfolgt vorteilhafterweise über das Prisma-Modell. Hierbei wird – vorzugsweise unter Vorgabe einer vorbestimmten Anzahl N von zu koppelnden Trennelementen – für eine jegliche mögliche Kombination von stationären Phasen und deren Dimension, insbesondere Anzahl von Trennelementen einer vorbestimmter Gesamtanzahl  $N = X + Y + Z$  von Trennelementen, aufgrund der mit der

Basismessung bestimmten Retentionsfaktoren  $k_i$  der jeweilige Retentionsfaktor der zu trennenden Komponente am Selektivitätspunkt XYZ, d.h. der Retentionsfaktor  $k_{xyz}$  der jeweiligen heterogenen Kombination der stationären Phasen  $S_i$

$$k_{xyz} = (X \cdot k_A + Y \cdot k_B + Z \cdot k_C) / (X + Y + Z) \quad (2)$$

berechnet, wobei X der Anzahl der Trennelemente  $S_A$ , Y der Anzahl der Trennelemente  $S_B$  und Z die jeweilige Anzahl der Trennelemente  $S_C$  entspricht.

Aus der Vielzahl der berechneten Kopplungsmöglichkeiten XYZ wird dann die Kopplung der Trennelemente oder Segmente mit der besten Selektivität  $\alpha$  mit

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} \quad (3)$$

oder mit der besten Auflösung  $R_S$  mit

$$R_S = 2 \cdot (t_{R2} - t_{R1}) / (W_{1/2 1} + W_{1/2 2}) \quad (4)$$

wobei  $t_{Ri}$  die Retentionszeit der jeweiligen Verbindung und  $W_{1/2 i}$  die Peakbreite in halber Höhe der jeweiligen Verbindung ist, bestimmt und die für dieses Trennproblem optimierte, aus N Trennelementen bestehende Trennvorrichtung, insbesondere Säule, dann aus den jeweiligen Elementen oder Säulensegmenten zusammengekoppelt.

Durch eine gezielt berechnete Kopplung der Trennelemente, insbesondere Säulensegmente, kann die stationäre Phase in Bezug auf das jeweilige Trennproblem optimiert werden, so dass es nicht mehr erforderlich ist, mit einer sich kontinuierlich oder stufenweise verändernden mobilen Phase zu eluieren oder sich vom Hersteller spezielle Mischbettsäulen packen zu lassen.

Ergibt bereits die Basismessung, dass mit nur einer Art von Säulensegmenten die gewünschte Trennung erreicht werden kann, kann die weitere Berechnung dazu genutzt werden, die Länge der Säule zu optimieren

und die Säule nur aus der einen Art von Säulensegmenten zusammengebaut werden.

Andernfalls werden die unterschiedlichen Kombinationsmöglichkeiten der Säulensegmente bei einer vorgegebenen Anzahl von Säulensegmenten  $N$  berechnet, bis die gewünschte Trennung erreicht ist. Die Optimierung und Berechnung kann dann abgebrochen werden, wenn die gewünschte Selektivität  $\alpha_{\text{krit}}$  oder Auflösung  $R_{S,\text{krit}}$  des bzw. der kritischen Peakpaare erfolgt ist.

Wird im Rahmen der Berechnung der verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten mit beispielsweise drei Arten von Säulensegmenten und einer Gesamtanzahl von  $N$  Säulensegmenten keine hinreichend gute Trennung berechnet, d.h. kein  $R_{S,\text{krit}}$  unterhalb des für das spezielle Trennproblem definierten Wertes erhalten, so wird die Anzahl  $N$  der Säulensegmente geändert, insbesondere erhöht, und mit dieser geänderten Anzahl  $N'$  die Berechnung nochmals durchgeführt.

Sollte im Rahmen dieser Berechnung mit  $N$  Säulensegmenten keine befriedigende Trennung vorausgesagt werden, so wird eine Neuberechnung unter Hinzufügung von einer oder mehreren zusätzlichen stationären Phasen notwendig.

Hierfür werden zusätzlich Basismessungen mit den zusätzlichen Säulensegmenten  $S_j$  durchgeführt und dann eine Neuberechnung vorgenommen.

Falls bei einer gegebenen Kombination die Trennleistung nicht ausreichend sein sollte, so kann durch eine Erhöhung der Gesamtanzahl der Säulensegmente  $N$  im bestehenden Verhältnis die Auflösung verbessert werden. In der Praxis kann auch bei einer zu guten Trennung die Anzahl der Segmente im gleichen Verhältnis reduziert werden, um die gesamte Zykluszeit zu verkürzen.

Die für das jeweilige Trennproblem optimierte Trennvorrichtung wird anschließend aus den Trennelementen in der berechneten Anzahl und/oder Dimension gekoppelt oder verbunden und die entsprechende Trennung durchgeführt.

Die Reihenfolge der Elution und die Auflösung der Peaks kann man aufgrund der Berechnung voraussagen.

Somit kann aus dem Set von Trennelementen schnell und effizient die für das jeweilige Trennproblem optimierte Trennvorrichtung, insbesondere Säule, zusammengestellt werden, und zwar im Allgemeinen auf der Grundlage von nur drei (!) Basismessungen.

Wenn auch häufig drei verschiedene stationäre Phasen ausreichend sind, um eine hinreichend effektive, insbesondere isokratische Trennung, zu erreichen, so kann selbstverständlich die Zahl der stationären Phasen weiter auf vier, fünf oder mehr erhöht werden, wobei die Formel für die Berechnung des heterogenen Retentionsfaktor K im Zähler und Nenner entsprechend auf n stationäre Phasen erweitert wird.

Sofern die stationären Phasen bzw. die Trennelemente, die die stationären Phasen umfassen, nicht dieselben Dimensionen (z.B. Durchmesser und Länge des gepackten Säulensegments) aufweisen, kann der Retentionsfaktor für jede Komponente nach folgender Gleichung berechnet werden

$$K_{\alpha\beta\gamma} = (\alpha * k_A + \beta * k_B + \gamma * k_C) / (\alpha + \beta + \gamma) \quad (5)$$

wobei  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  der gesamten internen Volumina der mit den stationären Phasen A, B und C gepackten Trennelemente in der heterogenen Kombination entsprechen.  $k_{A,B,C}$  sind – wie bereits zuvor beschrieben – die durch die jeweiligen Basismessungen bestimmten Retentionsfaktoren.

Sofern bei der späteren Messung eine Schutzsäule in der Trennvorrichtung vorgeschaltet werden sollte, muss diese bei der Basismessung und in der Berechnung berücksichtigt werden.

Ein weiterer Vorteil ist es, dass das erste Säulensegment auch als Schutzsäule verwendet und betrachtet werden kann und bei Bedarf sehr leicht austauschbar ist. Somit ist der Einsatz einer zusätzlichen Schutzsäule nicht erforderlich.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann darüber hinaus in einer Variante auch so angewandt werden, dass - ohne Vorgabe bestimmter Dimensionen der Trennelemente - die optimierte Trennvorrichtung auf der Grundlage der Basismessungen berechnet und die optimierte Säule dann entsprechend der vorausberechneten Verhältnisse der einzelnen stationären Phasen durch den Hersteller entsprechend gepackt wird. In diesem Fall liefert die Berechnung die selektivitätsoptimierten Volumina einer jeden stationären Phase, und die einzelnen bestimmten Volumina werden dann in ein geeignetes Trägerelement, z.B. eine geeignete Säule, gefüllt.

Generell ist durch die erfindungsgemäße Vorrichtung und das erfindungsgemäße Verfahren nicht die mobile Phase einer sich kontinuierlich ändernden Zusammensetzung unterworfen, sondern die durch die Koppelung der jeweiligen Trennelemente trennungsspezifisch zusammengebaute Trennvorrichtung, insbesondere Säule, weist durch die Trennelemente oder Segmente mit den unterschiedlichen Selektivitäten die für eine selektive Trennung erforderliche, sich ändernde Zusammensetzung auf, das heißt, die Trennvorrichtung weist einen Gradienten der stationären Phase auf.

Damit kann die Trennung mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung mit der gewünschten Selektivität auch isokratisch erfolgen, so dass die bei der Gradientenelution beschriebenen Nachteile vermieden werden. Es ist somit kein Rückspülen erforderlich, d.h. es wird Lösemittel gespart und die gesamte Zykluszeit verkürzt. Auch kann die mobile Phase oder jedenfalls ein Grossteil der Fraktionen, die bei einer isokratischen Elution nicht durch Substanzen anderer Polarität verunreinigt werden, wiederverwertet werden, wodurch zusätzlich Kosten für die Entsorgung und Neuanschaffung von Lösemittel gespart und zudem die Umwelt geschont wird.

Vorzugsweise werden hierfür einzelne Bereiche der mobilen Phase, die mit den jeweiligen getrennten Substanzen beladen sind, abgetrennt und das restliche Lösemittel aufgefangen, zurückgeleitet und wiederverwendet. Insbesondere im Bereich der präparativen Chromatographie, in der erhebliche Lösemittelmengen anfallen, ist die durch die isokratische Chromatographie erreichte Wiederverwendbarkeit der Lösemittel nicht nur aus Umweltschutzgründen von großem Vorteil, sondern auch eine

erhebliche Kostenersparnis, da Entsorgungskosten und Neuanschaffungskosten für Lösemittel sehr stark reduziert sind.

Ein weiterer wesentlicher Vorteil der Erfindung besteht darin, dass durch die isokratische Elution weitaus mehr unterschiedliche Detektionsprinzipien und damit Detektoren zur Bestimmung der jeweiligen Substanzen eingesetzt werden können.

Nachdem die Zusammensetzung der mobilen Phase bei der isokratischen Elution konstant bleibt, kann zur universellen Detektion der Substanzen wieder das Differential-Refraktometer eingesetzt werden.

Häufig kann die isokratische Elution der Substanzen und damit die Trennung mit dem erfindungsgemäßen Set in einem Gemisch von Acetonitril/Wasser erfolgen, bei der der Anstieg der Absorption im UV erst bei einer Wellenlänge von 190 nm (50 % Transmission) beginnt. Substanzen mit Chromophoren können somit infolge der isokratischen Elution bis in den kurzwelligen UV-Bereich detektiert werden.

Die durch die Erfindung isokratisch durchführbare Trennung ermöglicht somit den Einsatz weiterer, häufig besser geeigneter, empfindlicherer und/oder kostengünstigerer Detektionsmethoden.

Durch die zeitliche Konstanz der Zusammensetzung der mobilen Phase ist zudem bei einer jeden Detektionsmethode selbstverständlich die Basislinie stabiler und mischungsbedingte Effekte werden vermieden.

Die isokratische Trennung wirkt sich auch positiv auf die Qualität der Massenspektren aus, da die Ionisierung konstant bleibt und zudem keine gradientenbedingten Sekundäreffekte auftreten (stabiler gleich bleibender Hintergrund).

Ferner können zur Detektion bei der isokratischen Elution auch elektrochemische Detektoren oder Leitfähigkeitsdetektoren eingesetzt werden.

Nachdem infolge der isokratischen Analyse nun auch nahezu alle Detektionsprinzipien zugänglich sind, besteht die Möglichkeit, die unterschied-

lichen Detektoren seriell zu koppeln, um die Substanzen dadurch besser zu charakterisieren.

Nicht zuletzt sind bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung die störungsanfälligen, zur Bereitstellung des Gradienten erforderlichen Geräte wie zusätzliche Pumpen und Gradientenmischer nicht mehr erforderlich, was nicht nur die Anschaffungskosten für den Chromatographen senkt, sondern auch noch die Betriebskosten vermindert.

Das erfindungsgemäße Set von Trennelementen und das erfindungsgemäße Verfahren sind für alle auf einer physikalisch-chemischen Trennung aufgrund von unterschiedlichen Wechselwirkungen mit wenigstens zwei Phasen basierenden Methoden, wie zum Beispiel chromatographische Verfahren, einsetzbar, wie der Gaschromatographie (GC), der Flüssigkeitschromatographie (LC) (Säulen- oder Planar-), der Chromatographie mit überkritischen Gasen als mobiler Phase (SFC), den elektrophoretischen Trennverfahren, jeweils im nano, mikro, analytischen und präparativen Einsatzbereich sowie im Bereich der Probenvorbereitung bzw. -aufreinigung mittels Festphasenextraktion oder Filtration.

In der Flüssigkeitschromatographie kommen auch Verfahren zur Anwendung, die unter vermindertem Druck (z.B. Flash-Chromatographie) bzw. erhöhtem Druck (z.B. HPLC, MPLC) ablaufen oder verschiedene Wechselwirkungsmechanismen zur Trennung ausnutzen, z.B. Reversed Phase Flüssigkeitschromatographie (RP), Normalphasenchromatographie (NP), Ionenchromatographie (IC), Größenausschlusschromatographie (SEC, GPC) oder Hydrophobic Interaction Chromatographie (HIC, HILIC).

Ein Trennelement der stationären Phase kann beispielsweise ein Segment einer Säule, ein Segment einer DC-Platte oder eines Elektrophoresegels sein. Wenn die vorliegende Erfindung auch hauptsächlich in Bezug auf Säulen und Säulensegmente beschrieben ist, gilt das Gesagte sinngemäß auch für andere Trennelemente oder segmentierte oder segmentierbare Trennvorrichtungen, wie beispielsweise DC-Platten, die auf eine jede mögliche Länge der betreffenden stationären Phase angepasst werden können.

Ebenso ist die Kopplung von stationären Phasen unabhängig von der Art des verwendeten Trägermaterials (Kieselgele, Polymere, Metalloxide, Gläser, Quarzgläser, Polysaccharide, Agarose-Gele, Kohlenstoff etc.) und gilt ebenso für alle chromatographischen Verfahrensgrößenordnungen von miniaturisierten Nanomethoden bis in den präparativen Bereich.

Überdies kann die stationäre Phase sowohl partikulär, faserförmig oder faserartig als auch monolithisch sein. Vorteilhaft am Einsatz von monolithischen stationären Phasen ist, dass diese sehr einfach gekoppelt werden können, da die stationäre Phase nicht durch Fritten oder Siebe festgehalten werden muss.

Besonders vorteilhaft ist die vorliegende Erfindung auch beim Einsatz in der Nanotechnologie, da Gradienten in der mobilen Phase bei solch geringen Mengen nur sehr schwer reproduzierbar realisierbar sind.

Selbstverständlich kann das erfindungsgemäße Set auch auf spezielle Trennmethode angepasst sein oder spezielle Segmente für spezielle Trennprobleme, ggf. als zusätzliche Segmente, enthalten.

So ist es ebenfalls möglich, die stationäre Phase bei einer Ionen- oder auch Ionenpaar-Chromatographie aus Säulensegmenten aufzubauen oder beispielsweise auch, die Säulensegmente für die Ionenpaar-Chromatographie mit anderen Säulensegmenten, beispielsweise polaren Säulensegmenten, zu koppeln.

Ein weiterer Vorteil des Einsatzes gezielt vorausberechneter und dann zusammengekoppelter oder -gebauter Trennvorrichtungen ist die Verkürzung der gesamten Zykluszeit. Die Verwendung der Trennelemente und der Berechnung der einzelnen zu koppelnden Trennelemente und auch ihrer Anzahl ermöglicht letztendlich auch eine Optimierung der gesamten Zykluszeit, nämlich so kurz wie möglich, aber so lange wie für das Erreichen der gewünschten Trennung erforderlich.

Ein Set kann ebenfalls auch Segmente zur gezielten Adsorption bestimmter Substanzen, wie bei der Festphasenextraktion, umfassen. Aus dem zu trennenden Gemisch wird die betreffende Substanz in diesem spezifischen Adsorptionssegment nahezu quantitativ adsorbiert und so-

mit in diesem Segment angereichert, um anschließend wieder desorbiert zu werden. Statt, wie bisher üblich, nur in einem Segment, wäre durchaus eine Kaskade von Segmenten zur gezielten Adsorption unterschiedlicher Substanzen in Reihe vorstellbar.

Die erfindungsgemäßen Segmente können auch in anderen Trennverfahren eingesetzt werden, wie bei der Elektrochromatographie, bei der die Substanzgemische aufgrund des elektroosmotischen Flusses getrennt werden, oder bei der Elektrophorese.

Das erfindungsgemäße Set und das erfindungsgemäße Verfahren sind für kontinuierlich arbeitende Online-Verfahren und/oder Trennverfahren mit einer mobilen Phase und/oder konstanter Geschwindigkeit wie beispielsweise HPLC, Online-DC und Online-OPLC geeignet.

Das erfindungsgemäße Set kann auch aus wenigstens zwei verschiedenen Arten von Dünnschichtplatten bestehen, die dann jeweils in einer größeren Stückzahl, insbesondere wenigstens drei einer jeden Art, in dem Set enthalten sein sollten. Die Dünnschichtplatten lassen sich auf die optimierte Länge anpassen und die verschiedenen Dünnschichtplattensegmente dann untereinander zu einer aus den verschiedenen Segmenten gebildeten Platte und damit letztendlich einer Platte mit einem Gradienten in der stationären Phase koppeln.

Insbesondere dient das Set dazu, dem Anwender den Aufbau einer für seine (Routine)-analyse besonders geeignete Trennvorrichtung vor Ort zu ermöglichen, wobei die Trennung dann mit den bereits beschriebenen Vorteilen der isokratischen Elution erfolgen kann.

Die Vorteile der optimierten Trennvorrichtung werden insbesondere dann erreicht, wenn die einmal optimierte Trennvorrichtung in dem kontinuierlich arbeitenden Trennverfahren eingesetzt wird, und zwar isokratisch und bei einer während der gesamten Trennung konstanten stationären Phase, d.h. auch ohne die Säulen zu „schalten“.

In besonderen Anwendungsfällen kann selbstverständlich zusätzlich zu der Optimierung der stationären Phase auch noch die mobile Phase für

die betreffende Trennung optimiert werden, beispielsweise auch durch einen Gradienten.

Die spezifische Bauart der jeweiligen Säulensegmente hängt selbstverständlich davon ab, für welche Art von Trennverfahren und für welche Mengen an zu trennenden Substanzen die aus den zu koppelnden Trennelementen hergestellte Trennvorrichtung einzusetzen ist.

Die Länge jedes einzelnen Trennelements hängt von der späteren Gesamtlänge der die stationäre Phase umfassenden Vorrichtung, insbesondere der Säule, und der gewünschten Anzahl an Segmenten und dem spezifischen Trennproblem ab. Bei Trennelementen, die Segmente von analytischen LC-Säulen sind, beträgt die Länge eines Segments wenigstens 0,5 cm, vorzugsweise wenigstens 1,0 cm, damit die Segmente noch auf einfache Weise mechanisch aneinanderkoppelbar sind. Bevorzugt beträgt die Länge eines Säulensegments 2 cm, so dass eine 20 cm lange Säule aus 10 gekoppelten Segmenten aufgebaut werden kann. Besonders bevorzugt beträgt die Länge eines Säulensegments 1 cm oder ein ganzzahliges Vielfaches davon und kann bis zu 500 cm betragen, vorzugsweise beträgt die Länge eines Säulensegments nicht mehr als 12,5 cm. In der Kapillar Gaschromatographie (cGC) sind Säulensegmentlängen bis zu 100 m vorstellbar, vorzugsweise beträgt die Länge 25 m.

Die Säulensegmente können sowohl die Form eines geraden, als auch eines spiralförmigen Zylinders (insbesondere bei langen Säulensegmenten, beispielsweise für die GC) aufweisen oder auch andersartig geformt sein.

Der Innendurchmesser der Säule variiert stark nach der zu trennenden Substanzmenge und dem jeweiligen Chromatographieverfahren und kann etwa zwischen 20 µm und 2 m betragen, bei einer analytischen Säule im Allgemeinen zwischen 20 µm und 10 mm. Für Isolierungszwecke wird die Säule mit einem Innendurchmesser zwischen 2 mm und 1 m eingesetzt.

Prinzipiell ist ebenfalls möglich, dass das Set zusätzlich auch „Vielfach-Segmente“ umfasst. Bei diesen „Vielfach-Segmenten“ handelt es sich um Säulensegmente einer bestimmten, auch in dem „Einfachsegment“ vor-

handenen stationären Phase, wobei die Länge des „Vielfach-Segments“ jedoch ein ganzes Vielfaches der Länge eines Einzelsegments beträgt. Beispielsweise können neben 10 Einzelsegmenten mit einer Phenylgruppen umfassenden Phase der Länge 2 cm auch ein „Doppelsegment“ mit Phenylgruppen umfassender Phase der Länge 4 cm und ein Dreifachsegment mit der Phenylgruppen umfassenden Phase der Länge 6 cm in dem Set enthalten sein, wobei durch diese zusätzlich vorhandenen Vielfach-Segmente die für das Zusammen- und Auseinanderkoppeln der Segmente erforderliche Zeit reduziert werden kann.

Theoretische Überlegungen anhand des Prisma-Modells zeigen, dass gerade dann, wenn zusätzlich zu Säulensegmenten der Länge  $l$  auch jeweils ein Säulensegment einer jeden Art von stationärer Phase mit einer möglichst geringen Länge (z.B.  $1/2$  oder  $1/4$ ) mit in die Berechnung einbezogen wird, bei einer vertretbaren Anzahl von Berechnungen ein weit aus breiterer Arbeitsbereich zur Selektivitätsoptimierung mit abgedeckt wird, als wenn beispielsweise die Gesamtanzahl  $N$  der Säulensegmente insgesamt um ein oder zwei Segmente erhöht würde.

Die Kopplung der Trennelemente sollte über möglichst totvolumenfreie und inerte Verbindungen erfolgen, wie zum Beispiel über

- Kapillarverbindungen
- direkt unter Zuhilfenahme eines totvolumenarmen Kopplungsstückes
- bei Kapillarsäulen durch Verbinden der Kapillarenden mittels eines Kupplungsstückes, indem die Kapillarenden direkt auf Stoß zusammengeführt werden
- Ebenfalls bei Kapillarsäulen durch Zusammenschrupfen der Kapillarenden über einen Schrumpfschlauch
- Durch Zusammenschrauben der Säulenenden mit einer Dichtscheibe mit Durchgangsbohrung
- Über eine Schraubverbindung mit Kapillarbohrung

- Direkt durch Zusammenführung des Packungsendes des einen Trennelementes mit dem Packungsende des anderen Trennelementes
- Durch segmentiertes Packen der stationären Phase in ein Säulenrohr

Vorzugsweise weist ein jedes Trennelement an jedem Ende dieselben Kopplungsmittel auf, so dass ein jedes Ende eines Säulensegments mit einem jeden Ende eines anderen Säulensegments verbindbar ist.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform sieht vor, an den beiden Enden des Säulensegments voneinander verschiedene Kopplungsmittel vorzusehen (männlich, weiblich). Dabei taucht das Ende des einen Säulensegmentes in den Anfang des Anderen ein, wobei der Innendurchmesser des Packungsquerschnittes erhalten und somit die lineare Strömungsgeschwindigkeit konstant gehalten wird. Dadurch entstehen an den Kopplungsstellen keine Turbulenzen. Weitere Vorteile dieses Systems sind die gekammerte Dichtung an den Kopplungsstellen und die geschützte Packung der einzelnen Trennelemente. Ferner ist die Packung innen abgeschlossen und geschützt. Besonders vorteilhaft ist die einfache Handhabung durch Ineinanderstecken. Das Wichtigste bei dieser Kopplung ist jedoch die nahezu totvolumenfreie Kopplung, da das Trennsegmente mit einer dünnen Fritte direkt auf ein Sieb mit gewünschter Kreuzfiltration gepresst wird.

Ebenfalls ist möglich, an jedem Ende eines Säulensegmentes einen monolithischen Abschluss vorzusehen, dessen Dicke vorzugsweise zwischen 0,5 und 1 mm beträgt. Diese Säulensegmente werden in Analogie zu der oben beschriebenen Art und Weise (männlich, weiblich) gekoppelt. Der Vorteil hierbei ist, dass keine metallischen Abschlussteile wie Sieb und Fritte verwendet werden müssen. Ferner kann der monolithische Abschluss chemisch modifiziert werden und somit der jeweils verwendeten stationären Phase angepasst werden. Bei diesem System besteht die Möglichkeit, zwei Trennelemente ohne Übergangselement (wie Sieb und Fritte) miteinander zu verbinden.

Werden als Trennelemente auf die entsprechende Länge (Dimension) gekürzte Chromatographie-Platten eingesetzt, beispielsweise bei der DC, OPLC oder HPTLC, so kann eine Kopplung der Trennelemente dadurch erfolgen, dass jeweils an den Plattenenden die stationären Phasen zweier Platten aufeinander gelegt werden, so dass die stationäre Phase der ersten Platte beispielsweise nach oben und die stationäre Phase der nächsten Platte nach unten weist und so fort, oder die Platten werden nebeneinandergelegt und über eine inerte Brücke, die dann die stationären Phasen beider Platten übergreift, gekoppelt.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird nun anhand eines Ausführungsbeispiels näher erläutert.

**I. Beispiel der Berechnung der optimierten Kombination der betreffenden Trennelemente (Säulensegmente) auf der Grundlage des Prisma-Modells:**

*a) Für ein Gemisch aus Methylparaben, Acetophenon, Ethylparaben, Dimethylphthalat, 2,3-Dimethylphenol, Methylbenzoat und Anisol ist die bestmögliche Trennung, die bei einer Kombination von 10 Säulensegmenten mit Cyano- und/oder Phenyl- und/oder C18-Gruppen in Acetonitril Wasser 30:70 (v/v) als Lösemittel möglich ist, zu bestimmen.*

Das Set umfasst jeweils wenigstens 10 Säulensegmente mit CN als stationärer Phase ( $S_{CN}$ ), 10 Säulensegmente mit Phenylgruppen als stationärer Phase  $S_{PH}$  und 10 Säulensegmente mit C18 als stationärer Phase ( $S_{C18}$ ).

Für jede dieser drei verschiedenen stationären Phasen wird im Rahmen einer Basismessung für jede der 7 verschiedenen zu trennenden Substanzen nach (1) der jeweilige Retentionsfaktor  $k$  bestimmt, der in der nachfolgenden Tabelle wiedergegeben ist:

|   | Komponente    | $k_{CN}$ | $k_{PH}$ | $k_{C18}$ |
|---|---------------|----------|----------|-----------|
| 1 | Methylparaben | 2,4      | 5,0      | 10,2      |

|   |                    |     |      |      |
|---|--------------------|-----|------|------|
| 2 | Acetophenon        | 2,8 | 7,0  | 8,6  |
| 3 | Ethylparaben       | 3,1 | 7,7  | 20,1 |
| 4 | Dimethylphthalat   | 3,2 | 9,6  | 10,5 |
| 5 | 2,3-Dimethylphenol | 3,5 | 9,7  | 26,3 |
| 6 | Methylbenzoat      | 3,5 | 11,0 | 17,2 |
| 7 | Anisol             | 3,7 | 11,8 | 19,0 |

Im vorliegenden Beispiel wird die Gesamtanzahl der zu koppelnden Säulensegmente  $N$  auf 10 festgelegt. Für eine jede heterogene Kopplung der Säulensegmente, d.h.  $X$ -fach die stationäre Phase  $S_{CN}$ ,  $Y$ -fach die stationäre Phase  $S_{PH}$  und  $Z$ -fach die stationäre Phase  $S_{C18}$  mit  $N = 10 = X + Y + Z$  wird nun der Retentionsfaktor

$$k_{XYZ} = (X \cdot k_{CN} + Y \cdot k_{PH} + Z \cdot k_{C18}) / (X + Y + Z) \quad (6)$$

der heterogenen Kopplung am Selektivitätspunkt  $XYZ$  nach (2) berechnet. Aus den berechneten Retentionsfaktoren der betreffenden Kopplungen  $XYZ$  von Trennelementen werden nun die Selektivitäten aller benachbarten Peakpaare berechnet. Der optimale Selektivitätspunkt ist der Punkt  $XYZ$ , in dem alle Peakpaare eine Basislinientrennung erreichen. Sollten mehrere Selektivitätspunkte eine Basislinientrennung erreichen, so ist der Punkt ideal, bei dem zusätzlich der kleinste Retentionsfaktor für die letzt eluierende Komponente vorhanden ist.

Der Wert für die Basislinientrennung, der Punkt, an dem ein Peak wieder die Basislinie erreicht, hängt von dem jeweiligen chromatographischen Verfahren bzw. von der Trenneffizienz ab, die das jeweilige Trennverfahren erreichen kann. Bei der HPLC sollte dieser Wert, um den Anforderungen an eine gute Auflösung zu genügen, etwa 1,15 betragen, bei der GC etwa 1,05 und bei der DC größer als 1,3 sein.

Wie die nachfolgende Gegenüberstellung gemessener und berechneter Retentionsfaktoren am Beispiel des Selektivitätspunktes 442, d.h. 4 Segmente  $S_{CN}$ , 4 Segmente  $S_{PH}$  und 2 Segmente  $S_{C18}$ , zeigt, liegt die

durchschnittliche Abweichung zwischen berechneten und gemessenen Retentionsfaktoren im Mittel bei ca. 4 %:

|                        | 1    | 2    | 3    | 4     | 5     | 6     | 7     |
|------------------------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| $k_{\text{gemessen}}$  | 6,59 | 7,01 | 9,04 | 11,77 | 12,22 | 13,29 | 15,11 |
| $k_{\text{berechnet}}$ | 6,31 | 6,86 | 8,80 | 11,07 | 11,81 | 12,82 | 14,21 |
| Abweichung [%]         | 4,5  | 2,2  | 2,7  | 6,3   | 3,5   | 3,6   | 6,3   |

Die Selektivität einer Trennung hängt u.a. davon ab, wie viele Trennelemente oder Säulensegmente mit unterschiedlichen stationären Phasen (oder deren unterschiedlicher Polarität) miteinander gekoppelt werden können und wie groß die Gesamtanzahl  $N$  der zu koppelnden Säulensegmente ist.

A2) Für ein Gemisch aus 8 Triazinen ist die bestmögliche Trennung, die bei einer Kombination von je 10 Säulensegmenten mit Cyano- und/oder Phenyl- und/oder C18-Gruppen und/oder C18 mit eingebundener Amid-Gruppe (polar embedded) in Methanol/Wasser 50:50 (v/v) als Lösemittel möglich ist, zu bestimmen.

Das Set umfasst jeweils wenigstens 10 Säulensegmente mit CN als stationärer Phase ( $S_{\text{CN}}$ ), 10 Säulensegmente mit Phenylgruppen als stationärer Phase  $S_{\text{PH}}$ , 10 Säulensegmente mit C18 als stationärer Phase ( $S_{\text{C18}}$ ) und 10 Säulensegmente mit polar embedded C18 als stationäre Phase ( $S_{\text{peC18}}$ ).

Für jede dieser vier verschiedenen stationären Phasen wird im Rahmen einer Basismessung für jede der 8 verschiedenen zu trennenden Substanzen nach (1) der jeweilige Retentionsfaktor  $k$  bestimmt, der in der nachfolgenden Tabelle wiedergegeben ist:

|   | Komponente | $k_{CN}$ | $k_{PH}$ | $k_{C18}$ | $k_{peC18}$ |
|---|------------|----------|----------|-----------|-------------|
| 1 | Prometon   | 1,16     | 4,57     | 6,09      | 4,51        |
| 2 | Simetryn   | 1,28     | 6,82     | 11,85     | 7,55        |
| 3 | Ametryn    | 1,41     | 7,73     | 12,18     | 7,42        |
| 4 | Prometryn  | 1,45     | 10,41    | 22,82     | 14,19       |
| 5 | Terbutryn  | 1,39     | 10,15    | 19,70     | 11,16       |
| 6 | Simazin    | 1,61     | 11,85    | 24,03     | 15,72       |
| 7 | Atrazin    | 1,78     | 18,57    | 46,50     | 27,22       |
| 8 | Propazin   | 1,97     | 21,69    | 55,86     | 27,85       |

Die Chromatogramme zu den Werten sind in der Abbildung 1 dargestellt. Es ist daraus klar ersichtlich, dass keine der einzelnen Trennsäulen an sich in der Lage ist, das Trennproblem zu lösen.

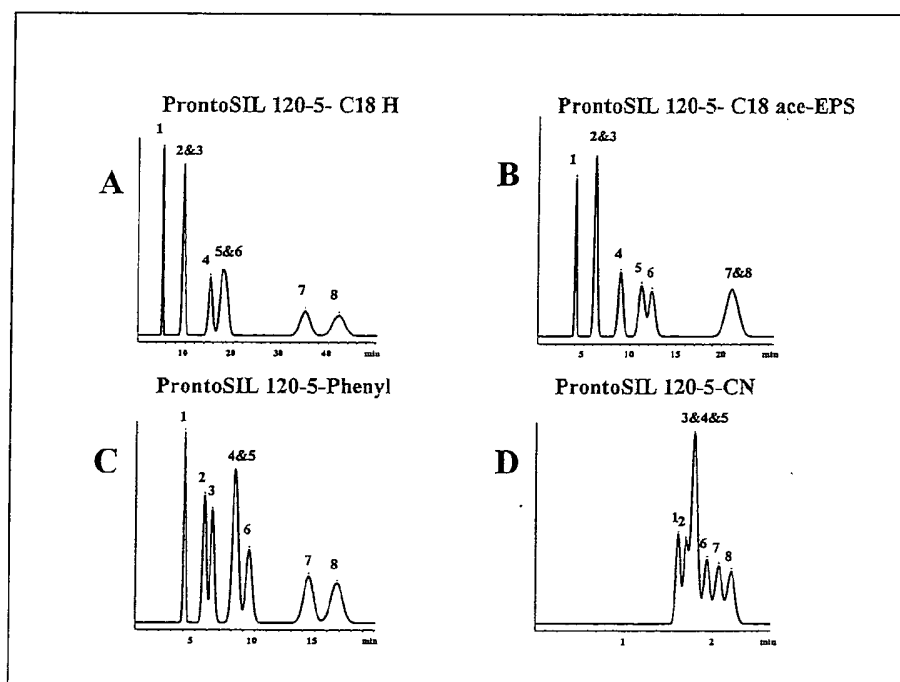


Abb.1: Trennung der Triazine auf den unterschiedlichen stationären Phasen

Die optimale Zusammensetzung der stationären Phase kann aus der Berechnung der  $k$ -Werte und Selektivitäten aller Kombinationsmöglichkei-

ten bestimmt werden. Sie besteht in diesem Falle aus 180 mm der Phenyl Phase, 60 mm der C18 Phase mit polar eingebundener Gruppe und 60 mm der Cyano Phase.

Die für die optimale Säulenzusammensetzung berechneten Retentionsfaktoren sind in der folgenden Tabelle den gemessenen Werten gegenübergestellt. Die Abweichungen betragen durchschnittlich 3,4 %.

|                        | 1    | 2    | 3    | 4    | 5     | 6     | 7     | 8     |
|------------------------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| $k_{\text{gemessen}}$  | 4,30 | 6,42 | 6,90 | 9,09 | 9,96  | 10,75 | 17,21 | 20,19 |
| $k_{\text{berechnet}}$ | 4,30 | 6,47 | 7,06 | 9,45 | 10,29 | 11,60 | 18,52 | 20,74 |
| Abweichung [%]         | 0,0  | 0,8  | 2,3  | 3,8  | 3,2   | 7,3   | 7,1   | 2,7   |

In Abbildung 2 ist das berechnete dem gemessenen Chromatogramm gegenüber gestellt. Die hervorragende Übereinstimmung ist klar erkennbar.

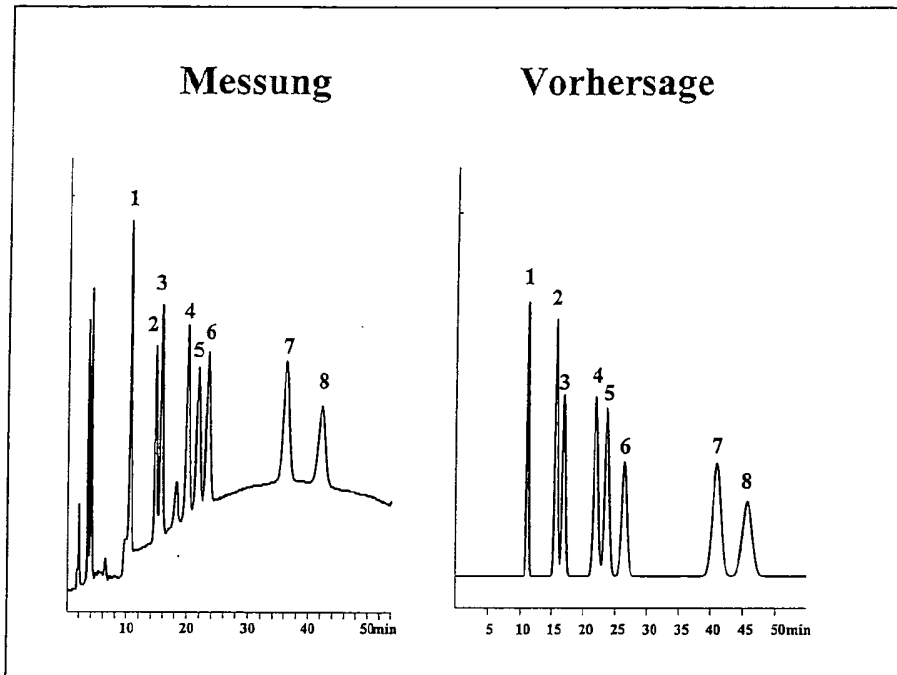


Abb.2: Trennung der Triazine: Messung und Vorhersage

b) Anzahl der Kombinationsmöglichkeiten

I.) Ausgehend von  $s = 3$  unterschiedlichen Säulensegmenten ( $S_A$ ,  $S_B$  und  $S_C$ ; hier:  $S_{CN}$ ,  $S_{PH}$  und  $S_{C18}$ ) gleicher Dimension und einer Gesamtanzahl von  $N = 10$  der zusammenzukoppelnden Säulensegmenten ergeben sich 27 Kombinationsmöglichkeiten, wenn nur zwei der drei verschiedenen Säulensegmente miteinander gekoppelt werden, d.h. nur  $S_A$ ,  $S_B$  oder  $S_A$ ,  $S_C$  oder  $S_B$ ,  $S_C$ . Weiterhin gibt es weitere 36 Kombinationsmöglichkeiten, wenn alle drei verschiedenen Säulensegmente  $S_A$ ,  $S_B$ ,  $S_C$  miteinander gekoppelt werden.

Insgesamt gibt es somit bei drei Arten von Säulensegmenten unterschiedlicher Polarität und der Gesamtzahl von 10 zu koppelnden Segmenten 63 Kombinationsmöglichkeiten.

II) Wird die Anzahl der zu kombinierenden Säulen nicht mit genau 10, sondern wird als Gesamtanzahl  $N$  ein Bereich zwischen 6 bis 15 vorgegeben, so erhöht sich bei  $n = 6$  bis 15,  $s = 3$  die Anzahl der Kombinationsmöglichkeiten auf 625.

iii) Der Einsatz einer weiteren stationären Phase  $S_D$ , d.h.  $s = 4$ , zu der obigen Berechnung der Kombinationsmöglichkeiten (i), das heißt  $N = 10$ , mit drei stationären Phasen ergibt 960 Kombinationsmöglichkeiten mit 2, 3 oder 4 stationären Phasen.

iv) Wird ausgehend von iii) die Gesamtanzahl auf zumindest 6 und höchstens 15 erweitert, so ergeben sich mit  $s = 4$  und den Kombinationen von jeweils 3 Phasen insgesamt 2.500 Möglichkeiten.

Durch Erweiterung der Anzahl der zur Verfügung stehenden stationären Phasen zum Beispiel auf fünf oder mehr, der Kombinationen untereinander (zum Beispiel Kombinationen nicht mehr von drei, sondern von vier verschiedenen stationären Phasen bei der Kopplung), ergibt sich eine weitere Erhöhung der Kombinationsmöglichkeiten. Ein weiteres „Feintuning“ kann unter Berücksichtigung von  $\frac{1}{2}$  oder  $\frac{1}{4}$  Segmenten in der Berechnung erfolgen.

Die Erfindung wird nachfolgend anhand eines bevorzugten Ausführungsbeispiels für die Kopplung der Säulensegmente beschrieben.

Die Säule besteht aus einem bzw. mehreren Säulensegmenten und einer Haltevorrichtung, die ihrerseits aus einzelnen miteinander verschraubbaren Halteelementen besteht, die je nach Bedarf mit den Anschlussteilen am oberen und unteren Ende der jeweiligen Säule verschraubt werden.

Unabhängig von dieser nachfolgend im Detail beschriebenen besonders bevorzugten Ausführungsform ist es ebenfalls möglich, die einzelnen Halteelemente durch Bajonettverschlüsse oder andere Verschlussarten zu verbinden. Außerdem besteht auch die Möglichkeit, ganz auf einzelne Halteelemente zu verzichten und die Säulensegmente in eine Führungshülse der entsprechenden Länge mit Gewinden an den Enden zu geben und dann die einzelnen Säulensegmente axial mit den auf der Führungshülse verschraubbaren Anschlussteilen zusammenzupressen.

Die Säulensegmente können auch in einer entsprechenden Vorrichtung hydraulisch axial zusammengepresst werden.

Wesentlich bei der nachfolgenden besonders bevorzugten Ausführungsform ist, dass der Innendurchmesser der Säule auch in den Kopplungsstellen gleich bleibt und damit die Strömungsgeschwindigkeit innerhalb der gesamten Säule konstant ist.

Die nachfolgend beschriebene Säulenkopplung kann darüber hinaus auch generell zur Kopplung von Säulen, beispielsweise von Vor- und Hauptsäulen, verwendet werden.

Es zeigen:

- Figur 1:** a) eine Explosionszeichnung eines Säulensegments und  
b) eine schematische Darstellung des kompletten Säulensegments,
- Figur 2:** eine schematische Darstellung des Einbaus eines Säulensegments aus Fig. 1 b) in ein Halteelement 30 (Schritt 1), den Einbau eines weiteren Haltelements 30' (Schritt 2) und den Einbau eines weiteren Säulensegments 11' (Schritt 3),
- Figur 3:** eine schematische Darstellung der Kopplung des obersten Säulensegments 11 bzw. des obersten Haltelements 30 und des untersten Säulensegments 11'' bzw. des untersten Haltelements 30'' an die jeweiligen Adapter und
- Figur 4:** eine schematische Darstellung der zu einer Säule zusammengekoppelten Säulensegmente und Adapter.

Das Säulensegment 11 (vgl. Fig. 1) umfasst ein Säulenrohr 13 mit einer stationären Phase 12. Das Säulenrohr 13, das beispielsweise aus Metall, Kunststoff, Keramik oder deren Kombinationen sein kann, besitzt eine vorgegebene Außenkontur mit Stufen 22, 21 und einen konstanten Innendurchmesser  $d_i$ .

Am Kopfe 14 ist das Rohr 13 mit einer definierten Vertiefung 15 versehen, die im Durchmesser  $d_{15}$  größer sein muss als der Innendurchmesser  $d_i$ . Die Vertiefung 15 besitzt einen stufenförmigen Absatz, der der Aufnahme der Dichtung 17 dient. Die Dichtung 17 kann beispielsweise aus Kunststoff, Metall oder anderen zur Dichtung geeigneten Werk-

stoffen sein. Die Vertiefung 15 nimmt einen Filter oder eine Filtersiebkombination 16, die die stationäre Phase schützt, und die darüber liegende Ringdichtung 17 auf. Die Wandung 18 der Vertiefung 15 dient gleichzeitig als Führung bei der Kopplung mit einem weiteren Säulensegment 11' oder zum Einsetzen eines später beschriebenen Anschlussadapters männlich 40.

Das Rohr 13 ist am seinem Fuß 19 entsprechend einer männlichen Verbindung 21 ausgebildet und durch eine poröse Fritte 20 verschlossen, die dazu dient, die stationäre Phase 12 im Rohr 13 zu halten. Die poröse Fritte 20 kann aus Metall, Kunststoff, Keramik, gesintertem Kieselgel, monolithischem Kieselgel oder monolithischem Polymer, auch oberflächenmodifiziert, sein.

Das Halteelement 30 (Fig. 2) dient zur Aufnahme des Säulensegmentes 11 und dessen Kopplung. Das Halteelement 30 kann aus Metall, Kunststoff, Keramik oder deren Kombination sein. Es weist am Kopfende 31 ein Innengewinde 32 und am Fußende 33 ein Außengewinde 34 auf. Im Inneren des Halteelements 30 befindet sich eine Durchgangsbohrung 35 mit einer Stufe 36, in die das Säulensegment 11 aufgenommen wird. Die Stufe 22 des Säulensegmentes 11 liegt auf der Stufe 36 des Halteelements 30 auf.

Die Außenfläche 37 des Halteelements 30 kann für eine einfachere Handhabung gekordelt oder gerändelt sein bzw. Flächen zum Angriff von Schraubenschlüsseln aufweisen.

Der Zusammenbau der Säulensegmente ist in den Figuren 2 und 3 dargestellt:

1. Das Säulensegment 11 ist in der zuvor beschriebenen Weise in ein Halteelement 30 eingehängt (Pfeil 1 in Fig. 2).
2. Ein weiteres Halteelement 30' wird in das erste Halteelement 30 am Kopfende 31 bis zum Anschlag eingeschraubt. Hierdurch wird das Säulenelement 11 in dem Halteelement 30 fixiert (Pfeil 2 in Fig. 2).

3. Ein weiteres Säulensegment 11' wird in das verschraubte Halteelement 30' eingesetzt (Pfeil 3 in Fig. 2).
4. Schritt 2 und 3 werden solange wiederholt, bis die gewünschte Anzahl Säulensegmente 30 erreicht ist.
5. In die Vertiefung 15 im obersten Säulensegments 11 in Fig. 3 wird ein männlicher Anschlussadapter 40 eingesetzt und die Adapterschraube 41 in das Halteelement 30 eingeschraubt.
6. Am unteren Ende 19 des unteren Säulensegments 11'' wird auf das herausragende Stück 21'' der weibliche Anschlussadapter 42 aufgesteckt und mit der Adaptermutter 43 auf dem Halteelement 30 aufgeschraubt.
7. Die so entstandene segmentierte Säule kann jetzt mittels einer Kapillarverbindung (Edelstahl, Kunststoff oder fused Silica) an das chromatographische System angeschlossen werden.

Sofern in der obigen bevorzugten Ausführungsform beispielsweise ein Säulensegment mit der doppelten Länge mit anderen Säulensegmenten verbunden werden soll, so kann das Säulensegment mit der doppelten Länge in zwei miteinander verbundenen Halteelementen gehalten und weiter gekoppelt werden.

### Patentansprüche

1. Elemente zur Trennung von Substanzen durch Verteilung zwischen einer stationären und einer mobilen Phase, welche Trennelemente eine beliebige stationäre Phase und ein Trägerelement umfassen, dadurch gekennzeichnet, dass die Trennelemente Teil eines Sets sind, wobei das Set wenigstens zwei Trennelemente  $T_i$  ( $i \geq 2$ ), die unterschiedliche stationärere Phasen  $S_i$  ( $i \geq 2$ ) umfassen, aufweist und das Set von jeder Art von Trennelement  $T_i$  mit einer bestimmten stationären Phase  $S_i$  wenigstens drei Stück umfasst, und die Trennelemente dazu vorgesehen sind, miteinander zu einer Trennvorrichtung gekoppelt oder auf sonstige Weise verbunden zu werden.

2. Set nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Kopplung oder Verbindung der Trennelemente untereinander über die Kopplung oder Verbindung der Trägerelemente erfolgt.
3. Set nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Set Trennelemente mit wenigstens drei stationären Phasen unterschiedlicher Selektivitäten  $S_A$ ,  $S_B$  und  $S_C$  umfasst und von jeder dieser drei Arten von Trennelementen in dem Set wenigstens 3, vorzugsweise wenigstens 5, bevorzugt wenigstens 7, und besonders bevorzugt 10 oder mehr enthalten sind.
4. Set nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die stationären Phasen des Sets aus der Gruppe der gesättigten oder ungesättigten Alkylgruppen (C1, C2, C3, C4, C6, C8, C12, C14, C16, C18, C22, C27, C30), die mono-, poly- oder acyclisch, ali- oder heterocyclisch sein können, Nitro-, Cyano-, Carbonyl-, Carboxyl-, Hydroxyl-, Diol-, oder Thiolgruppen, Glycidoxy-Gruppen, ggf. verethert, Amino- oder chiralen Gruppen, Amidgruppen, Carbamate, Harnstoff, Perfluoralkylgruppen oder Perfluorarylgruppen und andere Halogenalkyl- und Halogenarylgruppen, Polybutadiengruppen oder andere organische Polymere, affinitätschromatographischen Modifizierungen oder ionenaustauschfähige Gruppen (Kationenaustauscher, Anionenaustauscher, Zwitterionen), nicht-modifizierte Trägermaterialien (z.B. Kieselgel) und molekular geprägte Polymere (MIPs) ausgewählt werden.
5. Set nach einem der vorangegangenen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Länge eines Trennelementes, insbesondere Säulensegmentes, zwischen 0,5 cm und 50 m, vorzugsweise zwischen 1,0 und 12,5 cm und besonders bevorzugt zwischen 1,5 und 2,5 cm, beträgt.
6. Set nach einem der vorangegangenen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Set zusätzlich Trennelemente oder -vorrichtungen zur Durchführung der Basismessung umfasst, wobei die Anzahl der Basismessungselemente vorzugsweise wenigstens der Anzahl der in dem Set enthaltenen Trennelemente  $T_i$  unterschiedlicher stationärer Phasen  $S_i$  entspricht.

7. Set nach einem der vorausgegangenen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Set auch Vielfachsegmente oder -elemente umfasst, deren Länge oder Dimension einem Vielfachen der Länge oder Dimension eines einfachen Trennelements entspricht.
8. Verwendung eines Sets nach einem der vorangegangenen Ansprüche in der Flüssigkeitschromatographie (Säulen- oder Planar-), der Gaschromatographie, der Chromatographie mit überkritischen Gasen als mobiler Phase (SFC) und der elektrophoretischen Trennverfahren.
9. Verwendung eines Sets nach einem der vorangegangenen Ansprüche im nano-, mikro-, analytischen oder präparativen Einsatzbereich.
10. Verwendung eines Sets nach einem der vorangegangenen Ansprüche in kontinuierlich arbeitenden Online-Trennverfahren und/oder Trennverfahren mit äquilibrierter mobiler Phase und/oder isokratischen und/oder isothermen Trennverfahren.
11. Element zur Trennung von Substanzen durch Verteilung zwischen einer stationären und einer mobilen Phase, welche Trennelemente (11) eine stationäre Phase (12) und ein Trägerelement (13) umfassen, wobei das Trennelement (11') dazu vorgesehen ist, mit anderen Trennelementen, insbesondere aus einem Set gemäß Anspruch 1, gekoppelt oder auf sonstige Weise verbunden zu werden.
12. Trennelement nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass das Trennelement ein im Wesentlichen totvolumenfreies gekoppeltes Säulensegment ist.
13. Trennelement nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass am oberen und unteren Ende des Säulensegmentes voneinander unterschiedliche Kopplungsmittel (15, 21), insbesondere ein männliches und ein korrespondierendes weibliches Kopplungsmittel, vorgesehen sind, so dass das untere Ende des einen Säulensegmentes in ein oberes Ende eines anderen Säulensegmentes einführbar ist.

14. Trennelement nach Anspruch 12 oder 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Kopplung der Säulensegmente (11) über Halteelemente (20), die die Säulensegmente aufnehmen, erfolgt.
15. Verfahren zur Herstellung einer optimierten Vorrichtung zur Trennung von Substanzgemischen, dadurch gekennzeichnet, dass Trennelemente gekoppelt oder verbunden werden, wobei die Trennelemente unterschiedliche stationäre Phasen  $S_i$  ( $i \geq 2$ ) beinhalten und von gleicher oder unterschiedlicher Dimension sind, wobei aus den bestimmten Retentionsfaktoren  $k_i$  jeder der vorliegenden stationären Phasen  $S_i$  ( $i \geq 2$ ) die optimierte Kombination der Selektivitäten und der jeweiligen Dimension des Trennelemente bestimmt und die Trennelemente dann zur optimierten Trennvorrichtung gekoppelt bzw. verbunden werden.
16. Verfahren zur Herstellung einer optimierten Vorrichtung zur Trennung von Substanzgemischen, dadurch gekennzeichnet, dass unterschiedliche stationäre Phasen  $S_i$  ( $i > 2$ ) miteinander gekoppelt, miteinander verbunden oder aufeinander geschichtet werden, wobei aus den zuvor bestimmten Retentionsfaktoren jeder der vorliegenden stationären Phasen  $S_i$  die optimierte Kombination der stationären Phasen  $S_i$  und deren Dimensionen bzw. Volumen bestimmt und diese dann, gegebenenfalls in einem geeigneten Trägerelement miteinander, verbunden oder aufeinander geschichtet werden.

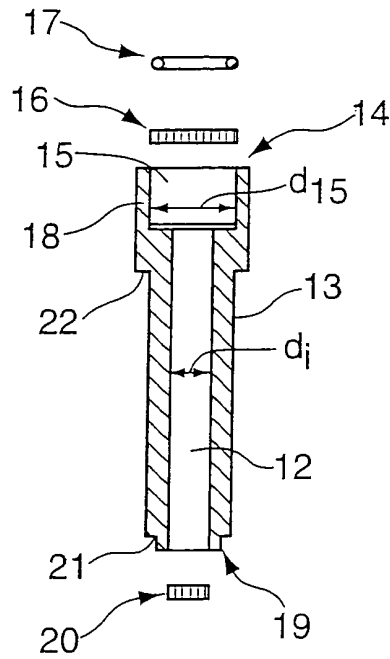


Fig. 1a

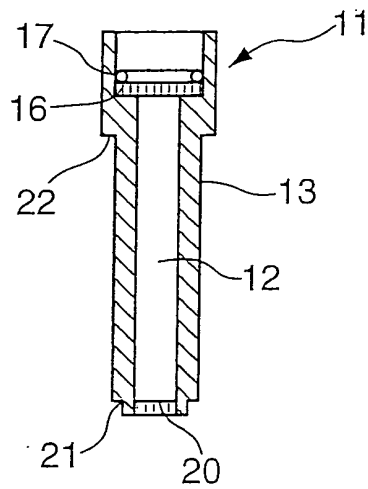


Fig. 1b

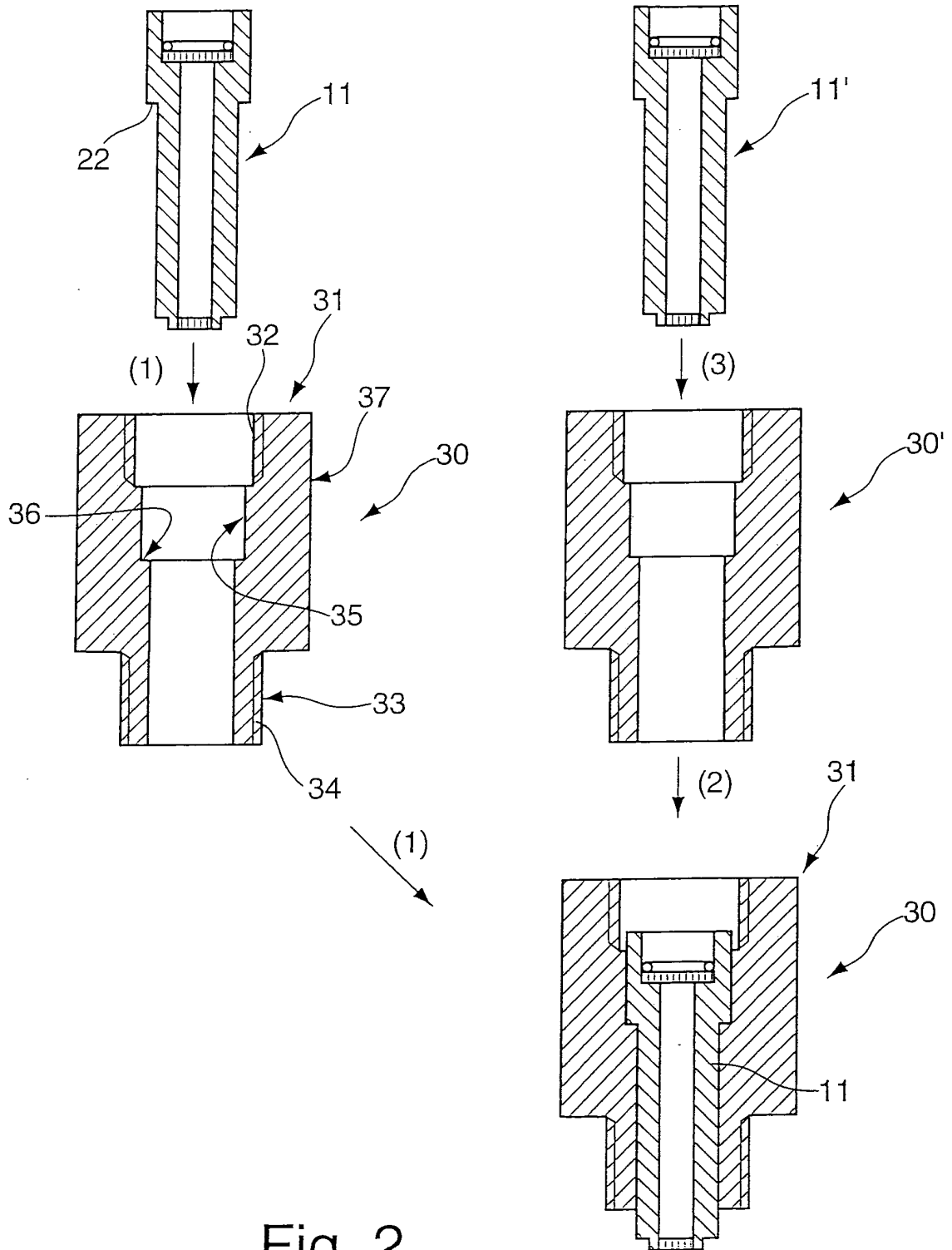


Fig. 2

3 / 4

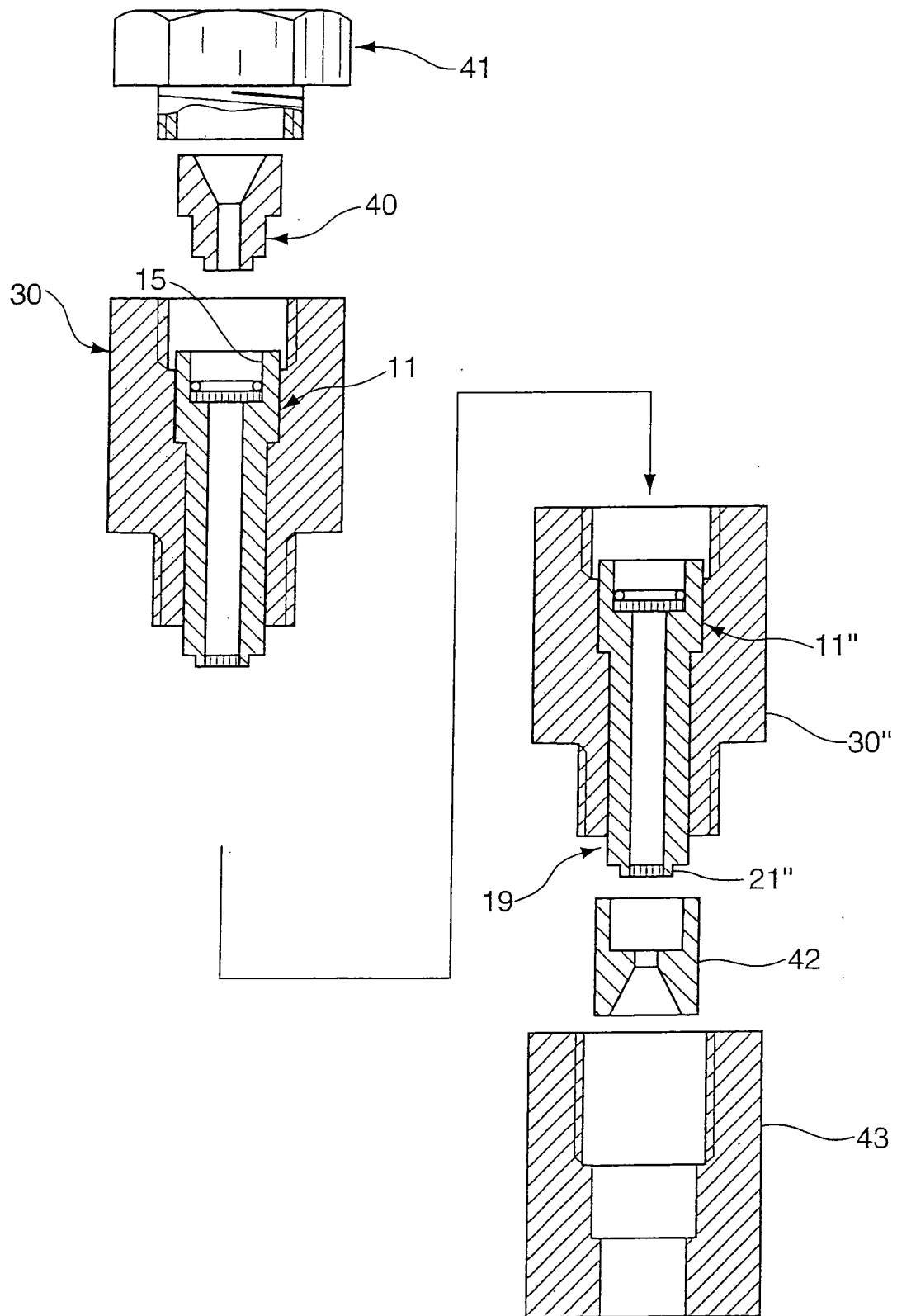


Fig. 3

4 / 4

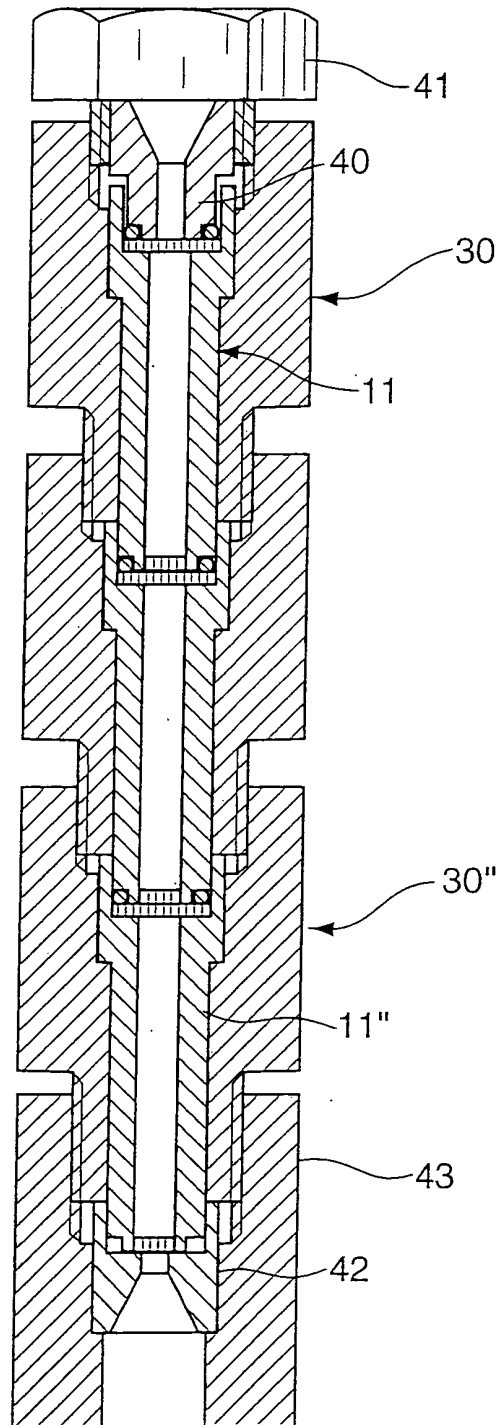


Fig. 4