

CHROM. 5997

VERGLEICH DER TRENNLEISTUNG VERSCHIEDENER
HOCHSPANNUNGSIONOPHORESE-APPARATUREN*

E. BLASIUS, A. KNÖCHEL, N. SPANNHAKE UND H. WAGNER

*Institut für Analytische Chemie und Radiochemie der Universität des Saarlandes, 6600 Saarbrücken
(B.R.D.)*

(Eingegangen am 29. Februar 1972)

SUMMARY

Comparison of the separation performance of different high-voltage ionophoresis apparatuses

The separations obtained with two self-constructed electrophoresis apparatuses are compared. Apparatus II, in which the paper strips are uniformly pressed on to a metal cooling surface, is superior to apparatus I which consists of two glass cooling plates. It is possible to determine ^{35}S -labelled products quantitatively with apparatus II since the peaks on the activity distribution curves do not usually coincide. With particularly difficult problems, such as the separation of polysulphanediphosphonates and polysulphanesulphonphosphonates, satisfactory results can only be obtained with apparatus II. Information about the chemical aspects of this work will be reported in subsequent publications.

EINLEITUNG

Bei zahlreichen Umsetzungen von Schwefelverbindungen können Sulfit und Thiosulfat sowie Sulfandisulfonate (Polythionate) im Reaktionsgemisch auftreten. Den Sulfandisulfonaten analoge Verbindungsklassen sind die Selenandisulfonate, Sulfandiphosphonate und Sulfanphosphonsulfonate.

Zur Trennung und Identifizierung aller dieser chemisch sehr ähnlichen Verbindungen ist die diskontinuierliche Zonenionophorese in Verbindung mit ^{35}S -, ^{75}Se - bzw. ^{32}P -markierten Ausgangsverbindungen gut geeignet¹⁻⁵.

Für die Ionophorese bei hohen Feldstärken sind zahlreiche Apparaturen bekannt. Hauptproblem ist die Abführung der Jouleschen Wärme. Grundsätzlich bewährt hat sich die "Sandwich-Technik", wobei der Papierstreifen von oben und unten gekühlt wird. Verdunstung und Sogströmung sind weitgehend ausgeschaltet. Die Kühlplatten bestehen entweder aus Glas⁶⁻⁸ oder aus mit Kunststoff beschichteten Metallplatten^{9,10}.

Bei anderen Anordnungen wird nur von unten mit einer isolierten Metallplatte gekühlt. Das Ionophoresepapier wird durch einen mit Luft aufblasbaren

* Die Untersuchungen wurden im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 52 "Analytik" Saarbrücken durchgeführt.

Polyäthylensack* oder eine andere federnde Abdeckung** auf die Kühlplatte aufgedrückt.

Die Pherogramme selbst werden meist nur qualitativ ausgewertet. Eine quantitative Bestimmung lässt sich nur an vollständig getrennten Zonen leicht durchführen. Für Substanzen mit gering unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeiten ist daher eine hochauflösende Ionophoreseapparatur notwendig. Aus diesem Grunde werden die beiden wichtigsten Kammertypen anhand zweier im Eigenbau hergestellten Kammern eingehend verglichen.

AUFBAU DER APPARATUREN

Gute Isolareigenschaften besitzt die Anordnung mit Glaskühlplatten¹¹, hier Apparatur I genannt. In dieser Apparatur sind im Rahmen einiger Untersuchungen Sulfandisulfonat- sowie Selenandisulfonatgemische getrennt worden.

Apparatur I (Fig. 1) besteht aus zwei gekammerten Glaskühlplatten in den Abmessungen 80 × 25 cm, durch die eine Kühlsole gepumpt wird. Zwischen die beiden Glasplatten werden die mit Grundelektrolyten getränkten Papierstreifen gelegt, deren Enden in die rechts und links der Anordnung befindlichen Elektrodenträge eintauchen.

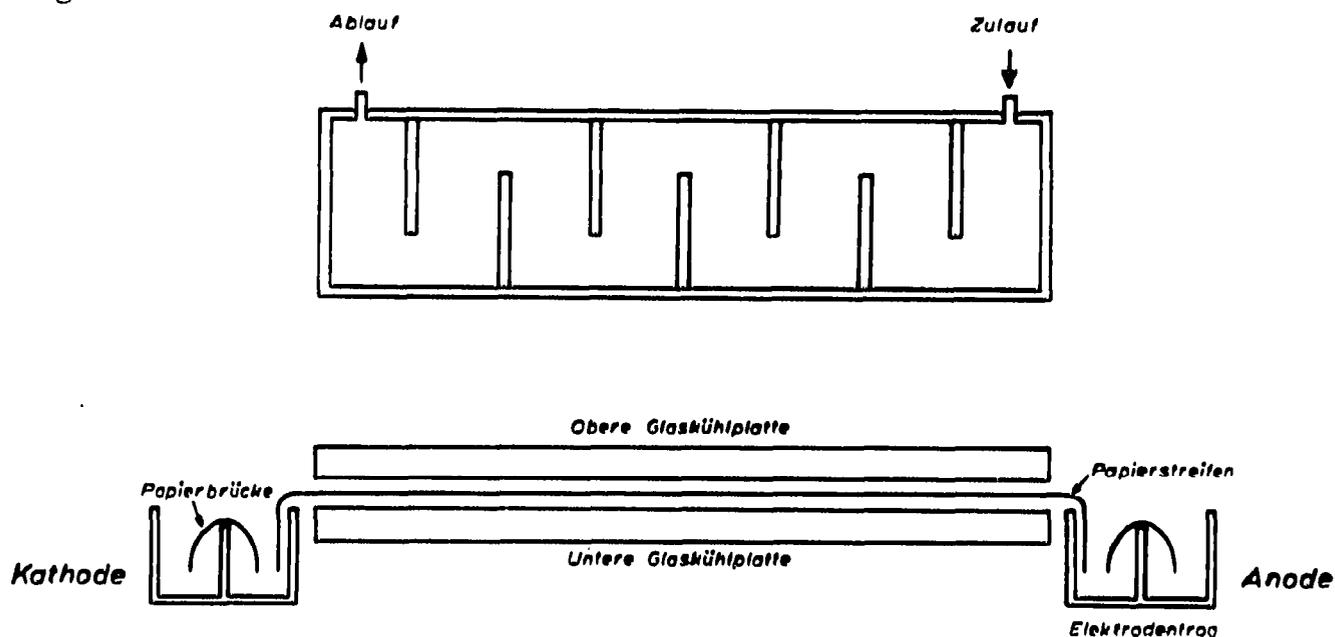


Fig. 1. Schematische Darstellung von Apparatur I mit gekammerten Glaskühlplatten.

Apparatur II (Fig. 2) besitzt dagegen nur einen aus Aluminium bestehenden Kühlblock, der 80 cm lang, 25 cm breit und 3 cm hoch ist. Innen ist dieser Kühlblock von Kanälen durchzogen, die so angeordnet sind, dass die Kühlflüssigkeit im Gegenstrom durchläuft.

Apparatur II zeigt keine Störungen durch ungenügend gekühlte Ränder, wie sie bei Apparatur I infolge der schlechten Wärmeleitung von Glas auftreten.

* Hochspannung-ionophoreseapparatur der Fa. Camag, Muttenz (Schweiz), Hornburgerstrasse 24.

** Hochspannung-ionophoreseapparatur der Fa. Shandon, Frankfurt am Main, Hafenstr. 1.

Bei Apparatur II kann es daher an der Übergangsstelle von Kühlplatte zum Elektrotrog nicht zu einem Verschmoren des Papierstreifens kommen. Ausserdem ist bei den Kanälen innerhalb der Metallkühlplatte ein Stillstand der Kühlflüssigkeit in gewissen Bereichen, wie er bei den gekammerten Glasplatten zu beobachten ist, nicht möglich. Die Metallkühlplatte gewährt somit auf der gesamten Fläche eine sehr gute und vor allem auch gleichmässige Kühlung.

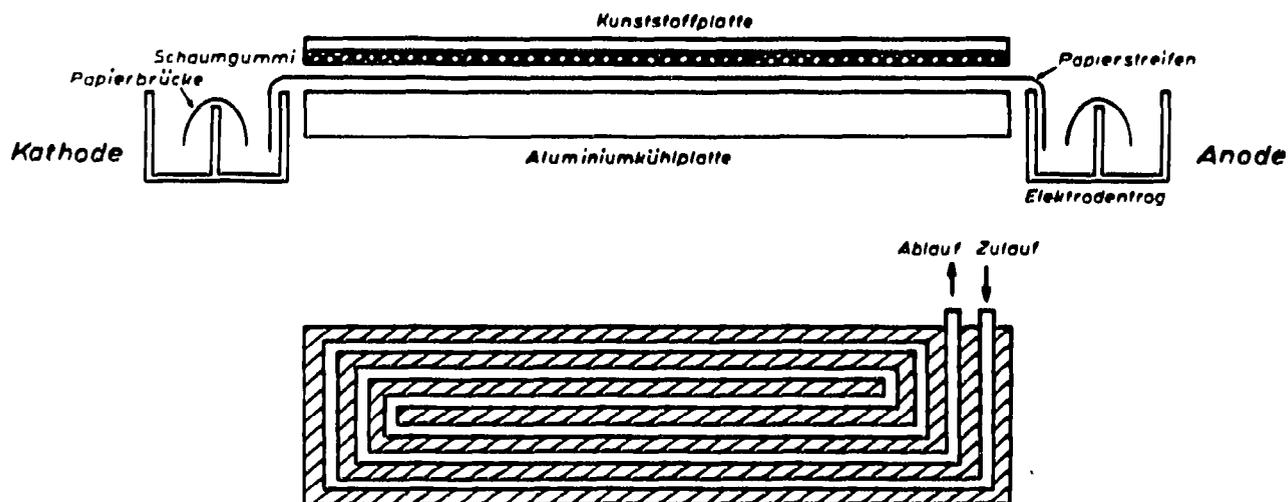


Fig. 2. Schematische Darstellung von Apparatur II mit Kühlkreissystem in der Metallplatte.

Zur Isolierung ist die Metalloberfläche mit einer selbstklebenden Kunststoffolie überzogen. Damit keine Luftblasen zwischen Metalloberfläche und Folie auftreten, muss sie mit einer Gummiwalze fest aufgepresst werden. Nach eventuellen Stromdurchschlägen lässt sich die Folie bequem und schnell auswechseln.

Auf die Kühlplatte können entweder eine beschichtete Trägerplatte oder mehrere Ionophoresepapierstreifen gelegt werden. An den beiden Schmalseiten der Anordnung befinden sich die Elektrolyttröge. Von oben wird eine weitere Folie mit einer schaumgummiüberzogenen Kunststoffplatte elastisch aufgepresst.

VERGLEICHENDE PRÜFUNG DER APPARATUREN

Ein Vergleich zahlreicher Versuchsergebnisse zeigt die Vorteile von Apparatur II gegenüber Apparatur I.

Bei Apparatur II sind die Wanderungswege gut reproduzierbar. Ein Verlaufen der Zonen durch zu grosse Feuchtigkeit bzw. Tröpfchenbildung in der Schicht zwischen den Glasplatten entfällt. Bei strichförmiger Auftragung der Analysenlösung bleibt das Profil nahezu erhalten. Ausserdem sind die Zonen meistens vollständig getrennt, eine Tatsache, die für eine nachfolgende quantitative Auswertung der Pherogramme wichtig ist.

Als Beispiel dienen Trennungen ^{35}S -markierter Polythionatgemische. Trägermaterial ist Elektrophoresepapier der Fa. Schleicher und Schüll, Nr. 20436 Mgl. Als Grundelektrolyt wird Schwefelsäure-Glykokoll-Puffer pH 3 eingesetzt.

Reproduzierbarkeit der Wanderungswege

In Apparatur I können gleichzeitig drei Papierstreifen eingelegt werden. Die Aktivitätsverteilungskurven der drei Pherogramme zeigt Fig. 3.

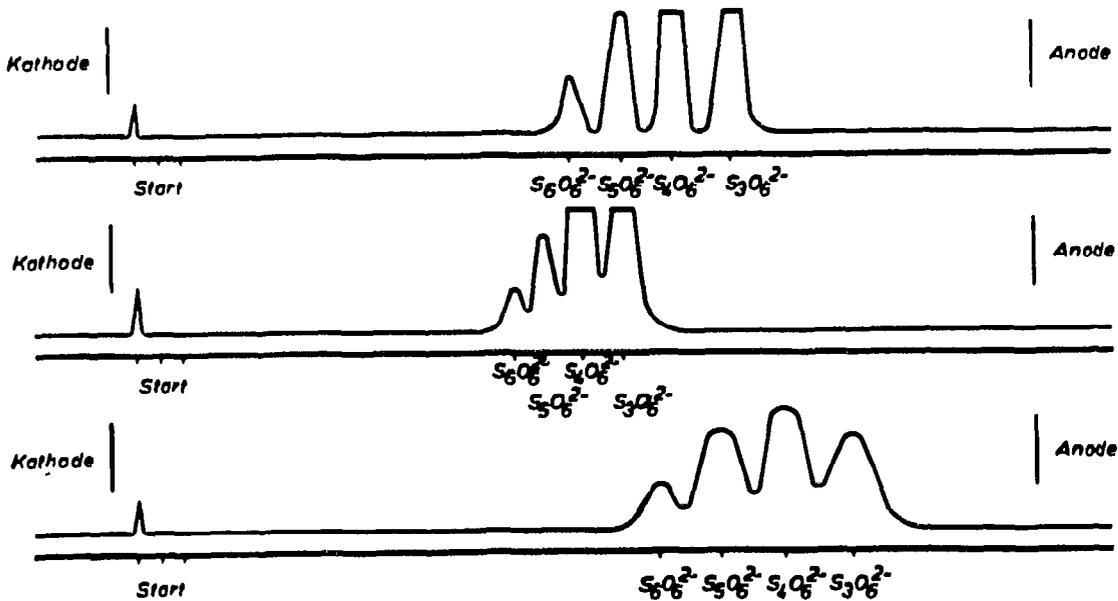


Fig. 3. Apparatur I mit drei Papierstreifen: Aktivitätsverteilungskurven.

Die Wanderungswege sind von Streifen zu Streifen sehr unterschiedlich. Dadurch ist die Zuordnung der einzelnen Zonen wesentlich erschwert. Ausserdem sind die Zonen teilweise nur unvollständig getrennt.

Fig. 4 gibt im Vergleich dazu die Trennergebnisse in Apparatur II. In diesem Fall stimmen die Wanderungswege gut überein.

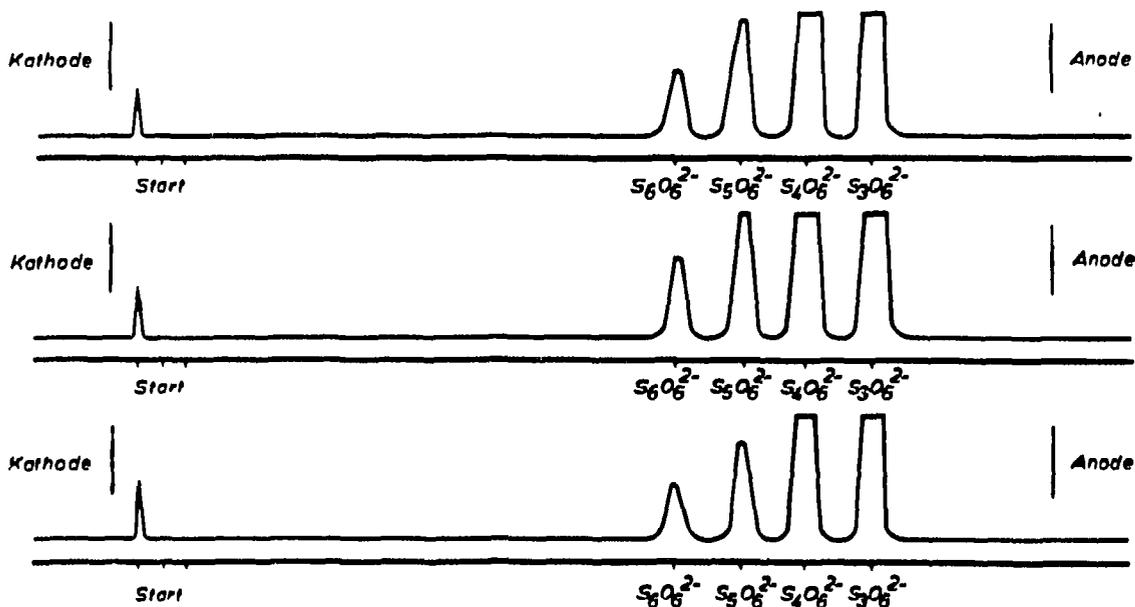


Fig. 4. Apparatur II mit drei Papierstreifen: Aktivitätsverteilungskurven.

Bei strichförmiger Auftragung der Lösungen, eine Methode, die vor allem beim präparativen Arbeiten angewendet wird, zeigt sich ein weiterer Vorteil der Apparatur II. In Apparatur I werden die Substanzen zum Rand hin immer langsamer (Fig. 5). Dagegen bleibt in Apparatur II (Fig. 6), die Strichform nahezu erhalten.



Fig. 5. Apparatur I: Nachweis der Zone durch Besprühen mit AgNO_3 -Lösung.



Fig. 6. Apparatur II: Nachweis der Zone durch Besprühen mit AgNO_3 -Lösung.

Trennleistung

Ganz allgemein ist die Güte der Trennungen in Apparatur I häufig sehr unterschiedlich (Fig. 3) und oft auch noch abhängig von der Lage des Papierstreifens innerhalb der Kammer. Der Grund ist die ungleichmässige Anpressung und die dadurch bedingte ungleichmässige Kühlung des Papierstreifens.

Substanzen, wie z.B. $\text{S}_3\text{O}_6^{2-}$ und SO_4^{2-} , die nur geringe Unterschiede in ihren Wanderungsgeschwindigkeiten bei Verwendung des pH 3-Puffers als Grundelektrolyten besitzen, werden in Apparatur I nur schlecht oder gar nicht getrennt (Fig. 7).

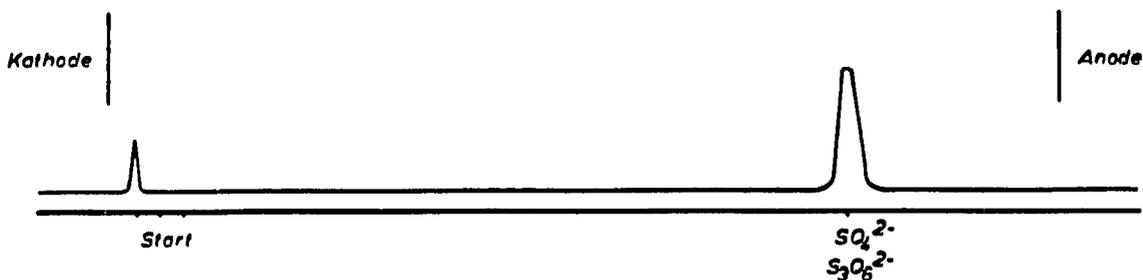


Fig. 7. Apparatur I: Aktivitätsverteilungskurve.

Dagegen sind bei einer Trennung in Apparatur II deutlich zwei Zonen zu beobachten (Fig. 8).

Zwei weitere Beispiele für den Vergleich der Trennleistung von Apparatur I



Fig. 8. Apparatur II: Aktivitätsverteilungskurve.

und Apparatur II sind die Trennung von SO_4^{2-} und $\text{SeS}_2\text{O}_6^{2-}$ sowie die Trennung der Polysulfandiphosphonate und der Polysulfanphosphonsulfonate.

Fig. 9 und 10 geben die Aktivitätsverteilungskurven von Gemischen wieder, die bei der Reduktion von SeO_3^{2-} mit Sulfit in saurer Lösung erhalten werden.

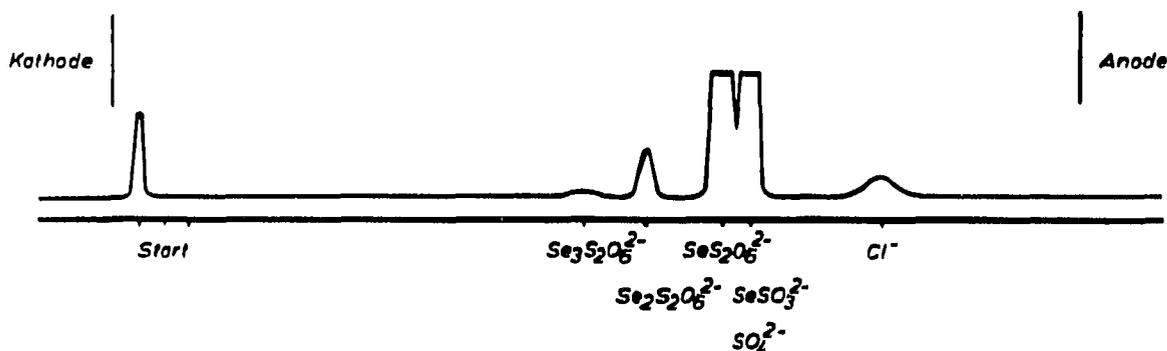


Fig. 9. Apparatur I: Aktivitätsverteilungskurve.

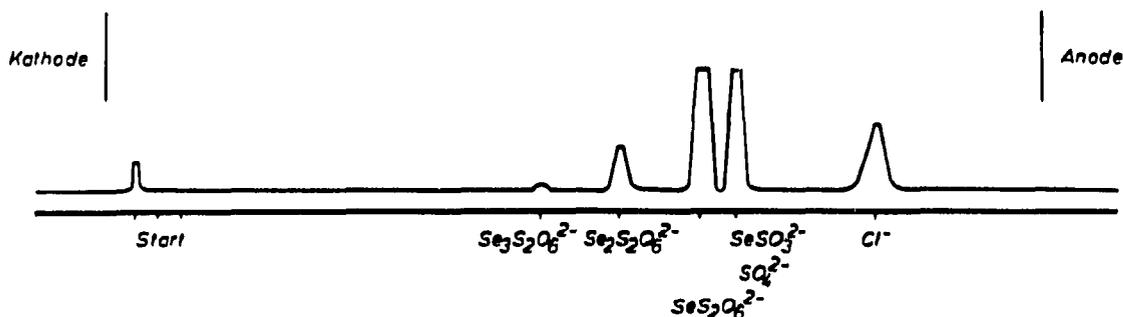


Fig. 10. Apparatur II: Aktivitätsverteilungskurve.

Bei der Umsetzung von $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ mit SPO_3^{3-} entstehen zwei Reihen chemisch sehr ähnlicher Verbindungen. Die Trennung der gebildeten Polysulfandiphosphonate und Polysulfanphosphonsulfonate bereitet experimentell grosse Schwierigkeiten. Auswertbare Trennungen dieser Verbindungen sind nur unter Verwendung von Apparatur II zu erhalten.

Für die Umsetzung sind die Ausgangsverbindungen wie folgt markiert: $-\text{O}_3\text{S}-^{35}\text{S}-^{35}\text{S}-\text{SO}_3^-$ und $^{35}\text{S}^{32}\text{PO}_3^{3-}$. In beiden Fällen wird das gleiche Reaktionsgemisch verwendet.

Fig. 11 und 12 stellen jeweils nur einen Ausschnitt aus der Gesamtaktivitätsverteilungskurve dar.

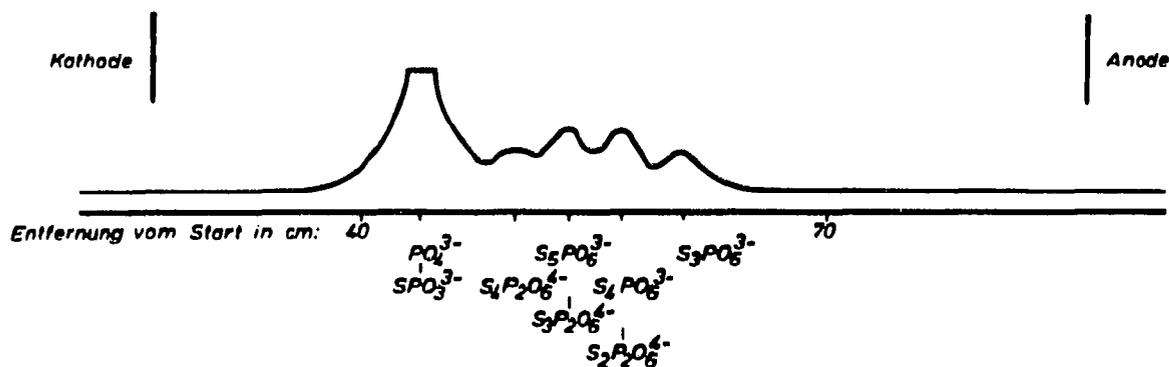


Fig. 11. Apparatur I: Aktivitätsverteilungskurve.

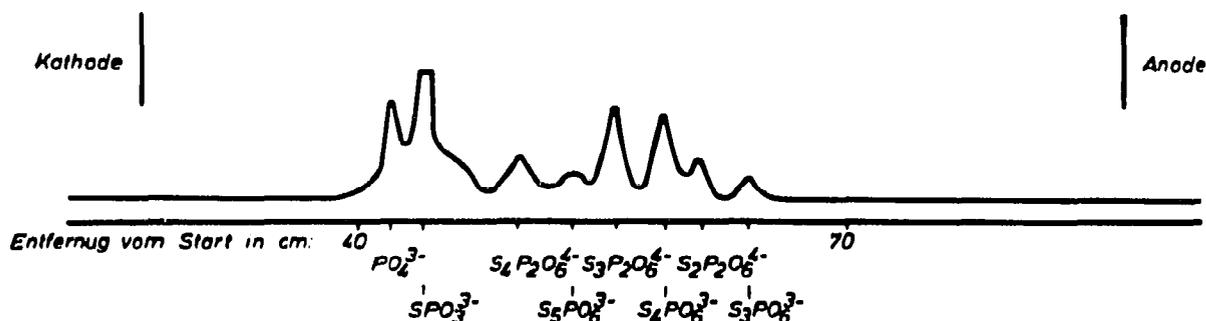


Fig. 12. Apparatur II: Aktivitätsverteilungskurve.

Bei der Aktivitätsverteilungskurve in Fig. 11 sind die einzelnen Zonen auf dem Pherogramm sehr schlecht voneinander getrennt. Wie aus entsprechenden Aktivitätsmessungen und aus dem Vergleich mit Fig. 12 ersichtlich ist, liegen in den Zonen oft zwei Verbindungen vor.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Gegenüberstellung der Trennergebnisse von zwei selbstgebauten Apparaturen zeigt, dass Apparatur II mit der gleichmässigen Anpressung der Papierstreifen auf eine isolierte Metallkühlfläche der Apparatur I mit zwei Glaskühlplatten überlegen ist. Da sich bei Apparatur II die Peaks auf den Aktivitätsverteilungskurven meist nicht mehr überschneiden, ist eine quantitative radiochemische Bestimmung der ^{35}S -markierten Produkte möglich. Bei besonders schwierigen Trennproblemen, wie z.B. der Trennung von Polysulfandiphosphonaten und Polysulfanphosphonsulfonaten, sind brauchbare Ergebnisse nur mit Apparatur II zu erzielen. Über die genannten Probleme wird in weiteren Arbeiten berichtet.

LITERATUR

- 1 W. PREETZ, *Fortschr. Chem. Forsch.*, 11 (1969) 375.
- 2 E. BLASIUS UND H. THIELE, *Z. Anal. Chem.*, 197 (1963) 347.
- 3 E. BLASIUS UND R. KRÄMER, *J. Chromatogr.*, 20 (1965) 367.
- 4 E. BLASIUS UND H. WAGNER, *J. Chromatogr.*, 26 (1967) 549.
- 5 E. BLASIUS UND G. SCHÖNHARD, *J. Chromatogr.*, 28 (1967) 385.
- 6 H. MICHL, *Monatsh. Chem.*, 83 (1952) 737.
- 7 D. GROSS, *Nature*, 172 (1953) 908.
- 8 D. GROSS, *Nature*, 173 (1954) 487.
- 9 D. GROSS, *J. Chromatogr.*, 5 (1961) 194.
- 10 K. DOSE, *J. Chromatogr.*, 2 (1959) 575.
- 11 E. BLASIUS UND W. PREETZ, *Z. Anorg. Alg. Chem.*, 335 (1965) 1.