

CHROM. 3661

UNTERSUCHUNGEN ZUR ELEKTROSTATISCHEN AUFLADUNG TRITIUMMARKIERTER DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAMME WÄHREND IHRER AUSMESSUNG AM FENSTERLOSEN PROPORTIONALZÄHLROHR

GEORG RABITZSCH

*Institut für Kreislaufforschung der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin,
Berlin-Buch (D.D.R.)*

(Eingegangen den 19. Juni 1968)

SUMMARY

Investigation of the electrostatic charge of tritium-labelled thin-layer chromatograms during their measurement with a windowless proportional counter

The positive surface potentials, which occur when measuring the activity of insulated ^3H -labelled thin-layer chromatograms with windowless counters, are characterized as regards magnitude and development as well as by their influence on the size of the error of the activity measurements. A measuring arrangement is described, whereby the occurrence of this type of electrostatic effect is prevented by continuous grounding of the charge. In this way the count rate constancy and reproducibility necessary for a quantitative evaluation of the labelled thin-layer chromatograms is guaranteed without loss of efficiency.

Die Vorlage halb- oder nichtleitender Aktivitätsträger kann bei fensterloser Messung von Tritium mit Proportionalzählrohren zu Feldstörungen bzw. zeit- und aktivitätsabhängigen elektrostatischen Aufladungserscheinungen an der Trägeroberfläche führen. In Form sich daraus ableitender Zählratenänderungen üben diese einen mehr oder weniger grossen Einfluss auf Effektivität und Reproduzierbarkeit der Messergebnisse aus. Für Messungen von ^3H -Festpräparaten eliminierten deshalb BANKS und Mitarbeiter¹ die elektrostatische Aufladung durch Graphitzugaben zum Messpräparat und erreichten eine 10-fach geringere Standardabweichung. SPANG UND GEBAUHR² erhöhen die Leitfähigkeit ihrer auf Papier isolierten Messproben durch Aufdampfen einer Silberschicht.

SCHÜRFELD UND WEGNER³ und später auch SCHMIDT⁴ prüften die Verhältnisse für ausserhalb des Detektors angeordnete ^3H -Aktivitätsträger mit geringem Leitvermögen, wie dies bei der fensterlosen Ausmessung von Radiodünnschicht- und Radiopapierchromatogrammen mit Gasdurchflusszählrohren (Schlitzblende) gegeben ist. Es konnte gezeigt werden³, dass neben den im empfindlichen Zählervolumen direkt erfassten β -Teilchen in sehr beträchtlichem Masse extern gebildete negative, sekundäre Ladungsträger in die Registrierung eingehen. Bei Verwendung nichtleitender Aktivitätsträger werden letztere jedoch durch die in Abhängigkeit von der Gasver-

stärkung sich ausbildende positive Oberflächenladung des Trägers partiell abgesaugt und von der Registrierung ausgeschlossen. Den hieraus resultierenden Zählratenänderungen kann durch Überführung des Trägers in einen leitfähigen Zustand oder durch Abfangen der extern gebildeten negativen sekundären Ladungsträger begegnet werden. Während SCHMIDT^{4,5} für die Messung von ³H-markierten Papierchromatogrammen mit offenem Proportional-Doppelzählrohr die Leitfähigkeit des Trägermaterials durch Aufsprühen einer Graphit-Suspension erhöht und so bei einem Absorptionsverlust von nur 7 % eine Papieraufladung verhindert, schliessen SCHÜRFELD UND WEGNER³ bei der Untersuchung nichtleitender Modell-Präparate (³H-Auftragung auf Glasplatte) die extern gebildeten negativen sekundären Ladungsträger durch den Aufbau eines künstlichen elektrischen Feldes (Gitterblende) vor der Schlitzblende von der Registrierung aus. In dieser Anordnung steht jedoch dem Vorteil der Zählratenkonstanz ein durch die totale Eliminierung der sekundären und wahrscheinlich partiellen Absorption der primären Ladungsträger hervorgerufener starker Empfindlichkeitsabfall um den Faktor 5–10 gegenüber. Zusätzlich erhöht sich die Abstandsempfindlichkeit (Abstand Blende–Chromatogrammoberfläche) der Messanordnung beträchtlich.

Untersuchungen zur Fehlerbreite quantitativer radiodünnschichtchromatographischer Messungen⁶ veranlassten uns, die an regulären tritiummarkierten Dünnschichtchromatogrammen vorliegenden-Verhältnisse mit dem Ziel einer vollständigen Eliminierung der elektrostatischen Aufladung bei unveränderter Messeffektivität und Abstandsempfindlichkeit zu prüfen. Wie vergleichende Impuls- und Potentialmessungen unter Verwendung isolierender und leitender Chromatogrammträger ergaben, kann durch intensiven und grossflächigen Kontakt der Dünnschichtchromatogramme mit erdableitenden Unterlagen die Bildung statischer Aufladungen auf Chromatogrammen ausgeschlossen und auch bei Tritium ohne jeden Empfindlichkeitsabfall die für eine quantitative Auswertung erforderliche Konstanz der Zählraten erreicht werden.

MATERIAL UND METHODEN

Die in üblicher Weise auf Glasplatten (10 × 20 cm) aufgebrachten Kieselgelschichten (Kieselgel G Merck) besaßen eine ausgemessene Schichtdicke von 200 µm ± 5 %⁷. Als tritiumhaltiges Material fand Digitoxin-(u-³H)⁸ mit einer spezifischen Aktivität von 288 mC/mMol. Verwendung. Um eine gleichmässige und reproduzierbare Verteilung des Nuklides in der Trägerschicht und damit an der Oberfläche zu gewährleisten, wurden sämtliche Untersuchungen nur an chromatographierten DC-Platten vorgenommen (Äthylacetat–Methanol-Systeme).

Die Aktivitätsmessung der Chromatogramme erfolgte an einem mit dem Gasdurchflusszähler VA-Z-530* (mit modifizierter Zähl drahtanordnung) ausgestatteten Radiodünnschichtchromatographen⁶. Der Abstand zwischen Schlitzblende (2 mm) und Chromatogrammoberfläche betrug gleichbleibend 0.5 mm⁷. Messdaten: Eingangsempfindlichkeit 2 mV, Arbeitsspannung (U_H) 3.15 kV, Methanfluss 2 l/h; Scanner- und Bandschreiber-Geschwindigkeit: 600 mm/h.

* VEB Vakutronik, Dresden.

Zur direkten Ausmessung der elektrostatischen Oberflächenladung der Chromatogramme fand entsprechend der in Fig. 1 dargestellten Schaltung ein Schwingkondensatorelektrometer vom Typ VA-J-51* Verwendung. Der Potentialabgriff auf

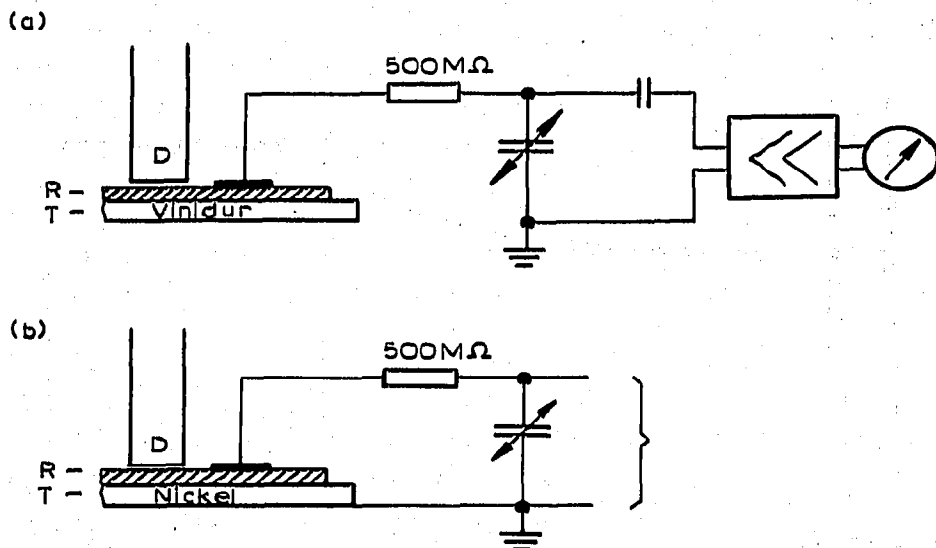


Fig. 1. Schaltskizze zur Ausmessung der elektrostatischen Aufladung an Chromatogrammoberflächen. Radiodünnschichtchromatograph: D = Detektor VA-Z-530; R = Radiodünnschichtchromatogramm; T = Chromatogramm-Transporteinrichtung. a) Chromatogramm-Träger (= Transportschlitten des Radiodünnschichtchromatographen) isoliert; Vinidurplatte. b) Chromatogramm-Träger mit Erdableitung; Nickelplatte.

der Schichtoberfläche erfolgte mit einer 2×4 cm grossen Kupferfolie. Der Eingangswiderstand der Messanordnung betrug $10^{11} \Omega$. Als nichtleitender Chromatogramm-Träger (Bestandteil der Transporteinrichtung des Radiodünnschichtchromatographen) diente Vinidur (Fig. 1a), während durch intensiven breitflächigen Kontakt (Wasserfilm) des Chromatogramms mit einer separat geerdeten Nickelplatte (14×24 cm) die Möglichkeit der Potentialableitung (Fig. 1b) geprüft wurde.

ERGEBNISSE

Die Untersuchungen gingen von den in Fig. 2 und 3 wiedergegebenen Befunden aus. Bei fehlender Ableitung, d.h. bei Chromatogramm-Unterlagen aus isolierendem Material (Vinidur), resultiert bei fortlaufender, wiederholter Ausmessung ein und desselben Tritiumpeaks (Fig. 2a) ein eindeutiger zeitabhängiger Abfall der Flächen- bzw. maximalen Impulshöhenwerte (I_{max}). Während der Gesamtmessdauer für eine 5-fache Ausmessung von 6 min sinken die I_{max} -Werte von 3600 auf 2700 Imp. \times min $^{-1}$ (= 75 % des Ausgangswertes) ab, wobei die Differenz zwischen der 1. und 2. Integration mit 13 % am höchsten liegt. Ein analoges Bild ergibt sich für die entsprechende Darstellung einer stationären ^3H -Quelle gegen die Zeit (Fig. 3a). Dagegen beweist die vergleichende Messung unter Verwendung einer Nickelplatte mit Erdableitung als Chromatogramm-Unterlage, sowohl für die wiederholte Aufzeichnung ein und desselben Peaks (Fig. 2b; Gesamtmesszeit für 4 Messungen: 6 min) als auch bei Vorlage

* VEB Vakutronik, Dresden.

einer stationären ^3H -Quelle (Fig. 3b), dass durch eine in dieser Anordnung vorgenommene Ableitung die Ausbildung einer statischen Aufladung der Chromatogrammoberfläche vermieden und damit die erforderliche Zählratenkonstanz erzielt werden

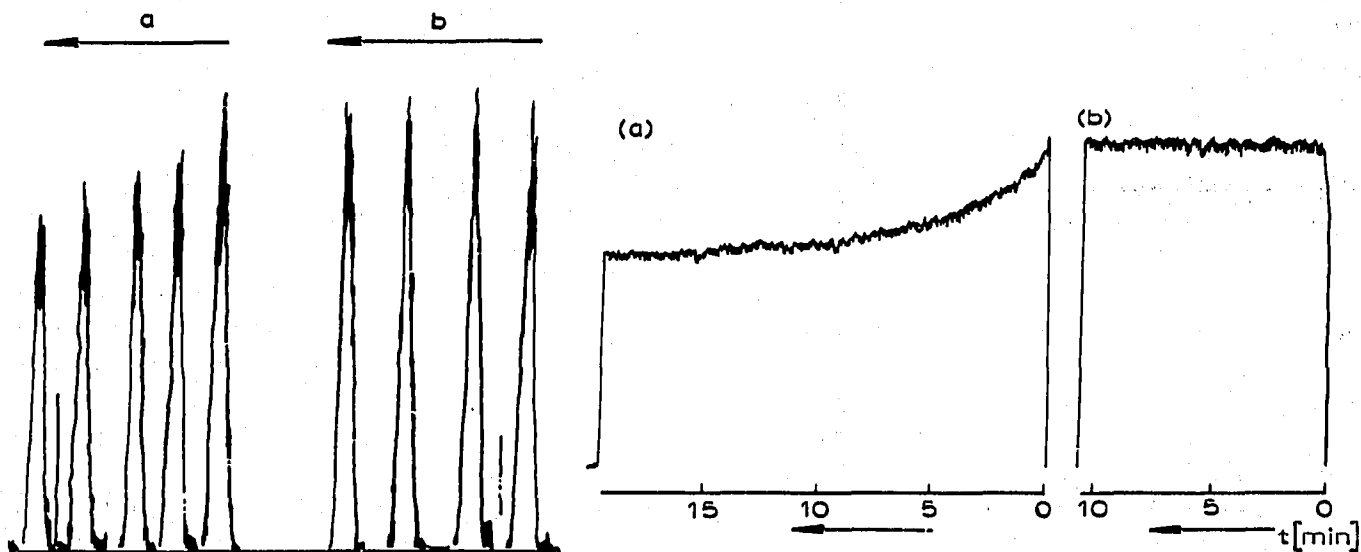


Fig. 2. Aktivitätsverteilungskurven eines ^3H -markierten Dünnschichtchromatogramms; aufgenommen (a) ohne und (b) mit Ableitung (wiederholte Aufzeichnung eines ^3H -Peaks; Integrationsbereich: $6 \times 10^3 \text{ Imp.} \times \text{min}^{-1}$).

Fig. 3. Vergleichende Entwicklung der I_{max} -Werte einer stationären ^3H -Quelle gegen die Zeit (Integrationsbereich: $6 \times 10^3 \text{ Imp.} \times \text{min}^{-1}$); (a) ohne; (b) mit Ableitung.

kann. Hiervon ausgehend, wurden die Grösse und Charakteristik der Oberflächenladung (U_{Ch}) in Funktion der Zeit (t), Aktivitätsmenge (A) und Zählrohrspannung (U_H) sowie vergleichend die Entwicklung der maximalen Impulsdichte in verschiedenen Aktivitätsniveaus mit und ohne Ableitung untersucht.

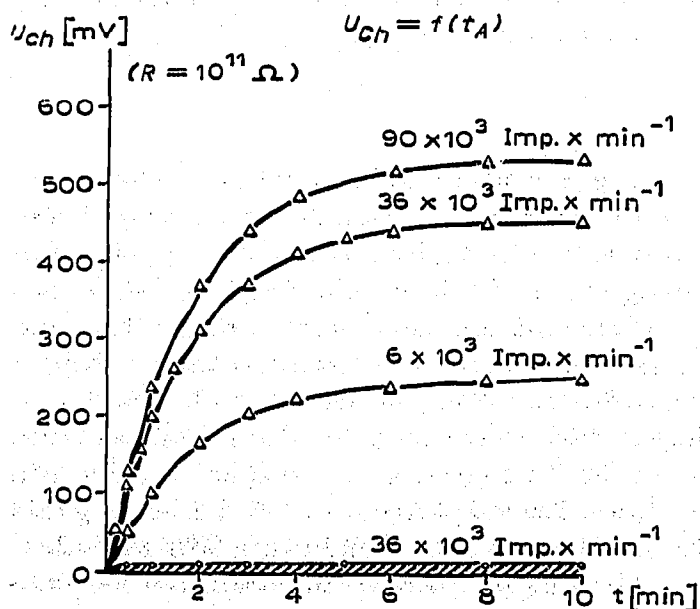


Fig. 4. Elektrostatische Aufladung der Chromatogrammoberfläche (U_{Ch}) in Abhängigkeit von Messzeit (t) und Aktivität (A). (Δ — Δ) ohne Ableitung; (\circ — \circ) mit Ableitung.

$$U_{Ch} = f(t_A)$$

Die Potentialmessung erfolgte nach sorgfältiger Abschirmung bei einem Eingangswiderstand des Messgerätes von $R = 10^{11} \Omega$. In Übereinstimmung mit der Impulsratenentwicklung ist bei fehlender Ableitung nach Zuschaltung der Zählrohrspannung ein sofortiger steiler Anstieg der U_{Ch} -Werte zu verzeichnen, der etwa bis zur 4. Minute anhält (Fig. 4). Der nach 10 min erreichte Sättigungswert beträgt bei $36 \times 10^3 \text{ Imp.} \times \text{min}^{-1}$ $450 \pm 18 \text{ mV}$ ($\bar{x} \pm s$; $n = 3$)*.

Der aus den 1, 2, 4 und 10 Minuten-Werten von 3 separaten Messreihen ($36 \times 10^3 \text{ Imp.} \times \text{min}^{-1}$) gebildete Mittelwert der relativen Standardabweichungen der Einzelwerte von $\pm 4.3 \%$ unterstreicht den bei gleichbleibenden Bedingungen konstanten Verlauf der Potentialbildung. Der Wert des Anstiegswinkels sowie die absolute Höhe der Potential-Sättigung (in mV) steht, wie vergleichende Messungen mit zwei weiteren Aktivitätsniveaus von 6 und $90 \times 10^3 \text{ Imp.} \times \text{min}^{-1}$ zeigen, in Abhängigkeit von der ³H-Aktivität der Vorlage. Im Gegensatz hierzu unterbleibt bei Verwendung eines leitenden Trägers der Aufbau einer elektrostatischen Chromatogramm-Aufladung. Das Oberflächenpotential erhöht sich unter einer Aktivität von $36 \times 10^3 \text{ Imp.} \times \text{min}^{-1}$ nur geringfügig auf maximal 12 mV.

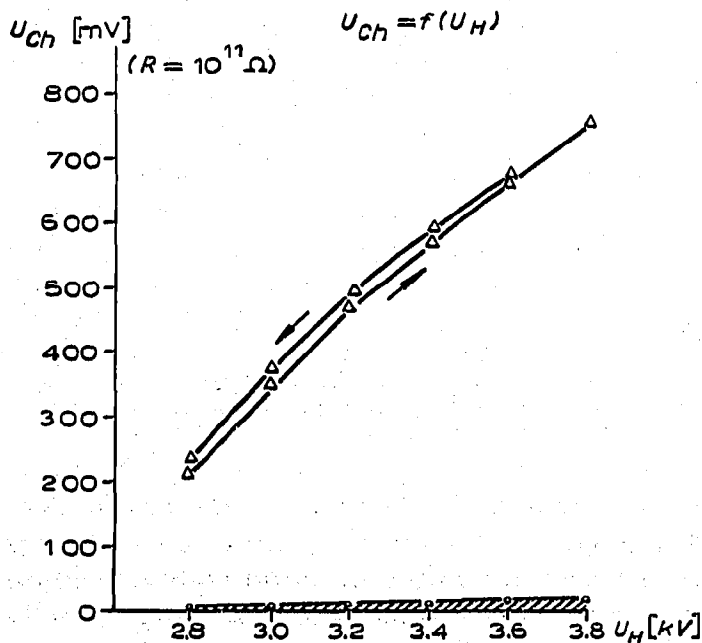


Fig. 5. Elektrostatische Chromatogramm-Aufladung (U_{Ch}) in Abhängigkeit von der Zählrohrspannung (U_H); gemessene Aktivität: $36 \times 10^3 \text{ Imp.} \times \text{min}^{-1}$; Einstellungsbewegung zwischen den Messpunkten: $\approx 10 \text{ mV} \times \text{min}^{-1}$; ($\Delta - \Delta$) ohne Ableitung; ($\circ - \circ$) mit Ableitung.

$$U_{Ch} = f(U_H)$$

Messungen zum Einfluss des Gasverstärkungsfaktors (Fig. 5) auf die Ausbildung des Oberflächenpotentials zeigen für $36 \times 10^3 \text{ Imp.} \times \text{min}^{-1}$ im Bereich von 2.8–3.8 kV (U_H) bei fehlender Ableitung mit einem Anstieg von 200 auf 750 mV (U_{Ch}) eine fast lineare Beziehung der U_{Ch} -Werte, die auch bei absteigender Messung

* $s = \pm \sqrt{\frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$.

nur eine unbedeutende Verschiebung erfahren. Die Einstellungsbewegung zwischen den Messpunkten beträgt $\approx 10 \text{ mV} \times \text{min}^{-1}$. Die entsprechenden Ableitungswerte bewegen sich von 5 auf 17 mV.

$$I_{\max} = f(t_A)$$

Zur Frage des Einflusses der dargestellten Potentialbildung auf die Zählratenkonstanz und damit auf die Fehlerbreite radiodünnschichtchromatographischer Messungen wurde die Entwicklung der Impulsdichten in 3 verschiedenen Aktivitätsniveaus mit und ohne Ableitung gegen die Zeit verfolgt (Fig. 6). Während eine Potentialableitung die Konstanz der Zählraten innerhalb der zulässigen Fehlerbreite

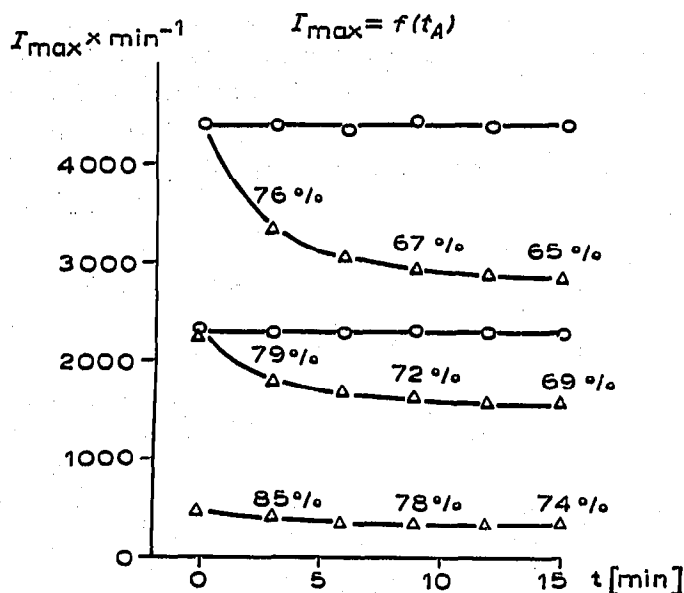


Fig. 6. Vergleichende Entwicklung der I_{\max} -Werte 3 verschiedener ^3H -Aktivitätsniveaus gegen die Zeit mit (O—O) und ohne (Δ — Δ) Ableitung; prozentuale Angaben bezogen auf Ausgangswert.

gewährleistet, bewirkt eine Chromatogramm-Aufladung in allen untersuchten Aktivitätsbereichen bereits nach einer Messdauer von 2 min eine negative Abweichung vom Ausgangswert von $> 13\%$. In Übereinstimmung mit den Potentialmessungen wird die Geschwindigkeit sowie die absolute Grösse des Abfalls durch das vorgegebene Aktivitätsniveau beeinflusst. Nach 15 min beträgt die Abweichung je nach Aktivität minus 25–35%.

DISKUSSION

Die Isolierung tritiummarkierter Dünnschichtchromatogramme durch Verwendung nicht oder schlecht leitender Trägereinrichtungen (Vinidur) (Fig. 1a) führt im Verlauf ihrer Ausmessung mit fensterlosen Gasdurchflusszählrohren in Abhängigkeit von Messzeit, Aktivitätsmenge (Fig. 4) und Gasverstärkungsfaktor (Fig. 5) zur Ausbildung unterschiedlich grosser, positiv geladener Oberflächenpotentiale. Die hierbei durch Bindung der sekundären negativen Ladungsträger hervorgerufenen Zählratenverluste können je nach vorliegendem Aktivitätsniveau bis 35% des Ausgangs-

wertes betragen (Fig. 6). Bei konstanter Gasverstärkung besteht zwischen der Charakteristik direkter Potentialmessungen an der Chromatogrammoberfläche und der Entwicklung der Impulsdichte eine generelle, zeitabhängige Übereinstimmung. Der Potentialanstieg, wie auch der ihm entsprechende Zählratenabfall, erreicht nach rascher Anfangsentwicklung nach 10 bzw. 15 min einen Grenzwert, der, ebenso wie der Anstiegswinkel, in seiner Grösse wesentlich vom vorliegenden Aktivitätsniveau beeinflusst wird. Der demonstrierte Zählratenabfall, der nach 3 min bereits bei 15–25 % liegt, geht damit in dieser Grössenordnung in die Fehlerbreite der Scanner-Messungen ^3H -markierter Dünnschichtchromatogramme ein (Fig. 2a) und kann bei Messungen mit kleinen Vorschubwerten (60–200 mm/h) sogar innerhalb der Impulsmessung ein und desselben Peaks (bei durchschnittlichen Fleckendurchmesser von 5 mm Messdauer: 5–1.5 min) zur Auswirkung gelangen. Damit wird die Reproduzierbarkeit quantitativer Aussagen weitgehend in Frage gestellt.

Für die somit erforderliche Eliminierung der elektrostatischen Aufladung kam eine Chromatogramm-Behandlung mit Graphit⁴ aus Gründen einer möglichen Beeinträchtigung der an die Aktivitätsmessung sich im Bedarfsfall anschliessenden quantitativ-chemischen Bestimmungen bzw. präparativen Isolierung der markierten Verbindungen nicht in Betracht. Ebenso erschien uns die Verwendung einer Gitterblende³ wegen des damit verbundenen 5- bis 10-fachen Empfindlichkeitsverlustes (durch Ausschaltung der sekundären Ladungsträger) sowie der wesentlich erhöhten Abstandsempfindlichkeit nicht vertretbar.

Unter der Voraussetzung einer partiellen Leitfähigkeit des Kieselgel G infolge seines Gehaltes an Metall-Ionen⁹, besonders Eisen, und der Annahme einer gewissen Beweglichkeit der Oberflächenladung über kurze Glasabschnitte (Feuchtigkeitsfilm etc.), prüften wir die Möglichkeit der direkten und kontinuierlichen Erdableitung des Oberflächenpotentials durch optimalen Flächenkontakt mit einem an der Unterseite des Chromatogramms befindlichen Erdleiter. Durch Impulsdichtemessungen mit bewegter (Fig. 2b) und stationärer ^3H -Quelle (Fig. 6) sowie durch direkte Potentialmessungen (Fig. 4) konnte gezeigt werden, dass in dieser Anordnung der Aufbau einer positiven Oberflächenladung bei ^3H -markierten Dünnschichtchromatogrammen unterbunden werden kann, und die für ihre quantitative Auswertung erforderliche Zählratenkonstanz gewährleistet ist. Da unter diesen Bedingungen die sekundären Ladungsträger der Registrierung nicht entzogen werden, bleibt die Messeffektivität im Gegensatz zur Anordnung mit vorgeschalteter Gitterblende³ unverändert erhalten. Die Abstandsempfindlichkeit erhöht sich nicht.

DANK

Fräulein S. JÜNGLING danke ich für ihre wertvolle Mitarbeit bei der Durchführung dieser Untersuchungen. Herrn Chem. Ing. O. RISTAU bin ich für seine Hinweise sehr zu Dank verpflichtet.

ZUSAMMENFASSUNG

Die bei fensterloser Aktivitätsmessung isolierter ^3H -markierter Dünnschichtchromatogramme auftretenden positiven Oberflächenpotentiale werden in Grösse und Entwicklung sowie hinsichtlich ihres Einflusses auf die Fehlerbreite der Aktivitäts-

messung charakterisiert. Es wird über eine Messanordnung berichtet, die durch kontinuierliche Ableitung der Ladung das Auftreten derartiger elektrostatischer Effekte verhindert und dadurch bei gleichbleibender Messeffektivität die für eine quantitative Auswertung radiodünnschichtchromatographischer Messungen erforderliche Zählratenkonstanz und Reproduzierbarkeit gewährleistet.

LITERATUR

- 1 T. E. BANKS, J. C. CRAWHALL UND D. G. SMYTH, *Biochem. J.*, 64 (1956) 411.
- 2 A. SPANG UND W. GEBAUHR, *Nukleonik*, 1 (1958/59) 160.
- 3 H. SCHÜRFELD UND L. A. WEGNER, *Nukleonik*, 7 (1965) 74.
- 4 H. SCHMIDT, *Isotopenpraxis*, 4 (1968) 183.
- 5 H. SCHMIDT, G. RABITZSCH UND G. SEIFERT, *Isotopenpraxis*, 4 (1968) 256.
- 6 G. RABITZSCH, *Arbeitstagung Angewandte Radioaktivität, Leipzig, 11.-14.10.1966; J. Chromatog.*, 37 (1968) 476-486.
- 7 G. RABITZSCH, *J. Chromatog.*, 37 (1968) 350-352.
- 8 G. RABITZSCH UND H. HERZMANN, *Ann. Chem.*, 685 (1965) 261.
- 9 K. RANDEATH, *Dünnschicht-Chromatographie*, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstrasse, 1962, S. 29.

J. Chromatog., 37 (1968) 241-248