

## TEMPERATUREEFFEKTE IN DER DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE

F. GEISS UND H. SCHLITT

*Gemeinsames Forschungszentrum, Euratom, 21020, Ispra (Italien)*

## SUMMARY

*The influence of temperature in thin-layer chromatography*

After a short review of the basic equations the influence of temperature on the water vapour adsorption equilibrium in thin-layer chromatography is described.  $R_F$  values only rise significantly with temperature when the relative humidity is kept constant. At the migrating eluent front the layer shows a momentary temperature increase of  $4^\circ$  involving condensation on the cover plate in small chambers. This disturbance is remedied in the cooled horizontal BN-chamber.

In der Literatur findet man nur spärlich explizite Angaben über den Temperatureinfluss in der Dünnschichtchromatographie. Meist wird lakonisch festgestellt, dass er nur gering oder nicht signifikant sei<sup>1,2</sup>. Beim näheren Betrachten sind die Zusammenhänge komplizierter als es zunächst scheinen mag. Bei einer Diskussion am gleichen Ort hat BRENNER<sup>3</sup> schon richtig bemerkt, dass die Frage nach der Temperaturabhängigkeit der  $R_F$  in der Dünnschichtchromatographie nicht axiomatisch beantwortet werden könne, weil Temperaturänderungen sich auf drei Variablen auswirken können, von denen ihrerseits der  $R_F$  abhängt. Betrachten wir zunächst die einschlägigen mathematischen Beziehungen:

$$\text{Verteilungskoeffizient } \alpha = \frac{\text{Konz. des Sorbats in der stat. Phase}}{\text{Konz. des Sorbats in der mob. Phase}} \quad (1)$$

$$\ln \alpha = \frac{-\Delta G}{RT} = \frac{-\Delta H}{RT} + \frac{\Delta G}{R} \quad (2)$$

$$\alpha = \frac{V_{\text{mob}}}{V_{\text{stat}}} \cdot \left( \frac{1}{R_F} - 1 \right); \ln \left( \frac{1}{R_F} - 1 \right) = R_M$$

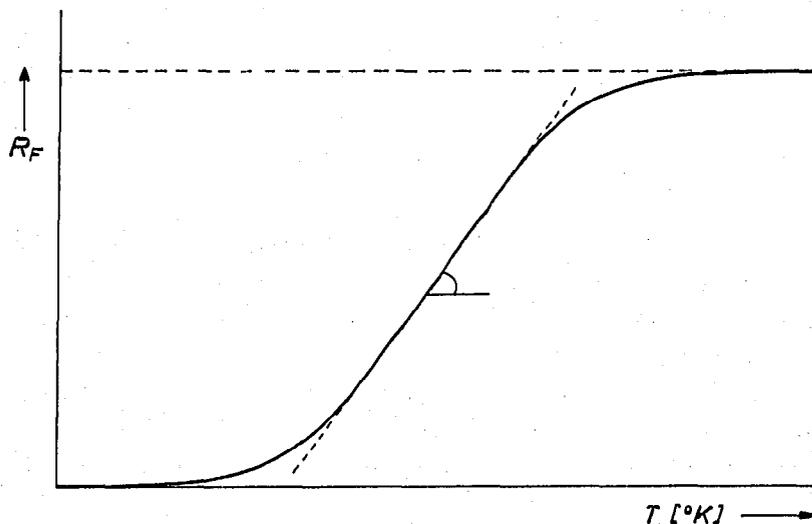
$$R_M = 2.3 \left( \frac{VH}{RT} + \frac{-\Delta S}{R} \right) + \log \frac{\Delta_{\text{stat}}}{V_{\text{mob}}} \quad (4)$$

$$R_M = k_1 \frac{-\Delta H}{T} + k_2 \quad V_{\text{stat}} \triangleq W_a \quad (5)$$

in der Adsorptionschromatographie

$$R_F = \frac{1}{1 + \frac{V_{\text{stat}}}{V_{\text{mob}}} \cdot e^{-\Delta G/RT}} \quad (6)$$

Die chromatographische Trennung zweier Substanzen beruht auf dem Unterschied ihrer Verteilungs- bzw. Adsorptionskoeffizienten. Gleichung (2) beschreibt die Abhängigkeit des Verteilungskoeffizienten von den thermodynamischen Funktionen, Gleichung (3) verbindet ihn mit chromatographischen Kenngrößen. Im Falle der Adsorptionschromatographie wird die Volumeneinheit der stationären Phase ( $V_{\text{stat}}$ ) durch das Gewicht des Adsorbens  $W_A$  ersetzt. Die Gleichungen (4) und (6) zeigen explizit den Zusammenhang zwischen  $R_M$  bzw.  $R_F^*$  und der Temperatur (Fig. 1).



Im Falle der Verteilungschromatographie, d.h. im wesentlichen bei der Papierchromatographie und bei Phasenumkehrverfahren der DC, ist bei Temperaturänderungen experimentell schwer festzustellen,

(1) ob das Volumenverhältnis  $V_{\text{stat}}/V_{\text{mob}}$  konstant geblieben ist;

(2) ob die qualitative Zusammensetzung beider Phasen dieselbe geblieben ist, (die Änderung der gegenseitigen Löslichkeit spielt hier zum Beispiel eine Rolle).

Bei der Adsorptions-DC werden die Verhältnisse etwas durchsichtiger und Messungen leichter zugänglich, weil nur *eine* flüssige Phase existiert. Das kapillare Schichtvolumen kann als konstant angenommen werden, solange sich die Schichtstruktur selbst geometrisch nicht verändert. Bleibt noch  $\Delta G$  als Variable.  $\Delta G$  ist die resultierende freie Adsorptionsenthalpie der zu chromatographierenden Substanz im ternären System Eluens/Wasser/Adsorbens.  $\Delta G$  ist eine Funktion der "Aktivität" und damit des Wassergehaltes der Schicht, letzterer ist seinerseits wieder eine Funktion der relativen Feuchte der Atmosphäre, mit der die Schicht im Gleichgewicht steht. Wenn die Änderung des Wassergehaltes bei konstanter relativer Feuchte nicht allzu gross ist, sollten die  $R_F$  nach Gleichung (6) mit steigender Temperatur gleichförmig zunehmen. Sehen wir uns dazu einige Messungen an (Tabelle I).

Die Wasserbilanzen sind also für die verschiedenen Materialien und Feuchten recht uneinheitlich.

\* Der Kurvenverlauf ist S-förmig. Über einen bestimmten Temperaturbereich steigen deshalb die  $R_F$  praktisch linear mit der Temperatur an. Es kann mathematisch gezeigt werden, dass die Temperaturabhängigkeit der  $R_F$  in diesem Bereich, ausgedrückt durch die Steigung der Wendetangente (Fig. 1) umso geringer wird, je grösser  $-\Delta G$ , d.h. je aktiver die Schicht ist. Die experimentellen Befunde stehen damit im Einklang.

TABELLE I

EINFLUSS DER TEMPERATUR AUF DEN WASSERGEHALT VON DC-ADSORBENZIEEN BEI KONSTANTER REL. FEUCHTE

Material	Rel. Feuchte (%)	Temperaturänderung	Änderung des Wassergehaltes (rel.%)	Ausgangswasser-H <sub>2</sub> O-Gehalt (abs. %)
Merck Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -G	38	20°→60°	- ≤ 4	2.6
Camag Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -DS-O	38	20°→60°	- 10	2.7
Camag Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 100 m <sup>2</sup> /g	38	20°→60°	- ≤ 3	4.3
Merck Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -H	58	20°→83°	+ 33	3.9
Merck SiO <sub>2</sub> -H <sup>4</sup>	65	20°→80°	- 57	15

\* Bezogen auf Trockengewicht bei 110°.

Fig. 2 zeigt den Wasserverlust eines Kieselgels bei Temperaturerhöhung und gleichbleibender relativer Feuchte. Dennoch überwiegt bei der Chromatographie mit diesem Adsorbens der reine Temperatureffekt den Aktivitätszuwachs durch Wasserverlust: die  $R_F$  nehmen mit der Temperatur zu (Fig. 3).

Sogar die Beziehung  $R_M = f(1/T)$ , (s. Gl. (4) und (5)), bleibt annähernd eine Gerade. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass das Entropieglied  $\Delta H$ -Änderungen kompensiert. Der Temperatureffekt der  $R_F$  wiederholt sich gleichsinnig bei Aluminiumoxid (Fig. 4).

Betrachten wir noch den Fall des Nichtkonstanthaltens der rel. Feuchte bei Temperaturerhöhung: Erwärmt man eine mit Raumluft gefüllte Chromatographierkammer samt Platte, so nimmt die rel. Feuchte darin wegen der gleichgebliebenen Absolutfeuchte zwangsläufig ab; die Schicht verliert Wasser und wird infolgedessen aktiver. Dieser Aktivitätszuwachs kompensiert in erster Näherung die durch den

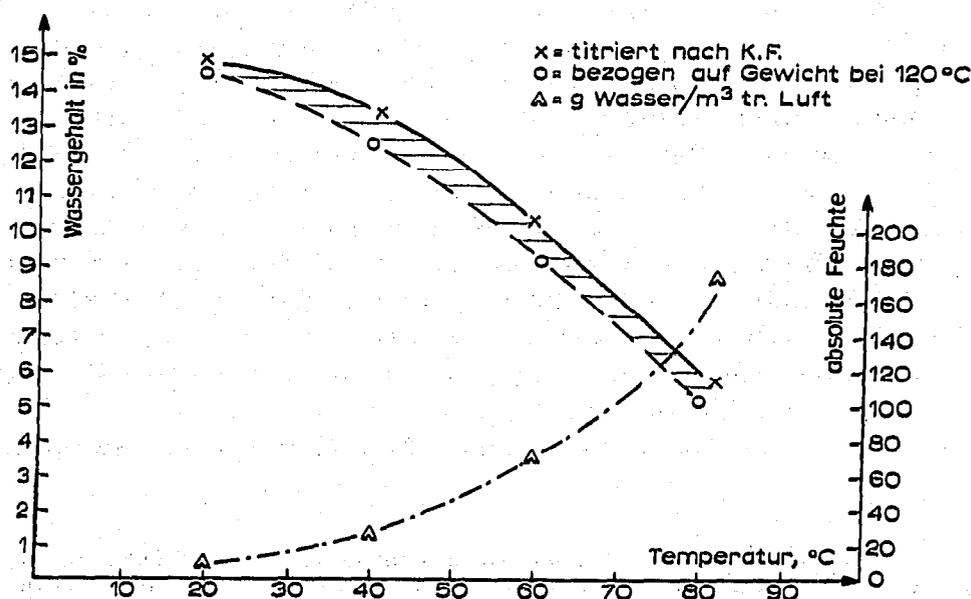


Fig. 2. Wasserdampf-Adsorptionsisobare von Kieselgel-H bei 65% r.F.; H<sub>2</sub>O-Gehalt bezogen auf Trockengewicht bei 120°.

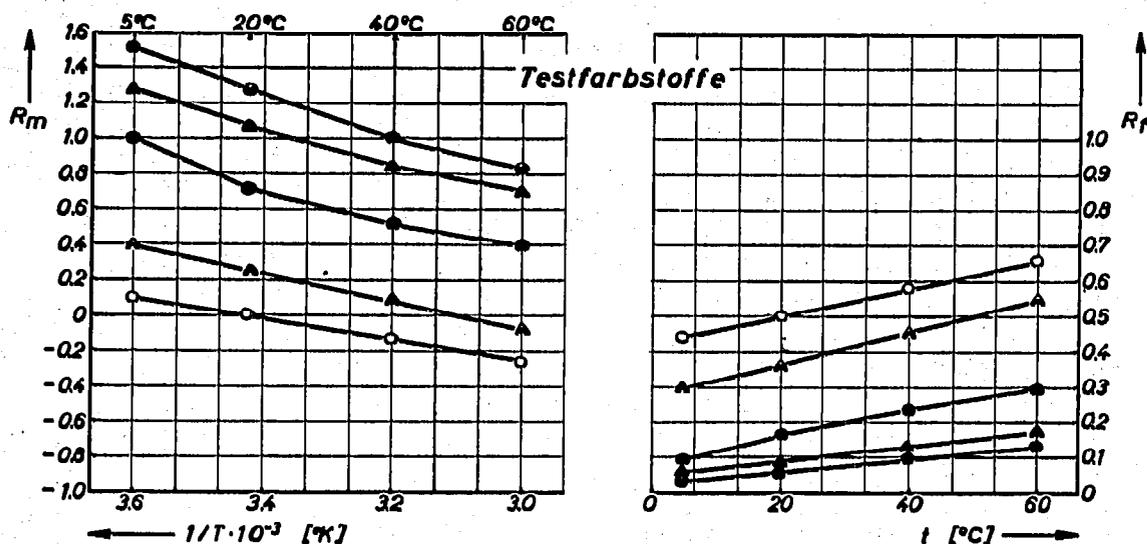


Fig. 3. Temperaturabhängigkeit von  $R_F$  und  $R_M$  bei Kieselgel-H (Merck); 58% r.F.; Fließmittel: Toluol; Testfarbstoffe.

reinen Temperatureffekt zu erwartende Erhöhung der  $R_F$ , womit die eingangs erwähnte scheinbar geringe Temperaturabhängigkeit der  $R_F$  erklärt ist. Fig. 5 zeigt noch einmal diesen schon früher veröffentlichten<sup>5</sup> Sachverhalt\*. Bei konstanter Absolutfeuchte nehmen die  $R_F$  mit der Temperatur leicht ab, bei konstanter rel. Feuchte steigen sie—wie theoretisch vorausgesagt—klar an.

Kühlt man ein Chromatographiergefäß mit Platte *ohne Klimakontrolle* (d.h. bei konstanter Absolutfeuchte) unter Zimmertemperatur ab, so steigt automatisch die relative Feuchte an, die Aktivität fällt, und man kommt schnell in einen Bereich, wo

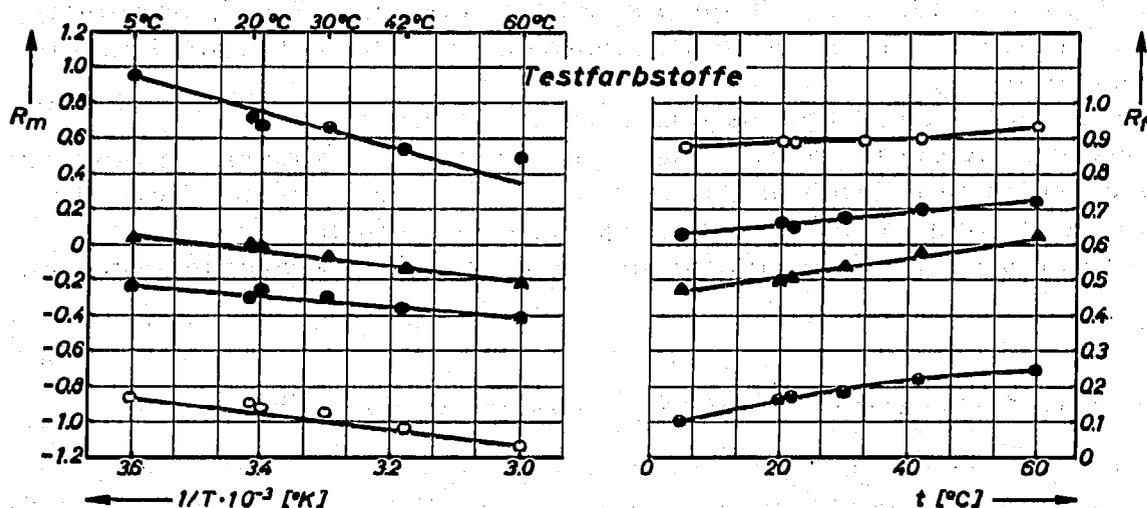


Fig. 4. Temperaturabhängigkeit von  $R_F$  und  $R_M$  bei Aluminiumoxid-G (Merck); 38% r.F.; Fließmittel: Toluol; Testfarbstoffe.

\* Diese älteren Messungen waren bei höheren Temperaturen noch mit einer gewissen Unsicherheit behaftet; ihre Aussage ist dennoch eindeutig.

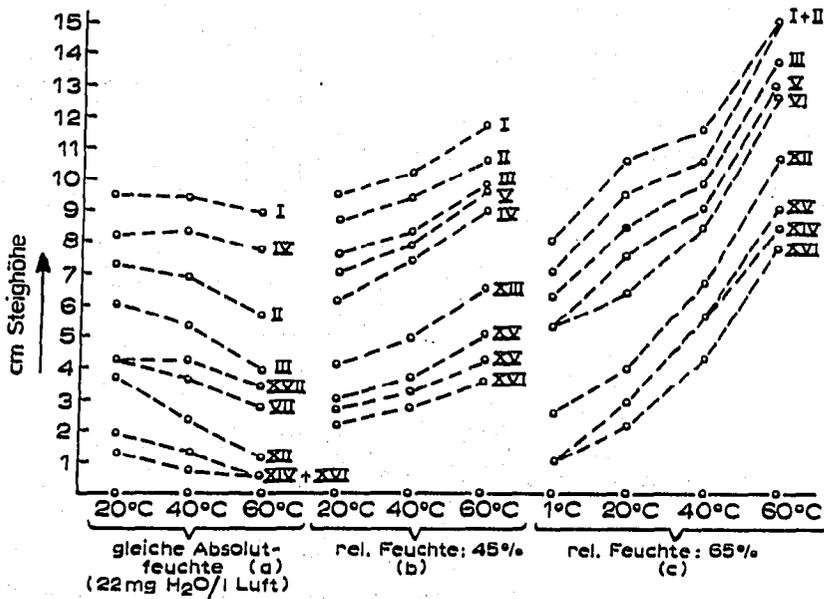


Fig. 5. Temperaturabhängigkeit der  $R_F$  bei (a) konstanter Absolutfeuchte, (b) und (c) konstanter relativer Feuchte. Aluminiumoxid-G (Merck); *n*-Heptan; Testgemisch: diverse Polyphenyle.

je nach Adsorbens die Flecken zunehmend diffus werden und die Trennung schliesslich zusammenbricht: Bereits beim Abkühlen einer Atmosphäre von 50% r.F. bei 22° auf 14.8° steigt diese auf 79% an, d.h. auf eine Sättigung, bei der—wie an anderer Stelle<sup>8</sup> berichtet—30% der getesteten handelsüblichen Kieselgele nicht mehr zu verwenden sind. Sehr unübersichtlich werden die Verhältnisse dann, wenn die Kammer mit Papier ausgekleidet ist, dessen beträchtliche Wasserkapazität—neben derjenigen der Schicht selbst—die zwangsläufigen Effekte der Temperaturänderungen maskieren oder ins Gegenteil verkehren kann. Es handelt sich hier jedoch um ein Scheinproblem, da man nach unserer Meinung in der DC in der Mehrzahl der Fälle nicht ohne Feuchtekontrolle arbeiten sollte.

Fassen wir die bisherigen Ergebnisse hier zusammen:

(1) Bei konstanter Absolutfeuchte bringen Temperaturänderungen von wenigen Grad nur *geringe* und in ihrer Richtung unbestimmte  $R_F$ -Änderungen. Dieses Verfahren sollte aber aus prinzipiellen Erwägungen vermieden werden.

(2) Bei konstanter rel. Feuchte steigen die  $R_F$  mit der Temperatur monoton an

## TABELLE II

### BEZIEHUNG REL. FEUCHTE-TEMPERATUR BEI WÄSSRIGEN SCHWEFELSÄURELÖSUNGEN

$H_2SO_4$ , 52.1%ig		$H_2SO_4$ , 54.0%ig	
10°	32.8%	10°	28.2%
20°	33.0%	20°	28.5%
25°	33.2%	25°	29.4%
30°	33.5%	30°	29.8%
35°	34.1%	35°	29.8%
		40°	29.8%

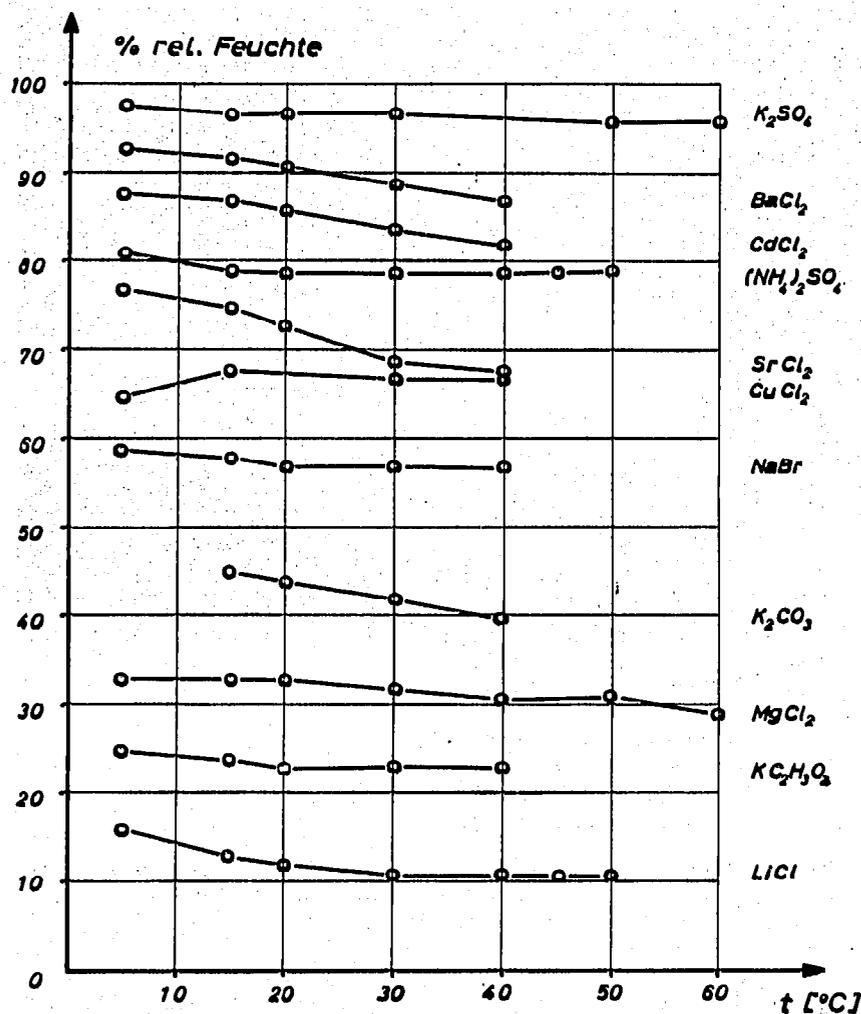


Fig. 6. Temperaturabhängigkeit der rel. Feuchte über gesättigten Salzlösungen (aus Lit. 9-11).

(geprüft an  $Al_2O_3$  und  $SiO_2$ ). Dieser Anstieg variiert etwas je nach Substanz, Material und (konstanter) relativer Feuchte. Er liegt bei 3-5  $hR_F$ -Einheiten/ $10^\circ$ .

(3) Bei hohen (konstanten) rel. Feuchten ist der  $R_F$ -Anstieg mit steigender Temperatur stärker als bei niedrigen.

(4) Temperaturänderungen brachten in den untersuchten Fällen keine nennenswerte Beeinflussung des Trennergebnisses. Wo dies in Spezialfällen dennoch der Fall sein sollte, kann mit einfacheren Mitteln dasselbe meist ebenso erreicht werden (r.F., pH, anderes Eluens etc.).

(5) Oberhalb  $40^\circ$  werden die Flecken zunehmend diffus.

Kommen wir noch zu zwei praktischen Aspekten des Temperatureffekts. Wenn man zur Erzielung reproduzierbarer Trennungen keinen Klimaschrank zur Verfügung hat, kann man sich der im Handel erhältlichen Klimakammern\* bedienen. Letztere arbeiten mit Schwefelsäure- oder gesättigten Salzlösungen, erlauben aber keine Thermostatisierung gegen schwankende Labortemperaturen. Welcher Schwankungs-

\* GS-Klimakammer (Desaga); Camag-Klimakammer.

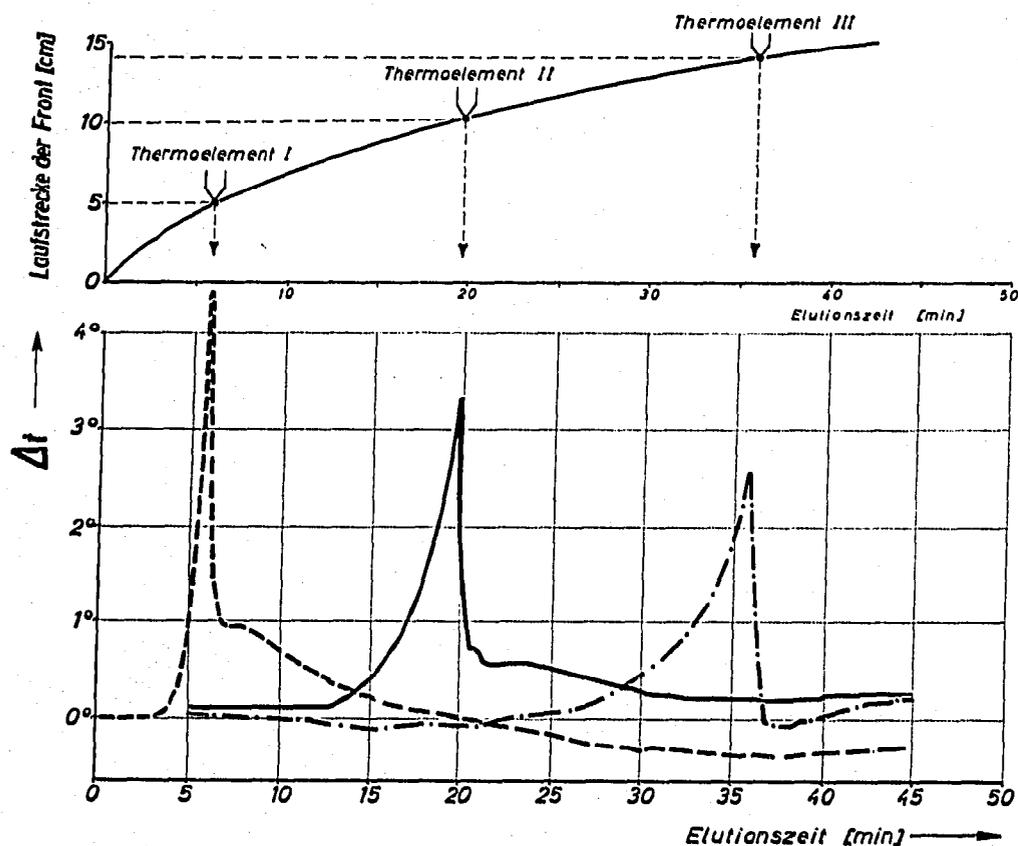


Fig. 7. Temperaturerhöhung der DC-Schicht infolge Adsorptionswärme des Fließmittels Kieselgel-PF (Merck); Benzol; 55% r.F.; Schichtdicke 1.5 mm. Die Temperaturspitzen werden exakt beim Erreichen der Messstelle durch die Front angezeigt; 2. Lötstelle bei Raumtemperatur.

bereich der  $R_F$  ist durch sie zu erwarten? Die rel. Feuchte über gesättigten Salzlösungen nimmt in der Regel mit steigender Temperatur zwischen 0–40° leicht\* und gleichförmig ab<sup>9,10</sup>; s. dazu auch Fig. 6 und Tabelle II.

Nach dem zuvor Gesagten liegt damit bei den Klimakammern die durch Schwankungen der Labortemperatur verursachte Unsicherheit der  $R_F$  mit Sicherheit innerhalb der allgemeinen Reproduzierbarkeitsmarge der DC von  $\pm 2 hR_F$ .

Zum Schluss ist noch ein weiterer Temperatureffekt in der DC zu behandeln, der indirekt die Reproduzierbarkeit der  $R_F$  wesentlich beeinträchtigen kann, nämlich die beim Aufsteigen des Fließmittels freiwerdende *Adsorptionswärme*. Die dadurch bewirkte Erwärmung haben wir für Benzol mit Thermoelementen an drei übereinanderliegenden Stellen der Schicht\*\* gemessen (Fig. 7).

Die maximale Temperaturerhöhung beträgt ca. 4°; die Spitzen erscheinen genau beim Überqueren der Messstellen durch das Fließmittel. Für Wasser liegen sie um 20% höher; sonst ist der Kurvenverlauf analog. Interessant ist, dass die Temperaturerhöhung bei den oberen Messstellen schon einige Minuten früher beginnt als die Front die Lötstelle erreicht. Dies beweist die Vorbedampfung der Schicht mit Fließmittel durch Diffusion über die Gasphase, selbst bei aufsteigender Elution.

Dieser Temperaturschwall bewirkt auf der Höhe der aufsteigenden Front ver-

\* Eine stärkere Abnahme zeigen  $Zn(NO_3)_2$ ,  $LiNO_3$ ,  $Ca(NO_3)_2$ ,  $CoCl_2$  und  $ZnSO_4$ <sup>11</sup>.

\*\* 1.5 mm, Kieselgel PF Merck, 55% r.F.

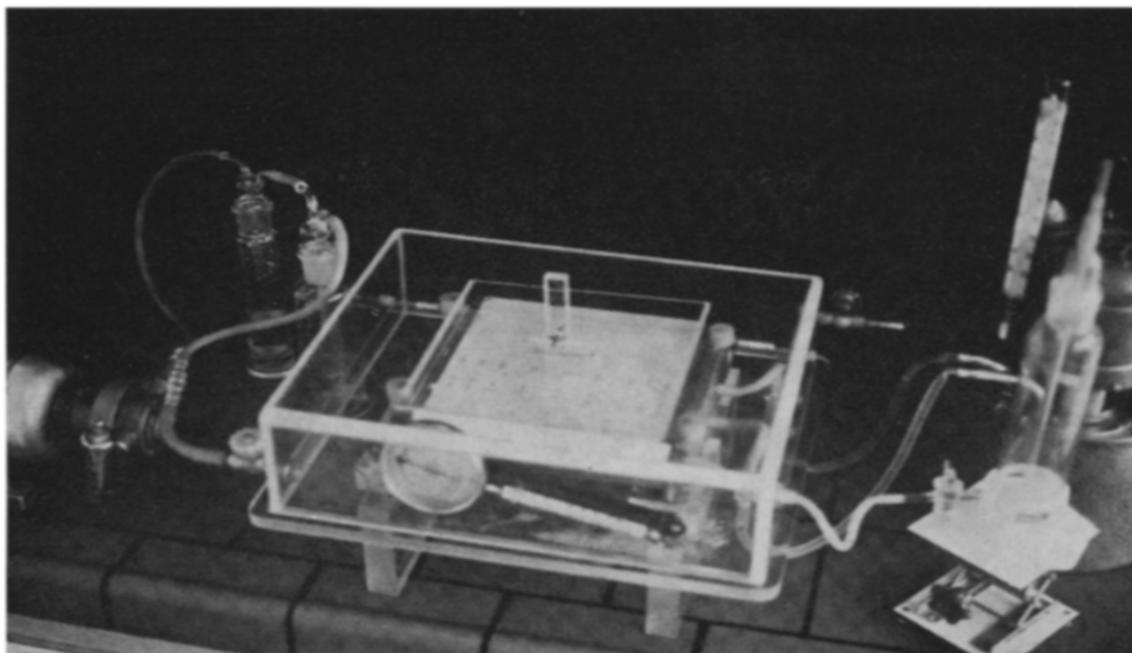


Fig. 8. Klimagehäuse für die BN-Kammer.

stärkte Verdampfung des Fließmittels. Die Dämpfe haben erhöhte Temperatur gegenüber der Deckplatte moderner Schmalkammern, wo sie meist kondensieren—und zwar unregelmässig—und aus dem chromatographischen System ausscheiden. Dies führt wiederum zu einem erhöhten Fließmitteldurchsatz mit erhöhten und ungleichmässigen  $R_F$ . In der BN-Kammer ist dafür durch eine eingebaute Kühlung Abhilfe geschaffen. Eine Temperaturerniedrigung der Schicht gegenüber der Deckplatte von 2–3° genügt, um auch die Dämpfe kühl genug zu halten, sodass sie nicht mehr auf der Deckplatte kondensieren. Die Unterdrückung der Kondensation\* eliminiert Fehler der  $R_F$ , die bis zu 40% betragen können. Die Vorteile der BN-Kammer kommen allerdings erst dann voll zur Geltung, wenn man sie in ein klimatisierbares Behältnis setzt. Fig. 8 zeigt, wie wir dies bewerkstelligt haben.

#### DANK

Wir danken Herrn S. SANDRONI und Frau H. GEISS für wichtige experimentelle Beiträge.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Nach einem Abriss der mathematischen Beziehungen wird der Temperatureinfluss auf die Wasseradsorptionsgleichgewichte für die DC-Adsorbentien beschrieben. Die  $R_F$ -Werte steigen nur dann eindeutig mit der Temperatur an, wenn man die relative Feuchte konstant hält. Die relative Feuchte über gesättigten Salzlösungen ist von der Temperatur praktisch unabhängig (Diagramm). Auf der Höhe der auf-

\* Die auch Zugluft im Raum zur Ursache haben kann.

steigenden Fließmittelfront ist die Schicht durch die Adsorptionswärme momentan 4° wärmer, was zu Kondensationen auf der Deckplatte in Schmalkammern führt, denen aber in der horizontalen BN-Kammer abgeholfen werden kann.

#### LITERATUR

- 1 M. BRENNER, A. NIEDERWIESER, G. PATAKI UND A. R. FAHMY, *Experientia*, 18 (1962) 101.
- 2 M. S. J. DALLAS, *J. Chromatog.*, 17 (1965) 267.
- 3 M. BRENNER, in K. MACEK UND I. M. HAIS (Editors), *Stationary Phase in Paper and Thin Layer Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, 1965, S. 67.
- 4 G. HESSE, H. ENGELHARDT UND W. KOWALLIK, *Z. Anal. Chem.*, 214 (1965) 81.
- 5 F. GEISS UND H. SCHLITT, *Naturwiss.*, 50 (1963) 350.
- 6 F. GEISS, H. SCHLITT UND A. KLOSE, *Z. Anal. Chem.*, 213 (1965) 321.
- 7 F. GEISS, H. SCHLITT, F. J. RITTER UND W. M. WEIMAR, *J. Chromatog.*, 12 (1963) 469.
- 8 F. GEISS, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 9.
- 9 A. WEXLER UND S. HASEGAWA, *J. Res. Natl. Bur. Std.*, 53 (1954) 19.
- 10 *International Critical Tables*, Bd. I, S. 67.
- 11 LANDOLT-BÖRNSTEIN, *Zahlenwerte und Funktionen*, IV, 4a Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1967, S. 159.

#### DISCUSSION

ACKERMANN: In one of the tables an increase in temperature is accompanied by an increase in water content. How can this be explained?

GEISS: We do not know. We have just registered it.

ACKERMANN: Desorption of water which is liable to occur on account of decreasing relative humidity in the chamber and increasing temperature is inevitably followed by cooling of the layer. Does this influence the separation process?

GEISS: The temperatures were established in climatized cabinets under simultaneous control of temperature und humidity. Development starts only some 30 min after equilibrium is achieved.

*J. Chromatog.*, 33 (1968) 208-216