

SUMMARY

1. The preparation of 1-5 mm thick layers of adsorbent for preparative thin layer chromatography is described.

2. The conditions of separation on Kieselgel G in relation to layer thickness, shape of spots and loading capacity have been examined.

3. Optimum conditions have been found in layer thicknesses of 1-3 mm, whereby the loading capacity of Kieselgel G per substance lies at approximately 5-25 mg/mm layer thickness for a 20×20 cm plate.

4. The application for the preparative separation of dye mixtures by means of ascending chromatography and horizontal overflow chromatography is described.

Forschungslaboratorium der Neurologischen Universitätsklinik,
Basel, Socinstrasse 55

166. Apparatur zur Messung der Sorptionskinetik und eine Mikromethode zur Messung von Sorptionsisothermen¹⁾

von A. A. Hofer und H. Mohler

(18. V. 62)

A. *Messung der Sorptionskinetik*. BRUNAUER, EMMETT & TELLER²⁾ haben 1938 eine Arbeit publiziert («BET»-Konzept), welche gestattet, Sorptionsisothermen zu interpretieren. Die Sorptionsisotherme einer Substanz zeigt den Wassergehalt derselben als Funktion des Wasserdampf-Partialdruckes im Gleichgewichtsfall bei konstanter Temperatur.

SALWIN³⁾ hat die Frage nach der Gleichgewichtsfeuchtigkeit gestellt, die sich ergibt, wenn Substanzen mit verschiedenem Wasserdampfdruck in einem abgeschlossenen System bei konstanter Temperatur aufbewahrt werden. Die Frage nach der Kine-

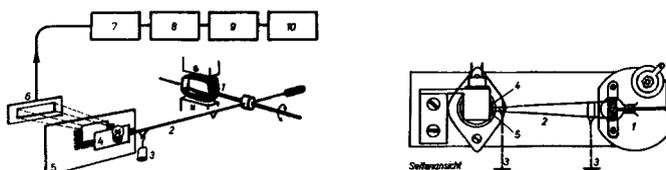


Fig. 1. Prinzip der CAHN-Elektrowaage

- | | |
|-------------------------|---------------------|
| 1 Drehspulinstrument | 6 Photozelle |
| 2 Waagebalken | 7 Servo-Verstärker |
| 3 Mikro-Wägeschälchen | 8 Nullpotentiometer |
| 4 Lichtblende am Balken | 9 Filter |
| 5 Lichtfenster | 10 Schreiber |

¹⁾ Aus der Dissertation von A. A. HOFER, Universität Basel 1962.

²⁾ S. BRUNAUER *et al.*, J. Amer. chem. Soc. 60, 309 (1938).

³⁾ H. SALWIN, Food Techn. 13, 594, 715 (1959).

tik der Gleichgewichtseinstellung wurde bisher in der Literatur nur knapp behandelt⁴⁾; schuld daran dürfte der Umstand sein, dass nur halbautomatische Apparaturen zur Verfügung standen. In der Folge wird hier eine Apparatur (Fig. 1) beschrieben, die erlaubt, die Kinetik der Sorption und Desorption völlig automatisch zu verfolgen.

Diese Messungen werden mittels einer vollautomatischen CAHN-Elektrowaage ausgeführt. Im Prinzip handelt es sich bei dieser um ein Amperemeter, dessen horizontal montierter Zeiger die Funktion eines Waagebalkens übernimmt. Zur Messung einer Last wird der die Spule des «Amperemeters» durchfließende Gleichstrom auf eine solche Stärke eingestellt, dass das durch die angehängte Last erzeugte Drehmoment durch das magnetisch erzeugte entgegengesetzte Drehmoment im Spulennern kompensiert wird; erst dann liegt der Waagebalken einer derart abgeglichenen Waage wieder in der horizontalen Ausgangslage. Die Stromstärke in der Spule ist der angehängten Last proportional.

Das Instrument der CAHN Instr. Co., Paramount, Calif., USA, ist vollautomatisiert. Die Stellung des Waagebalkens wird mit einem Lichtstrahl und einer Photozelle abgetastet. Die in der Photozelle erzeugte Spannung dient zur Regulierung des Kompensationsstroms im Servoverstärker. Das Gleichgewicht stellt sich in Bruchteilen einer Sekunde ein. Der Kompensationsstrom wird dann weiter im Verstärker verstärkt und die ausgehende Spannung in Abhängigkeit der Zeit von einem PHILIPS-Schreiber registriert. Durch einen Empfindlichkeitsschalter und durch Präzisionspotentiometer hoher Linearität lässt sich die zu registrierende Spannung beliebig unterteilen, was für den Eichvorgang wichtig ist. Bei diesem kann man mit einem 10-mg-Gewicht, das von der Herstellerfirma mitgeliefert wird (und von ihr geeicht wurde), die Funktionskontrolle auf genau und leicht übersehbare Weise ausführen. Die Maximallast beträgt 100 mg, während die Empfindlichkeit und die Genauigkeit in der Grössenordnung von 1 bzw. 4 μg liegen.

Fig. 2 zeigt die Anordnung zur Geschwindigkeitsmessung bei reduzierten Drucken.

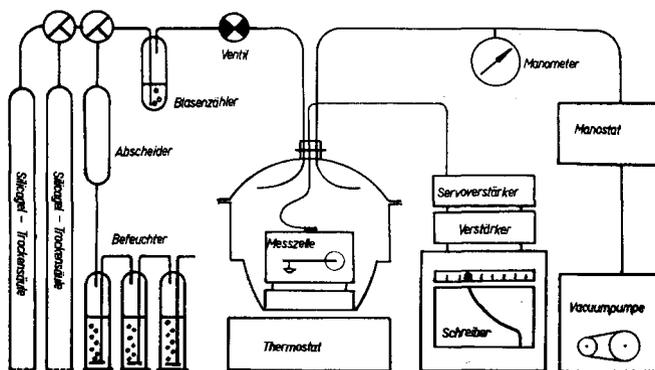


Fig. 2. Automatische Apparatur für kinetische Messungen der Sorption

Von der Elektrowaage steht nur die Messzelle im thermostatisierten Exsiccator (Durchmesser desselben ca. 30 cm); der Servo-Verstärker, der normalerweise an der Rückseite der Messzelle montiert ist, darf wegen des Temperaturanstiegs nicht im Innern des Exsiccators arbeiten, sonst würde die relative Feuchtigkeit und die Wasseraufnahme pro Zeiteinheit in unübersichtlicher Weise verändert. Die Vakuumpumpe (rechte Seite von Fig. 2) saugt Luft aus dem Exsiccator;

⁴⁾ W. BUSHUK *et al.*, *Cereal Chemistry* 34, 73 (1957); J. G. DOWNES *et al.*, *J. Polymer Sci.* 28, 45 (1958); L. HÜBSCHEN, *Z. Unters. Lebensm.* 111, 403 (1960); A. C. NEWNS, *Trans Farad. Soc.* 52, 1533 (1956); *J. Polymer Sci.* 41, 425 (1959).

ein cartesischer Manostat nach BAERTSCHI und THÜRKAUF⁵⁾ achtet auf den gewünschten reduzierten Druck. Mit zwei Dreiweghähnen (linke Seite der Figur) kann man wahlweise trockene Luft (über Silicagel-Kolonnen) oder befeuchtete Luft (aus Waschflaschen mit Schwefelsäure-Wassergemischen) einströmen lassen. Mit einem Ventil und einem Blasenähler (Füllung: Dioctylphthalat) lässt sich der Durchsatz (in der Regel 30 Blasen in 10 Sek.) kontrollieren. Für eine Messung braucht man rund 10 mg Substanz. Die so aufgenommenen Kurven entsprechen einer Reaktion erster Ordnung. Für ein gegebenes Gut ist die Halbwertszeit abhängig vom Trocknungsverfahren.

B. Mikrobestimmung der Sorptionsisotherme. Es gibt zwei Möglichkeiten, um die Gewichtszunahme eines Gegenstandes auf der CAHN-Waage zu registrieren: 1) Man misst die Distanz, die der Schreiberschlitten zwischen Einwaage und Auswaage zurückgelegt hat, und entnimmt die Gewichtsänderung aus einer Eichgeraden. 2) Man dreht bei der Auswaage den Knopf des Nullpotentiometers, bis der Schreiberschlitten wieder die Ausgangslage einnimmt; die Verdrehung der Potentiometer-Achse ist dann proportional zur Gewichtsänderung. Beide Arten der Bestimmung sind etwa gleich genau. Bei diesen Versuchen wurde die in Fig. 2 dargestellte Apparatur gebraucht, wobei nacheinander mehrere Schwefelsäure-Wasser-Gemische zur Luftkonditionierung angewandt wurden, um verschiedene Luftfeuchtigkeiten zu reproduzieren.

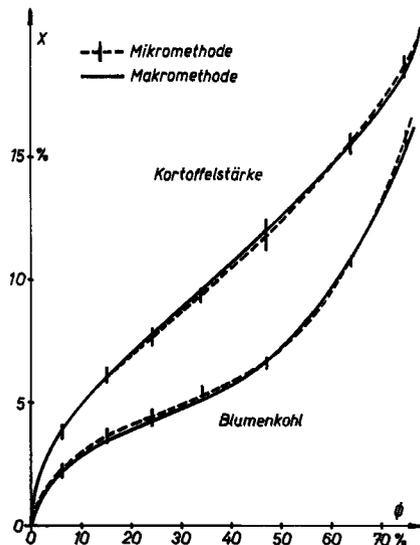


Fig. 3. Vergleich zwischen Mikromethode und Makromethode zur Aufnahme von Sorptionsisothermen

Die Substanzmengen von ca. 10 mg (gegenüber 100 bis 1000 mg im Makromassstab) liessen sich ohne apparative Schwierigkeiten noch weiter verkleinern (und ebenso die Austauschzeiten), aber es entstehen dann Schwierigkeiten bei der Probenentnahme durch Inhomogenitäten des Materials, selbst dann, wenn es vorher gemahlen wird. Die Angleichszeiten betragen ca. 2–4 Stunden für die beiden untersuchten Substanzen (Kartoffelstärke und lyophilisierter Blumenkohl).

⁵⁾ P. BAERTSCHI & M. THÜRKAUF, *Helv.* 43, 80 (1960).

Fig. 3 zeigt die Sorptionsisothermen derselben Substanzen; beide Kurven wurden mit der konventionellen Schalenmethode bei 40 Torr (Angleichung im Exsikkator) und mit der oben beschriebenen Mikromethode aufgenommen.

Die Isothermen der Schalenmethode (Makromethode) stimmen sehr gut überein mit jenen der Mikromethode: die Abweichungen sind nicht signifikant. Damit ist die neue Methode als anwendbar erwiesen. Sie bietet ähnliche Vorteile und Nachteile wie die Messung mit dem Isoteniskop und Kathetometer: man kann nur eine einzige Probe aufs Mal messen; dafür aber ist ohne weiteres die Gleichgewichtseinstellung ersichtlich. Weiter führt die Verwendung kleiner Substanzmengen zu geringen Schichtdicken im Wägeschälchen und somit zu einem kleinen Zeitbedarf zur Gleichgewichtseinstellung, weshalb man ohne Druckreduktion auskommt. In jenen Fällen aber, bei denen überhaupt nur geringe Substanzmengen vorhanden sind, ist diese Mikromethode die einzige Möglichkeit, um die Sorptionseigenschaften der Proben zerstörungsfrei zu messen. Eine Alternative (allerdings unter Zerstörung des Materials) besteht in der Mikrotitration des Wassers nach KARL FISCHER nach der Konditionierung der Probe.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine Apparatur zur automatischen Bestimmung der Kinetik der Sorption und Desorption beschrieben, die sich auf die CAHN-Elektrowaage stützt. Mit der gleichen Waage ist auch die Mikrobestimmung von Sorptionsisothermen möglich.

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel
KNORR-Forschungs-Institut Zürich

167. Quantitative Bestimmung von Nitroarginin in synthetischen Polypeptiden

von J. R. Gamper¹⁾

(18. V. 62)

Einleitung. Die Aminosäuren Tryptophan und Tyrosin (in viel kleinerem Masse auch Phenylalanin) besitzen ein beträchtliches Absorptionsvermögen für UV. in der Gegend von 250–320 $m\mu$, einem Bereiche, in welchem die anderen Aminosäuren durchlässig sind. Diese Eigenschaft bildete schon die Grundlage mehrerer Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Tyrosin und Tryptophan in Proteinen²⁾.

ω -Nitroarginin³⁾, das in der Natur nicht gefunden wurde, dem aber in der präparativen Peptidchemie grösste Bedeutung zukommt⁴⁾, besitzt ebenfalls ein sehr grosses

1) Vorliegende Arbeit bildet einen Teil meiner Promotionsarbeit und wurde auf Anregung von Herrn Prof. Dr. R. SCHWYZER ausgeführt.

2) T. W. GOODWIN & R. A. MORTON, *Biochem. J.* 40, 628 (1946); G. H. BEAVAN & E. R. HOLIDAY, *Advances in Protein Chemistry* 7, 319 (1952); W. L. BENCZE & KARL SCHMID, *Analyt. Chemistry* 29, 1193 (1957).

3) A. KOSSEL & E. L. KENNAWAY, *Z. physiol. Chem.* 72, 486 (1911).

4) Vgl. die Übersicht von H. GIBIAN & E. SCHRÖDER, *Liebigs Ann. Chem.* 642, 145 (1961).