

ELUTIONSANOMALIEN BEI FLIESSMITTELGEMISCHEN IN DER DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE

F. GEISS UND S. SANDRONI
Euratom, 21020 Ispra (Italien)

SUMMARY

Elution anomalies of eluent mixtures in thin-layer chromatography

Eluent mixtures of chloroform-ethanol show demixing during elution. Rows of spots migrating with low R_F values are pushed to a noticeable and irregular hump, when elution is performed in S-chambers of 4 mm depth. This phenomenon vanishes in a 1 mm chamber. It is probably caused by gas density compensation (pure CHCl_3 vapours being heavier than that of $\text{CHCl}_3 + \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) involving chaotic gas convection. Thus the second front is advanced locally. This effect can be made more evident by gas barrier assemblies. It has to be expected for all eluent mixtures for which the component migrating in the upper zone has a heavier gas phase than the lower one.

Entwickelt man in einer Schmalkammer* Chromatogramme mit handelsüblichem, stabilisiertem Chloroform, das ca. 1% Äthanol enthält, erhält man häufig ein Bild ähnlich dem der Fig. 1(a) und (b). Die Aufwölbung der unteren Substanzreihen kann man gezielt verstärken durch Erhöhung des Äthanolgehaltes, z.B. auf 3.5% (Fig. 1(c)). Das Fließmittelgemisch trennt sich während der Elution in eine obere, reine Chloroformphase und eine untere Mischphase Alkohol-Chloroform¹. Die Zonengrenze—eine 2. Front—erkennt man an der beginnenden elliptischen Verformung der Flecken. Es werden also nur die 2. Front bzw. die darunter wandernden Flecken von der konvexen Ausbeulung betroffen.

Wir glaubten zunächst, die Störung käme von einer chemischen Reaktion im Gasraum, z.B. zwischen Äthanol und Zersetzungsprodukten des reinen Chloroforms in der oberen Zone, Phosgen und Chlorwasserstoff; es zeigte sich aber, dass chemische Reaktionen keine merkliche Rolle spielen, weil diese sauren Stoffe bei Buttergelb, welches in der oberen Zone wandert, einen Farbumschlag nach rot verursachen müssten, und weil auch beim Fließmittelgemisch Tetrachlorkohlenstoff-Äthanol**, bei dem chemische Reaktionen ausgeschlossen sind, das gleiche Phänomen auftritt.

Deshalb lag eine Erklärung dieses Geschehens über Konvektion in der Gasphase nahe, welche NIEDERWIESER UND BRENNER¹ schon früher für solche vertikalen Schmalkammern postuliert hatten. Zur Überprüfung dieser Annahme bauten wir in

* Mit 3-4 mm Gasraumtiefe.

** 99:1; 74% r.F.

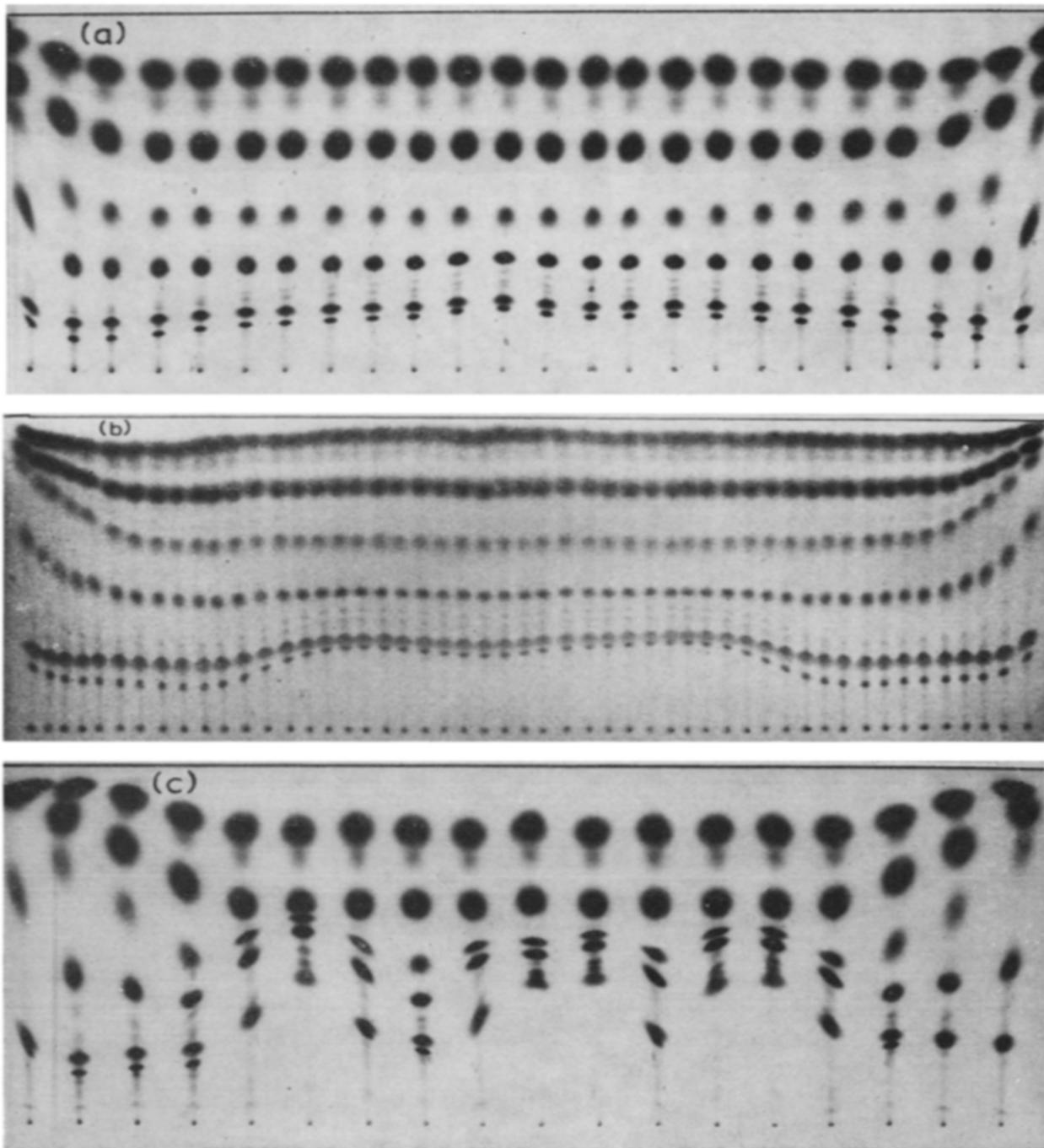


Fig. 1 (a, b). Testfarbstoffe punktförmig aufgetragen; Kieselgel H; Chloroform Merck p.a. stabilisiert 60% r.F.; Platte 20×40 cm; S-Kammer mit 3.5 mm Gasraumtiefe. (c) Chloroform-Äthanol (96.5:3.5).

den 3 mm-tiefen Gasraum Strömungshindernisse ein. Sie bestanden aus auf die Deckplatte aufgeklebten Glasstreifen von knapp 3 mm Dicke und 4 mm Breite. Die Ergebnisse fielen recht eindeutig aus (Fig. 2(a) und (b)): Diese Barrieren haben die Bewegung zonenweise beruhigt; im Bereich unter dem freien Gasraum haben sich dafür regelrechte Wirbel gebildet (Fig. 2(c)).

Das Phänomen der Ausbeulung der unteren Substanzreihen kann durch zwei

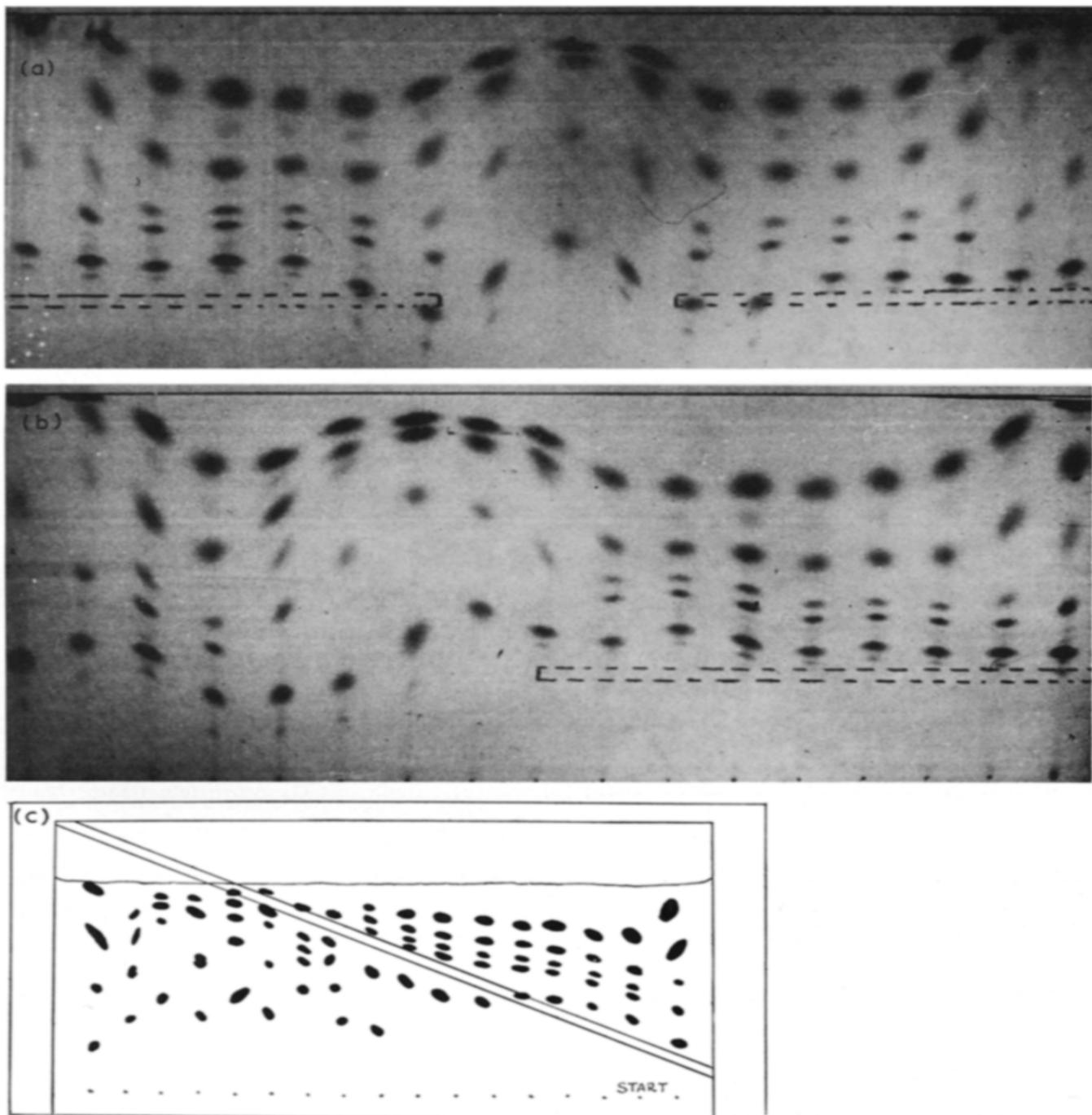


Fig. 2 (a-c). Testfarbstoffe; Kieselgel H; Chloroform-Äthanol (96.5:3.5); 55% r.F.; Platte 20×40 cm; S-Kammer; gestrichelt: Strömungswiderstände auf die Deckplatte aufgeklebt. Gasraumtiefe: 3.5 mm.

oder mehr horizontale Strömungsbarrieren zurückgedrängt werden, und es verschwindet fast völlig, wenn man die Gasraumtiefe von 3.5 auf 1 mm reduziert (Fig. 3(a) und (b)). Es tritt überhaupt nicht auf, wenn man *reine* Fließmittel verwendet oder in der horizontalen BN-Kammer arbeitet.

Die wahrscheinlichste *Erklärung* für diese Verkrümmung ist folgende: Der Gasraum auf der Höhe der beiden Fließmittelzonen entspricht in seiner Zusammen-

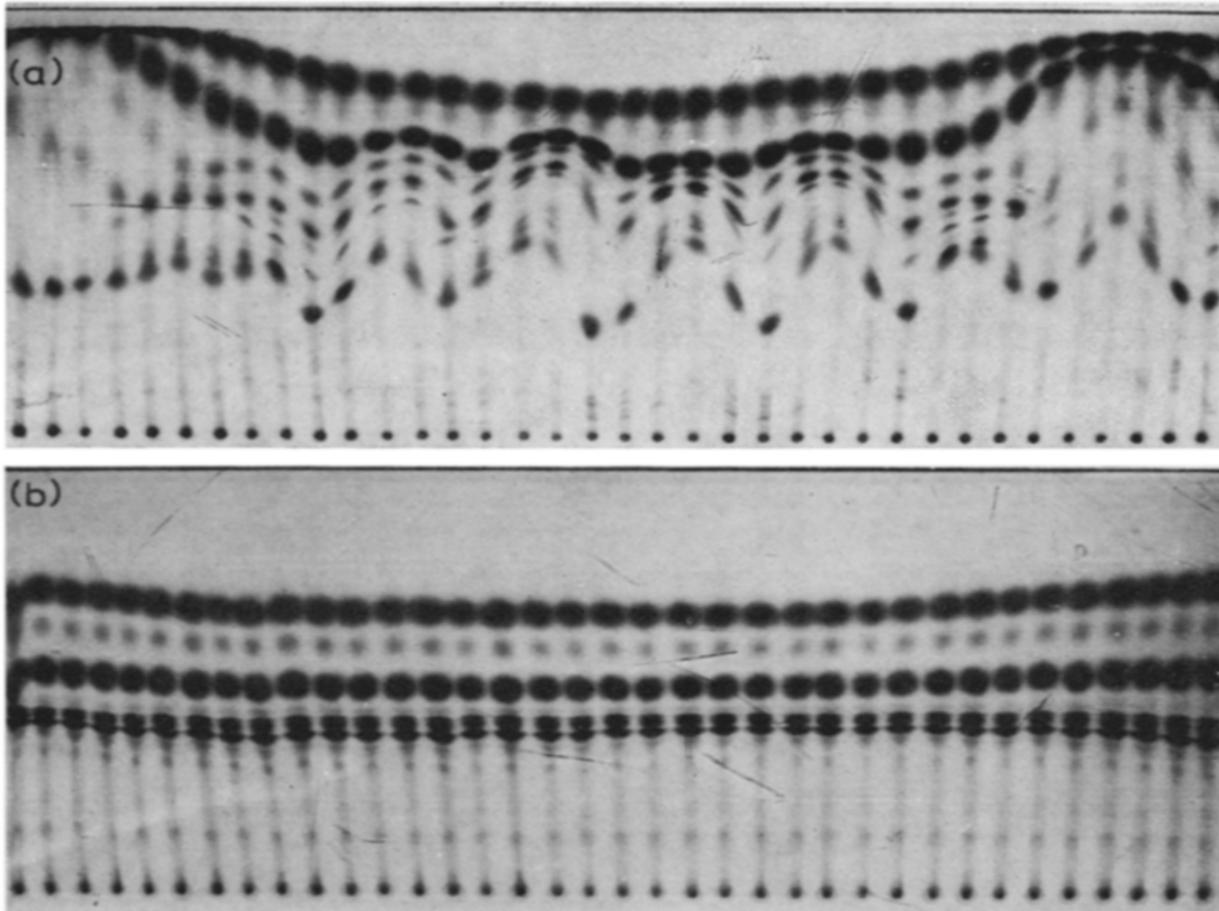


Fig. 3. (a) Testfarbstoffe; Kieselgel H; Chloroform-Äthanol (96.5:3.5); 70% r.F.; Platte 20 × 40 cm; S-Kammer mit 3.5 mm Gasraumtiefe; (b) wie (a) jedoch mit Gasraumtiefe 1 mm; beide Kammern oben offen.

setzung etwa der der Flüssigkeit. Zwischen dem Gasraum auf der Höhe der Zone reinen Chloroforms oben und dem auf der Höhe der unteren Zone aus Chloroform + Äthanol muss sich ein vertikaler Dichtegradient herausbilden, weil mit reinem Chloroformdampf gesättigte Luft schwerer ist als solche, die mit Alkoholdampf verdünnt ist (Tabelle I). Zum Dichteaussgleich fallen die schwereren Dämpfe lokal nach

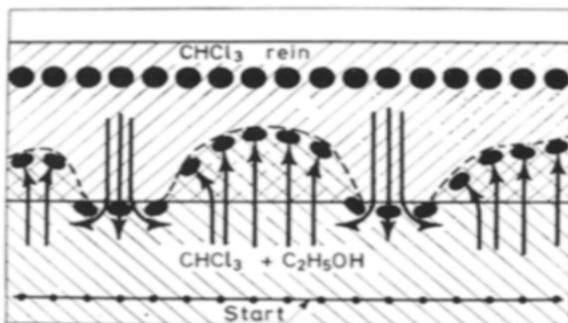


Fig. 4. Schematische Darstellung des Verkrümmungseffektes. Zum vertikalen Dichteaussgleich zwischen oberer und unterer Gaszone wird die untere (alkoholhaltige) Gasfront lokal über die untere Flüssigkeitsfront nach oben gedrückt, wo es zu einer Desaktivierung und "Vorverlegung" der 2. Flüssigkeitsfront kommt.

TABELLE I

DICHTE DER GASPHASE ÜBER ORGANISCHEN FLÜSSIGKEITEN
Gemisch mit trockener Luft bei 760 Torr; 20°.

No.	Flüssige Phase	ρ (g/l)
(1)	Chloroform	2.21
(2)	Tetrachlorkohlenstoff	1.84
(3)	Benzol	1.41
(4)	Äthanol	1.23
(5)	Chloroform + 3.5 Gew. % Äthanol	2.11
(6)	Tetrachlorkohlenstoff + 3.5 % Äthanol	1.76
(7)	Benzol + 3.5 % Äthanol	1.41
(1)-(5)		$\Delta\rho = 0.10$
(2)-(6)		$\Delta\rho = 0.06$
(3)-(7)		$\Delta\rho = 0.00$

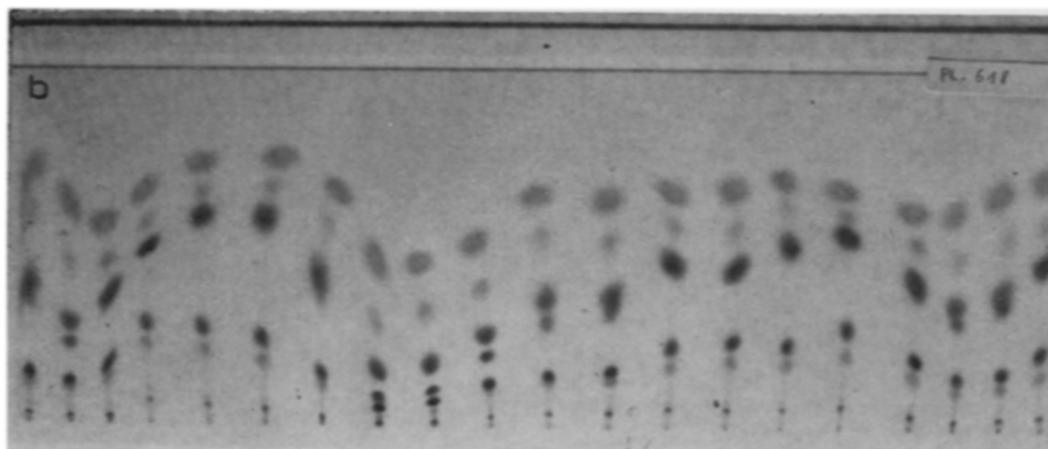
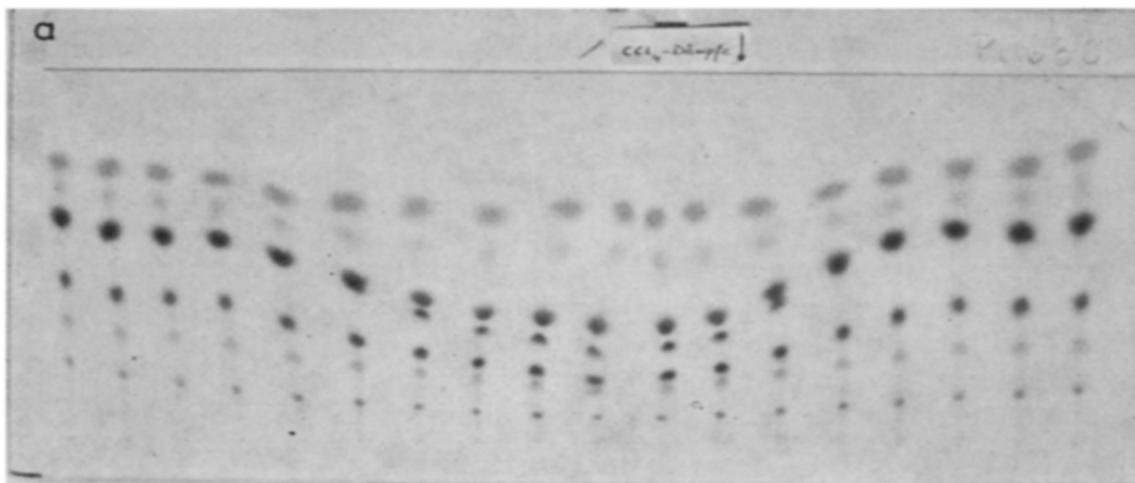


Fig. 5. (a) Testfarbstoffe; Kieselgel H; 55 % r.F.; 20 × 40 cm Platte mit CCl₄ vorbedampft und mit Benzol-Äthanol (96.5:3.5%) entwickelt; Gasraumtiefe 3.5 mm. (b) Testfarbstoffe; Kieselgel H; 60 % r.F.; 20 × 40 cm Platte, oben offen; Gasraumdicke 3.5 mm. Fließmittel Benzol-Äthanol (96.5:3.5). Die Substanzreihen waren gerade, bis in der Mitte von oben CCl₄-Dämpfe eingegossen wurden.

unten, und die 2. (leichtere) Gasfront schiebt sich zum Ausgleich an anderen Stellen über die 2. Flüssigkeitsfront hinaus nach oben. Dort kommt es zu einer Vorbedampfung mit dem elutionskräftigeren Alkohol, was gleichbedeutend ist mit einer lokalen Vorverlegung der 2. Flüssigkeitsfront (Fig. 4). Es erhebt sich jedoch die Frage, warum der Dichteaussgleich nicht über die ganze Platte hinweg gleichmässig und geordnet erfolgt, wo doch von aussen keinerlei Eingriffe erfolgen. Darauf kann nur eine indirekte Antwort gegeben werden: (1) Der Dichteaussgleich über Diffusion ist wegen der grossen Wegstrecken gering. (2) Zum horizontal gleichmässigen Ausgleich müssten 2 mm tiefe und 40 cm lange Gasschichten laminar aneinander vorbeigleiten. Dies ist viel weniger wahrscheinlich als ein Ausgleich durch lokale Turbulenz.

Bei dem Fliessmittelgemisch Benzol-Äthanol (96.5:3) kommt es nicht mehr zu diesem Vorgang, weil die Gasdichteunterschiede der beiden Gaszonen praktisch null sind; stark ausgeprägt tritt er aber auf, wenn eine Platte mit Chloroform oder Tetrachlorkohlenstoff vorbedampft und dann mit Benzol-Äthanol (96.5:3) entwickelt wird. Dabei zeigt auch die erste Front starke Einbrüche, die durch örtlich herabfallendes Gas verursacht werden (Fig. 5(a)). Als weitere Stützung für die obige Hypothese können wir zwei andere Experimente anführen: Lässt man in eine oben offene 4 mm-Schmalkammer während der Elution mit Benzol-Äthanol auf beiden Seiten von oben Tetrachlorkohlenstoffdämpfe einfliessen, so wölbt sich die 2. Front in der Mitte auf, giesst man sie in der Mitte ein, werden die Flanken aufgebogen (Fig. 5(b)).

Dichtet man beide Seiten der Kammer hermetisch ab*, so kann Druckausgleich der unteren Zone nach aussen erfolgen; infolgedessen wird die Unordnung im Chromatogramm noch grösser. Fig. 1(a) zeigt die Erscheinung für normal gedichtete und Fig. 6 für hermetisch gedichtete bei handelsüblichem Chloroform, Fig. 1(c) und 7 zeigen das analoge für Chloroform mit 3.5% Alkohol.

Mit dieser Verkrümmungserscheinung ist in horizontalen Schmalkammern bei allen Fliessmittelgemischen mit unterschiedlicher Polarität also dann zu rechnen, wenn das Vorauswandernde das spezifisch schwerere ist. Auch bei reinen Fliess-

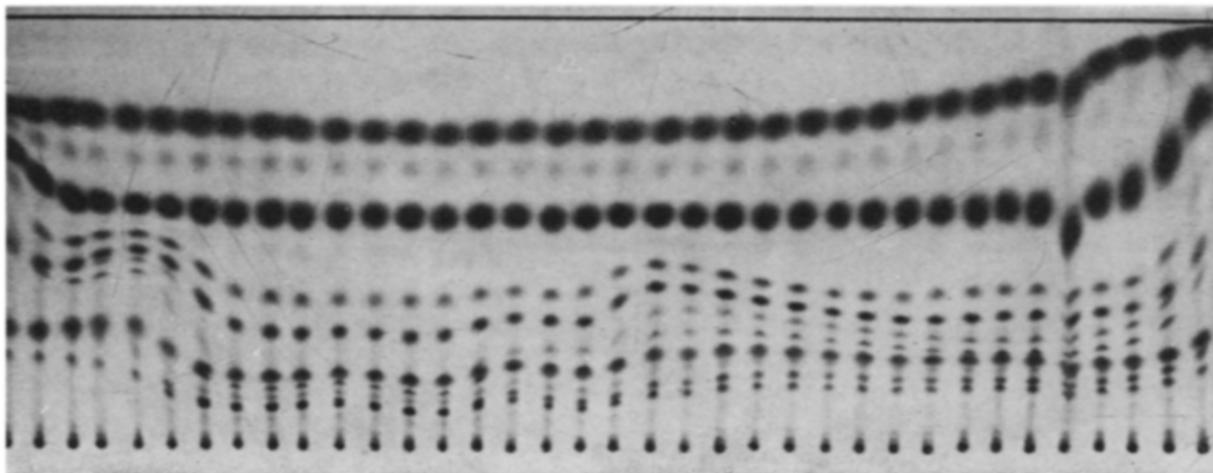


Fig. 6. Auf beiden Seiten hermetisch gedichtete, oben offene Kammer; Gasraumtiefe 3.5 mm. Testfarbstoffe; Kieselgel H; 60% r.F.; Chloroform p.a. Merck (stab.). Vergleich mit seitlich "normal" dichter Kammer bei gleichem Eluens: Fig. 1a und b.

* Durch Bestreichen der Dichtflächen mit Wasserglas und einstündiges Erhitzen auf 80°.

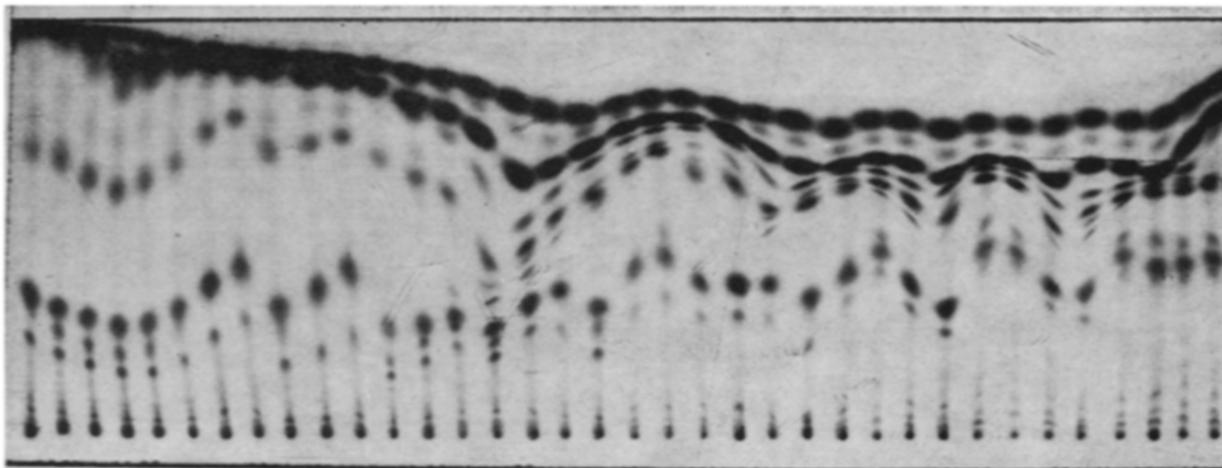


Fig. 7. Wie Fig. 6, jedoch Chloroform-Äthanol (96.5:3.5). Vergleich mit normal gedichteter Kammer: Fig. 1c.

mitteln ist in gewissen Fällen eine Konvektion nicht auszuschliessen, doch tritt sie wegen der fehlenden 2. Front nicht so deutlich in Erscheinung; die häufigen Unebenheiten der Lösungsmittelfront könnten ein Indiz für sie sein. Im Interesse gleichmässigerer R_F -Werte längs der Platte muss daher gefordert werden, keine vertikalen Schmalkammern zu verwenden, die einen tieferen Gasraum als 1 mm besitzen, wenn man schon nicht horizontal chromatographieren kann oder will.

ZUSAMMENFASSUNG

Platten, die mit Chloroform-Äthanol entwickelt werden, zeigen Fließmittelmischung. Substanzreihen, die in der unteren Zone wandern, zeigen eine starke Aufwölbung beim Entwickeln in 4 mm-tiefen S-Kammern, nicht aber in 1 mm tiefen. Der Effekt wird wahrscheinlich durch Dichteaussgleich der Gasphase (reiner CHCl_3 -Dampf ist schwerer als solcher von $\text{CHCl}_3 + \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) bewirkt, der zu chaotischen Konvektionen führt. Damit wird die zweite Front lokal vorverlegt. Die Erscheinung kann durch Strömungshindernisse verdeutlicht werden. Der Effekt muss in solchen Fällen von Fließmittelmischung auftreten, in denen die oben wandernde Komponente in der Gasphase die schwerere ist.

LITERATUR

- 1 A. NIEDERWIESER UND M. BRENNER, *Experientia*, 21 (1965) 50.
- 2 A. NIEDERWIESER UND M. BRENNER, *Experientia*, 21 (1965) 105.

J. Chromatog., 33 (1968) 201-207