

EIN ZEITGRADIENTENVERFAHREN ZUR FRAKTIONIERUNG VON KÖRNIGEN MATERIALIEN, INSBESONDERE IONENAUSTAUSCHERHARZEN, DURCH SEDIMENTATION

P. DECKER UND H. HÖLLER

*Physiologisches Institut der Tierärztlichen Hochschule,
Hannover (Deutschland)*

(Eingegangen den 26. Juni 1961)

EINLEITUNG

Die Auftrennung körniger Materialien in Fraktionen einheitlicher Korngrösse ist in der Technik eine geläufige Prozedur. Im Zusammenhang mit chromatographischen Methoden, insbesondere bei der Aminosäurentrennung an Ionenaustauschern, haben Klassierungsverfahren auch im Laboratoriumsmaßstab Bedeutung erlangt. Die Aufteilung durch Sieben hat hierbei u.a. den Nachteil, dass pulvriges Material infolge Adhäsion an größeren Körnern nur unvollständig abgetrennt wird. Zweckmässiger erscheinen in dem hier interessierenden Korngrößenbereich von 10–100 μ \varnothing die Sedimentationsverfahren. Soll jedoch über die Abtrennung von kolloidem Material hinaus eine Auftrennung in definierte Korngrößen erzielt werden, so ist ein fraktionierendes Verfahren erforderlich.

Zwei derartige Verfahren sind uns aus der Literatur bekannt geworden. So verwendeten BEHRENS UND MARTI¹ zur Fraktionierung von Leukocyten durch Sedimentation (unter Zuhilfenahme der Zentrifugalkraft) folgendes Verfahren, das sich (ohne Zentrifugieren) auch auf andere Klassierungsaufgaben ausdehnen lässt: Man lässt das Gemisch in dem 1. einer Reihe von Gefässen nur so lange sedimentieren, dass sich nur ein Teil der Suspension absetzt, giesst in ein 2. Gefäss ab, suspendiert das Sediment im 1. Gefäss mit neuer Flüssigkeit, lässt in beiden Gefässen erneut die gleiche Zeit sedimentieren, worauf das 2. in ein 3. und das 1. in das 2. dekantiert, das 1. wieder aufgefüllt und entsprechend weiter verfahren wird. Das Resultat ähnelt in seinem Ergebnis der Fraktionierung von Substanzgemischen zwischen zwei Phasen nach dem Gegenstromverfahren. Dabei entspricht einem "Verteilungsverhältnis" von 1:0 zu Gunsten des Sedimentes ein Material, das in der gewählten Sedimentationszeit oder in einer kürzeren Zeit sich vollständig absetzt. Der Fraktion, die in dieser Zeitspanne nur etwa die Hälfte der Sedimentationsstrecke zurücklegt und von der somit nur die Hälfte ins Sediment gelangt, entspricht ein Verteilungsquotient von 1:1, usw.

Das zweite, von HAMILTON² beschriebene Verfahren beruht auf der Flotation im aufsteigenden Flüssigkeitsstrom in einem konischen Gefäss, wobei mit zunehmen-

der Strömungsgeschwindigkeit immer gröbere Teilchen überspült werden. SCHWERDT-FEGER⁶ benutzte für das HAMILTON'sche Verfahren eine Schlämmapparatur nach KOPECKY-KRAUSS^{4, 5}.

Wir haben beide Verfahren zur Klassierung von Ionenaustauschern für die Aminosäurentrennung angewendet. Das Verfahren nach HAMILTON erfordert einigen Aufwand zur Erzielung einer genau definierten und konstanten Strömungsgeschwindigkeit und sehr grosse Mengen an aqua dest. Bei Belastung mit grösseren Mengen Ausgangsmaterial beobachteten wir Störungen durch Konvektion, die den Trenneffekt stark herabsetzten. Diese Instabilität macht sich besonders im Gebiet absteigender Korngrössenhäufigkeiten gegen Ende des Trennvorganges bemerkbar. Wahrscheinlich deswegen, weil die Suspension, die durch die divergente Strömung in einer gewissen Höhe in der Schwebelage gehalten wird, ein grösseres spezifisches Gewicht besitzt als die darunter liegenden Schichten, welche geringere Mengen an suspendierten Teilchen enthalten.

Das Verfahren von BEHRENS UND MARTI¹ besitzt eine optimale Trennleistung für die Fraktionen, welche in der gewählten Zeit etwa zur Hälfte sedimentieren. Fraktionen, die für vollständige Sedimentation weniger als die gewählte Zeit erfordern, werden dagegen überhaupt nicht getrennt, und für Fraktionen mit wesentlich längerer Sedimentationszeit nimmt ebenfalls der Trenneffekt sehr rasch ab. Dieser Mangel wird verschärft durch die Tatsache, dass die Sedimentationsgeschwindigkeit mit dem Quadrat der Korngrösse abnimmt.

Wir haben daher ein anderes Verfahren entwickelt, bei welchem wir gerade von der Tatsache Gebrauch machen, dass bei einer bestimmten Sedimentationszeit alle Teilchen oberhalb einer bestimmten Teilchengrösse vollständig sedimentieren. Hierbei verfahren wir äusserlich ähnlich wie bei BEHRENS UND MARTI's Gegenstromverfahren, ändern jedoch von Gefäss zu Gefäss die Sedimentationszeit. Man kann daher die Methode als Zeitgradientenverfahren bezeichnen.

METHODIK

Beschreibung des Zeitgradientenverfahrens

Wir arbeiten mit einer Reihe von $n-1$ Bechergläsern (hohe Form), aus denen wir zu gegebenen Zeiten das nicht sedimentierte Material in das jeweils nächste Glas dekantieren. Dabei wird einerseits für jedes Glas die Sedimentationszeit $dt_{(t)}$ bei jedem Durchgang konstant gehalten, andererseits wird von Glas zu Glas eine zunehmende Sedimentationszeit gewählt: ($dt_{(t)} < dt_{(t+1)}$). Dies wird dadurch erreicht, dass in jedem der Gläser der Reihe zu einem $dt_{(t)}$ Minuten vor der Dekantation liegenden Zeitpunkt die Suspension durch Umrühren aufgewirbelt wird. Dadurch sammeln sich in den Gläsern $n, (n-1) \dots 2$, und 1 die in $dt_n, dt_{(n-1)}, \dots dt_2$, und dt_1 Minuten gerade vollständig sedimentierenden Fraktionen an.

Für den ersten Durchgang wird das Rohmaterial in Glas 1 suspendiert, bis zur Zeit $(t_0 - dt_1)$ umgerührt und zur Zeit t_0 in das zweite Glas dekantiert. Für den zweiten Durchgang wird Glas 1 mit neuem Wasser aufgefüllt, dann Glas 2 zur Zeit $t_0 - dt_2$ und

darauf Glas 1 zur Zeit $t_0 - dt_1$ umgerührt und zur Zeit t_0 nacheinander Glas 2 in Glas 3 und Glas 1 in Glas 2 dekantiert. Entsprechend erfolgen die weiteren Durchgänge (Zeitschema Tabelle I).

Beim letzten (n -ten) Durchgang wird der nicht sedimentierte Anteil im letzten

TABELLE I
ZEITSHEMA
Auführen zur Zeit $t_0 - dt_i$; Dekantieren zur Zeit t_0 .

Glas Nr.	Durchgang				
	1	2	3	$n-1$	n
1	$t_0 - dt_1$	$t_0 - dt_1$	$t_0 - dt_1$	$t_0 - dt_1$	$t_0 - dt_1$
2		$t_0 - dt_2$	$t_0 - dt_2$	$t_0 - dt_2$	$t_0 - dt_2$
3			$t_0 - dt_3$	$t_0 - dt_3$	$t_0 - dt_3$
$n-1$				$t_0 - dt_{n-1}$	$t_0 - dt_{n-1}$
n					$t_0 - dt_n$

(n -ten) Glas in ein Vorratsgefäß dekantiert oder verworfen. Das i -te Glas wird also jeweils zur Zeit $t_0 - dt_i$ umgerührt und zur Zeit t_0 in das $(i + 1)$ -te Glas dekantiert.

Nach diesem "Anfahren" des Sedimentationsvorganges über n Gläser in n Durchgängen ist zwar das im 1. Glas angesammelte grobe Material mit der Sedimentationszeit dt_1 n mal und das Material im 2. Glas mit der Sedimentationszeit zwischen dt_1 und dt_2 ($n - 1$) mal dekantiert und von allen feinen Anteilen befreit worden. Das Material im n -ten Glas wurde jedoch nur einmal dekantiert und enthält daher ebenso wie die unmittelbar vorhergehenden Gläser, die nur wenige Male dekantiert waren, noch feineres Material. Zur Vervollständigung der Trennung wird daher das Umrühren und Dekantieren genau nach dem Schema des n -ten Durchganges noch m mal (5-10 mal) wiederholt. Eine Variante des Verfahrens besteht darin, nach insgesamt a Durchgängen das Wiederauffüllen des ersten Glases zu unterlassen. Dann bleibt beim $(a + 1)$ -ten Durchgang das 1. und beim $(a + i)$ -ten Durchgang das erste bis i -te Glas leer, bis nach insgesamt $n + a$ Durchgängen sämtliche Gläser entleert sind und alle Fraktionen gleich oft, nämlich a mal, dekantiert sind.

Wahl der Sedimentationszeiten

Da die Sedimentationszeit annähernd umgekehrt proportional dem Quadrat des Korndurchmessers ist, ist es zweckmässig, die Sedimentationszeiten dt_i in etwa quadratischer Progression zu wählen, um annähernd eine lineare Abstufung der Korndurchmesser zu erzielen. Wählt man eine geometrische Progression der Sedimentationszeiten ($t_{(i+1)} = p \cdot t_i$) so resultiert eine geometrische Abstufung der Korndurchmesser ($d_{(i+1)} = 1/\sqrt{p} \cdot d_i$).

Material

Zur Anwendung kam eine Fraktion gemahlener Amberlite IR-120 C/III, die von der Lieferfirma als Korngrößenbereich von 35μ bis 45μ deklariert war, bei deren Aus-

messung sich jedoch ein Maximum bei 65μ und wesentlich grössere Streuung ($\pm 16 \mu$) ergeben hatte. Weitere Verteilungsversuche wurden auch mit Dowex 50X8, 400 mesh durchgeführt, das aus sphärischen Teilchen besteht.

Korngrößenbestimmung

Die Korngrößenverteilung wurde durch Ausmessen von jeweils 50 Teilchen mit Hilfe eines Mikrometers unter dem Mikroskop ermittelt. Dabei wurde der sogenannte "Martin's diameter" d.h. der grösste Querschnitt in einer festgelegten Richtung, ausgewertet, der unter Vernachlässigung der Asymmetrie der Teilchen als statistisches Mass für den Korndurchmesser benutzt wurde.

ERGEBNISSE

Korngrößenverteilungen

Fig. 1 (A–C) zeigt die mittleren Durchmesser nach einer Fraktionierung von 50–200 ml Harz in jeweils 900 ml Wasser (Mittelwerte aus 5 Versuchen, Sedimentationshöhe 15 cm) bei linearer Abstufung der Sedimentationszeiten, mit $n = 9$ und $m = 1$ (A), 6 (B) und 11 (C) Durchgängen. Es ist deutlich zu sehen, wie mit steigendem m die Korngrösse der letzten Fraktionen infolge der Ausschwemmung feineren Materials ansteigt und die Steigung der Kurve sich dem aus dem Stokes'schen Gesetz zu erwartenden Wert von $\frac{d(\log d)}{d(\log t)} = -1/2$ annähert.

Fig. 1 (D) zeigt die Verteilung des gleichen Materials nach $n = 5$ und $m = 5$ Durchgängen bei Wahl der Sedimentationszeiten in annähernd quadratischer Progression.

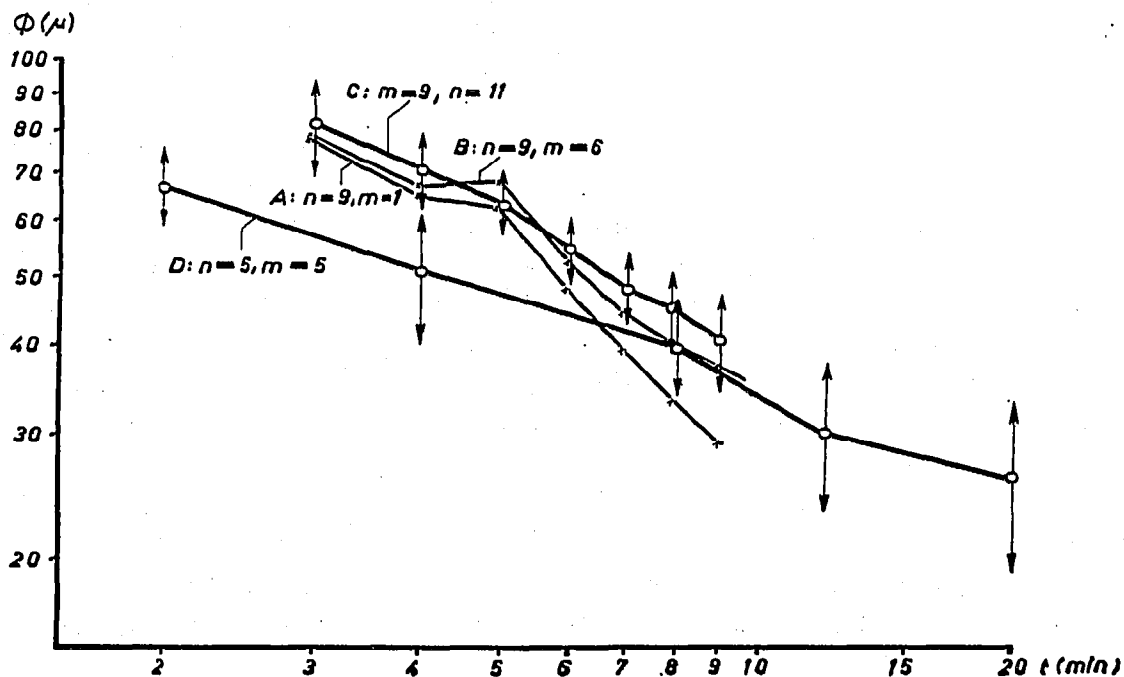


Fig. 1. Fraktionierungen von Amberlite IR-120 C/III.

Fig. 2 zeigt die durch Auszählen der in Fig. 1 (D) gezeigten Fraktionen ermittelten Korngrößenverteilungen, ihre absoluten Mengen und die Summenkurve, die der Verteilung des Ausgangsmaterials entspricht.

Fig. 3 zeigt Ausgangsmaterial und Fraktionen von Amberlite IR-120, das nach dem beschriebenen Verfahren von GRUHN* fraktioniert wurde.

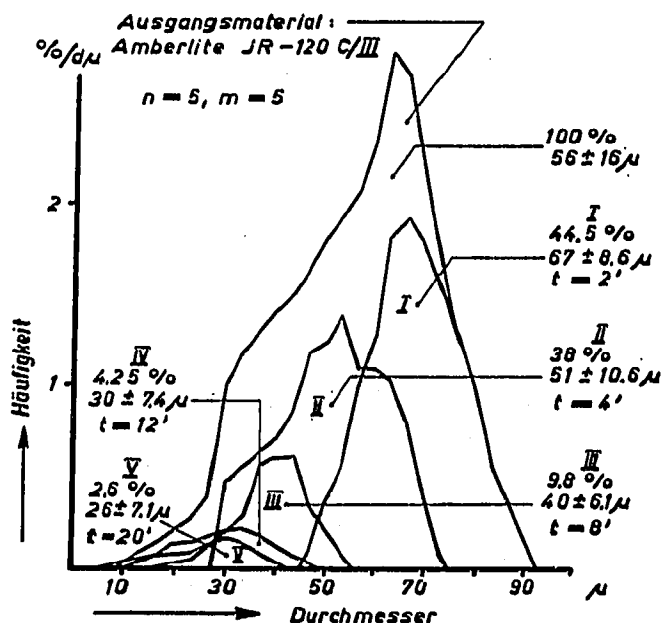


Fig. 2. Korngrößenverteilung nach der Fraktionierung von Amberlite IR-120 C/III (Fig. 1 D).

Streuung

In Fig. 1, Kurve C und D sind die Streuungen der einzelnen Fraktionen eingetragen. Diese Gesamtstreuungen enthalten die experimentelle Streuung der Methode und die der theoretischen Fraktionsbreite entsprechende Streuung, die von der Differenz der Sedimentationszeiten abhängig ist. Wie sich bei der Verfolgung der Ergebnisse der einzelnen Durchgänge ergab, nimmt die Streuung nach etwa 5–10 Durchgängen nicht mehr signifikant ab. Man kommt praktisch zu Streuungen von ± 5 – 10μ , sofern nicht zu steil abgestufte Sedimentationszeiten gewählt werden. In Glas 1 kann die Streuung grösser sein, wenn gröberes Material vorliegt, das hier nicht abgetrennt wird. Da wir mit dem aus sphärischen Teilchen bestehenden Dowex 50X8 keine signifikant niedrigere Streuung erhielten, scheint der auf der Asymmetrie der Teilchen zurückgehende Anteil der Streuung gegenüber den sonstigen Streuungsursachen vernachlässigbar zu sein.

Kapazität

Zwischen den mit 50, 100 und 200 ml Harz pro 900 ml erhaltenen Ergebnissen wurden keine signifikanten Unterschiede beobachtet. Bei Verarbeitung grösserer Mengen

* Persönliche Mitteilung, wir danken Herrn Dr. GRUHN, Institut für Tierernährung der Friedrich Schiller-Universität, Jena, für die freundliche Überlassung der Aufnahmen.

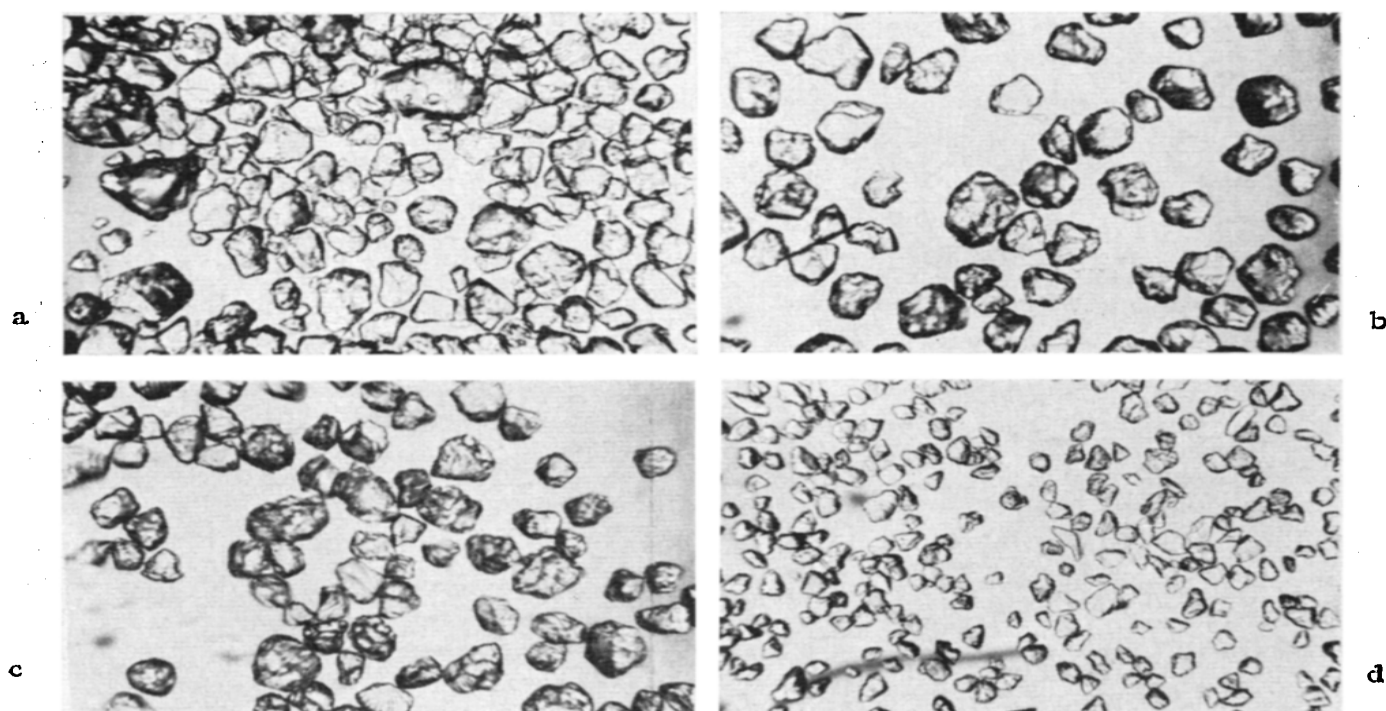


Fig. 3. Fraktionierung von Amberlite IR-120. 150-fache Vergrößerung. a: Ausgangsmaterial; b: $t = 3$ min; c: $t = 4$ min; d: $t = 12$ min.

Rohmaterial, das sich nicht über einen zu engen Korngrößenbereich verteilt, lässt sich die Kapazität des Verfahrens noch erheblich ausweiten, da man jeweils nach dem 1. und den folgenden Durchgängen erneut Material in Glas 1 zugeben kann und so das Auftreten allzu grosser Sedimentmengen in einem der Gläser vermeiden kann. Die Zahl m der Waschungen ist dann entsprechend zu erhöhen.

DISKUSSION

Das angegebene Verfahren gestattet es in recht einfacher Weise, Kornfraktionen im Bereich von $20\text{--}100\ \mu\ \varnothing$ mit einer Streuung von $\pm 5\text{--}10\ \mu$ ohne besonderen apparativen Aufwand zu gewinnen. Die Ausbeute ist praktisch befriedigend. So konnten wir in nur $5 + 5$ Durchgängen trotz der Anwesenheit einer weit überwiegenden Menge Material der benachbarten gröberen Fraktion etwa die Hälfte der uns interessierenden Fraktion 3 von $40\ \mu \pm 6\ \mu$ gewinnen (Fig. 2). Selbstverständlich könnte durch eine Wiederholung der Verteilung mit den Fraktionen 2, 4 und 5 auch der grösste Teil des Restes gewonnen werden.

In der von uns durchgeführten sehr primitiven Art des Dekantierens aus Bechergläsern ist natürlich ein Überspülen eines kleinen Teils bereits sedimentierten Materials nicht ganz zu vermeiden. Dies äussert sich darin, dass die erhaltene Korngrösse nicht nur von dt abhängt, sondern in geringerem Grade auch mit zunehmendem $n + m$ ansteigt. Dies ist aus Fig. 1 ersichtlich, wo für gleiche Sedimentationszeiten in der Reihenfolge D ($n + m = 5 + 5$), A, B, C ($n + m = 9 + 11$) zunehmende Korngrößen erhalten wurden. Da der Effekt nicht allzu gross ist, ist es trotzdem

leicht, auf Grund der Ergebnisse eines Vorversuches nach Auftragung im doppelt logarithmischen System für die jeweils gewünschten Korngrößen geeignete Sedimentationszeiten auszuwählen. Unser Gradientenverfahren ist dem Verfahren von BEHRENS UND MARTI¹ insofern überlegen, als es gestattet, in einem Arbeitsgang eine Reihe stark verschiedener Korngrößenklassen zu isolieren. Die Streuung innerhalb der Fraktionen ist im optimalen Bereich mit unserem Verfahren vergleichbar. Gegenüber dem HAMILTON'schen Verfahren sind die apparative Einfachheit und der geringe Zeitaufwand hervorzuheben. Die Streuung bei unseren Fraktionen entspricht etwa den von HAMILTON² mitgeteilten Werten. Die von uns nach dem HAMILTON'schen Verfahren erhaltenen Fraktionen wiesen jedoch eine höhere Streuung auf, da es uns nicht gelang, eine konvektionsfreie Strömung zu erzielen.

Analysen der sauren und neutralen Aminosäuren in 120 cm-Säulen unter Verwendung der automatischen Apparatur nach HANNIG³ ergaben an in der beschriebenen Weise fraktionierten Austauschern erheblich grössere Trennschärfe als an vorge-siebttem Material.

ZUSAMMENFASSUNG

Ein einfaches Verfahren zur Fraktionierung von körnigen Materialien, insbesondere von Ionenaustauscherharzen, durch Sedimentation wird beschrieben (Zeitgradientenverfahren). Die Fraktionierung erfolgt durch wiederholtes Dekantieren in einer Reihe von Gefässen, wobei, beginnend mit dem letzten Gefäss (dessen Überstehendes verworfen wird), jedes Gefäss in das jeweils nächste dekantiert wird und dann das erste Gefäss mit Wasser nachgefüllt wird. Bei jedem solchen Durchgang wird in jedem Gefäss die gleiche Sedimentationszeit eingehalten. Für aufeinanderfolgende Gefässe wird eine ansteigende Sedimentationszeit gewählt, zweckmässig in geometrischer oder quadratischer Progression (Zeitgradient). Mit quadratischem Zeitgradienten (2–20 min) wurde eine Probe Dowex 50X8, Korngrösse $56 \pm 16 \mu$, in eine Reihe linear abgestufter Fraktionen mit Korndurchmessern von 25μ bis 70μ und Streuungen von ± 5 – 10μ aufgetrennt.

SUMMARY

A simple sedimentation procedure, called "time gradient method", is described, which permits a fractionation of granular materials, *e.g.* ion exchange resins, into fractions of defined ranges. The fractionation involves repeated decantation using a series of sedimentation beakers. Starting with the last beaker (the supernatant of which is discarded), the unsedimented contents of each beaker are decanted into the following vessel of the series. The first beaker is subsequently refilled with distilled water. The sedimentation time in a given beaker is kept constant throughout the procedure, but this time is increased in every following beaker (time gradient). A geometric or quadratic progression of sedimentation times has proved advantageous.

Using a quadratic time gradient (2–20 min) and 1-1 beakers, a 150 ml sample of

Dowex 50X8 with a mean particle diameter of $56 \pm 16 \mu$ was separated into a series of fractions of linearly decreasing diameters ranging from 70μ to 25μ with deviations of $\pm 5-10 \mu$.

LITERATUR

- ¹ M. BEHRENS UND H. R. MARTI, *Naturwiss.*, 42 (1955) 610.
- ² P. B. HAMILTON, *Anal. Chem.*, 30 (1958) 914.
- ³ K. HANNIG, *Clin. Chim. Acta*, 4 (1959) 51.
- ⁴ I. KOPECKY, *Intern. Mitt. Bodenkunde*, 4 (1914) 199.
- ⁵ G. KRAUSS, in G. WIEGNER, *Anleitung zum quantitativen agrikulturchemischen Praktikum*, Gebr. Bornträger, Berlin, 1926.
- ⁶ E. SCHWERDTFEGGER, *Z. Tierphysiol., Tierernährung u. Futtermittelkunde*, 16 (1961) 58.

J. Chromatog., 7 (1962) 392-399