

CHROM. 6705

HOCHSPANNUNGSIONOPHORETISCHE TRENNUNG VON POLYSULFANDISULFONATEN AUF DÜNNSCHICHTFOLIEN IN TEMPERATURKONTROLLIERTER KAMMER*

E. BLASIUS und J. MÜNCH

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

(Eingegangen am 19. März 1973)

SUMMARY

High-voltage ionophoretic separation of polysulphanedisulphonates on thin-layer foils in a temperature-controlled chamber

A description is given of the high-voltage ionophoretic separation of polysulphanedisulphonates on coated foils followed by a quantitative evaluation of the zones. By application of thin-layer foils the advantages of both paper and thin-layer ionophoresis are combined. The separations are carried out in a chamber developed for high-voltage paper ionophoresis. Addition of extra thermoelements makes measurement of the separation temperature in the supporting material possible.

EINLEITUNG

Zur Trennung von Polysulfandisulfonaten und verwandten Anionen setzten Blasius und Mitarbeiter¹⁻¹³ die diskontinuierliche Hochspannung-ionophorese unter Verwendung von Papierstreifen als Träger ein.

In der vorliegenden Arbeit wird die hochspannung-ionophoretische Trennung der Polysulfandisulfonate $S_3O_6^{2-}$ bis $S_6O_6^{2-}$ auf selbsthergestellten Dünnschichtfolien in einer temperaturkontrollierten Kammer beschrieben. Ziel ist die Kopplung der Trennung mit Bestimmungsverfahren, die sich bei Verwendung von Dünnschichtfolien an Stelle von Papier einfacher gestalten lässt.

EXPERIMENTELLES UND ERGEBNISSE

Selbsthergestellte Dünnschichtfolien

Die chromatographischen Eigenschaften kommerzieller Dünnschichtfolien werden in einer Reihe von Veröffentlichungen¹⁴⁻²¹ verglichen. Die als Unterlage dienenden Folien sind relativ steif. Die Dicke der Dünnschichten beträgt im allgemeinen bei Kieselgel 0.2 mm. Lieferbar sind vorwiegend die in der Chromatographie üblichen Formate. Für die Ionophorese kann das labormässige Beschichten von Folien mitunter vorteilhafter sein. Die Dicke sowohl der Folien als auch der Dünnschicht-

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

schicht ist wählbar. Je dünner die Folie ist, umso einfacher lassen sich auch schlecht getrennte Zonen ausschneiden, ohne ein Abbröckeln der Schicht an den Schnittkanten befürchten zu müssen. Sehr dünne Folien (z.B. 0.05 mm) werden bei geringer Schichtdicke benutzt. Bei dickeren Dünnschichten, die eine höhere Beladungsgrenze für das Trenngemisch besitzen, muss aus Gründen der besseren Handhabung auch die als Unterlage dienende Folie dicker gewählt werden (0.1 bis 0.15 mm).

Folie. An die als Unterlage dienende Folie werden drei Anforderungen gestellt.

(a) Geringe Dicke und gute Biegsamkeit. Somit ist die luftblasenfreie Anpressung auf die Kühlplatte in der trockenen Kammer gewährleistet. Die Enden der Dünnschichtfolie lassen sich leicht umbiegen und in die Elektrodenröge eintauchen.

(b) Gute Benetzbarkeit mit Wasser. Dadurch lässt sich auch mit dünnen und biegsamen Folien leicht eine für den Beschichtungsvorgang notwendige, ebene Fläche herstellen. Die Beschichtung mit wässriger Dünnschicht suspension wird möglich. Beim Anfeuchten der trockenen Dünnschicht mit Grundelektrolytlösung erfolgt keine Ablösung durch Blasenbildung zwischen Schicht und Folie.

(c) Gute elektrische Isolareigenschaften.

Diese Anforderungen werden von der in Fachgeschäften erhältlichen "Zeichenfolie Hostaphan" (Kalle, Wiesbaden, B.R.D.) erfüllt. Sie ist in drei Stärken (0.05, 0.1 und 0.15 mm) erhältlich. Die gute Benetzbarkeit mit Wasser wird bei neueren Chargen erst nach einem Waschprozess erreicht.

Dünnschicht suspension. Zur besseren Haftung der Dünnschicht auf der Folie setzt man als Binder Polyvinylalkohol zu. Da hierdurch die Dünnschicht suspension relativ zähflüssig wird, können nach dem Ausstreichen kleine Luftbläschen nicht entweichen und hinterlassen in der trockenen Schicht eine Vielzahl von Poren. Durch Zusatz von Alkohol beseitigt man diese unerwünschte Nebenerscheinung. Ein zu grosser Alkoholanteil in der Suspension vermindert allerdings die Haftfestigkeit der Dünnschicht auf der Folie.

Folgende Ansätze haben sich für die Beschichtung von 110×20 cm Folie mit einer Schichtdicke im feuchten Zustand von 0.5 mm bewährt: Kieselgel — 50 ml 3%ige Polyvinylalkohollösung, 40 ml Wasser, 10 ml Äthanol, 38 g Kieselgel HF₂₅₄ Typ 60 (Merck, Darmstadt, B.R.D.). Aluminiumoxid — 85 ml 3%ige Polyvinylalkohollösung, 15 ml Äthanol, 60 g Al₂O₃ sauer, Typ T (Merck, Darmstadt, B.R.D.). Cellulose — 80 ml 3%ige Polyvinylalkohollösung, 10 ml Äthanol, 25 g Cellulose mikrokristallin, Avicel (Merck, Darmstadt, B.R.D.).

Beschichtung. Die "Zeichenfolie Hostaphan" wird auf das benötigte Format zurechtgeschnitten, in einer Extranlösung (1 + 4) gebürstet und in eine zweite gleichkonzentrierte Extranlösung für mindestens 12 Std. gelegt. Danach wäscht man sie mit Wasser, zieht zwecks Entfernung der letzten Alkalireste durch 0.01 M H₂SO₄ und spült schliesslich mit dest. Wasser ab. Die nasse Folie walzt man mit einer Gummirolle auf eine Glasplatte entsprechender Grösse auf, wodurch sie infolge von Kapillarkräften festgehalten wird. Die Längsränder der Folie werden durch das Beschichtungsgerät (Quickfit, Wiesbaden) auf die Glasplatte gedrückt.

Nach dem Trocknen der Oberfläche der Folie wird mit der entsprechenden Suspension beschichtet. Die Dünnschicht lässt man bei Raumtemperatur trocknen. An den Enden werden je 10 cm abgeschnitten. Tabelle I gibt eine Gegenüberstellung der Schichtdicke vor und nach der Trocknung.

Eigenschaften. Die Dünnschichten haften gut auf den Folien. Sie sind biegsam

TABELLE I

DICKE FEUCHTER UND TROCKENER DÜNNSCHICHTEN

<i>Kieselgel</i>		<i>Cellulose</i>		<i>Aluminiumoxid</i>	
<i>Feucht (mm)</i>	<i>Trocken (mm)</i>	<i>Feucht (mm)</i>	<i>Trocken (mm)</i>	<i>Feucht (mm)</i>	<i>Trocken (mm)</i>
0.25	0.10–0.12	0.25	0.05–0.06	0.5	0.15–0.16
0.5	0.19–0.20	0.5	0.10–0.11		
0.75	0.32–0.33	0.75	0.15–0.16		

und bröckeln auch im trockenen Zustand bei kleinen Krümmungsradien ($r=1$ bis 2 cm) nicht ab. Das Befeuchten mit Grundelektrolytlösung ist genauso einfach wie bei der Verwendung von Papier. Die Dünnschichtfolie wird durch die Lösung gezogen, auf eine ebene Fläche gelegt und die überschüssige Feuchtigkeit durch Auflegen von Fliesspapier entfernt. Die jetzt zur Verfügung stehende Zeit für das Auftragen des Trenngemisches hängt vom Beschichtungsmateriel, der Schichtdicke, Raumtemperatur und Raumfeuchtigkeit ab. Sie beträgt unter normalen Bedingungen *ca.* 20 Min. Danach scheint die Schicht beinahe trocken zu sein. Trotzdem lässt sich die Ionophorese noch einwandfrei durchführen. Nach der Trennung sind die Dünnschichten schon im kalten Luftstrom eines Föns schnell zu trocknen.

Apparatur

Benutzt wird eine Eigenbaukammer mit Aluminiumkühlplatte ($80 \times 25 \times 3$ cm) über die zur Isolation eine 0.2-mm-dicke Polyäthylenfolie gelegt wird⁵. Die Dünnschichtfolie legt man mit der feuchten Schichtseite nach unten auf. Die Anpressung erfolgt mit einer Deckplatte, bestehend aus einer 2.5-cm dicken PVC-Platte, auf die eine 3-cm dicke Schaumstoffschicht aufgeklebt ist. Die gesamte Deckplatte ist mit einer 0.1-mm dicken Polyäthylenfolie umhüllt.

Als Kühlaggregat dient der Ultra Kryomat K 40 (Lauda), als Hochspannungsquelle der Power Supply 0–5000 V d.c. (Camag, Muttenz, Schweiz). Fig. 1 zeigt den Aufbau der Kammer.

Wegen der grossen Trennstrecke kann man das Gemisch an vier verschiedenen Startlinien auftragen. Dadurch ist nach der Trennung von jeder Komponente eine genügende Menge vorhanden, um eine mikrochemische Bestimmung durchführen zu können. Die Startlinien befinden sich in einer Entfernung von 8, 24, 40 und 56 cm von der Kühlplattenkante. Vor jeder Startlinie steht ein Trennfeld von 16×20 cm zur Verfügung.

Die Temperaturmessung erfolgt im ersten Trennfeld von rechts, stellvertretend für alle anderen. Hierzu werden durch Löcher in der Deckplatte insgesamt neun Thermoelemente gesteckt. Ihr Schweisspunkt wird mit dünnem Tesafilm auf die Folie geklebt. Dadurch verhindert man ein Eindringen der Thermoelemente in den Schaumstoff beim Aufpressen der Deckplatte. Da der Schaumstoff einen guten Wärmeisulator darstellt und die Kühlung von unten erfolgt, zeigen die Thermoelemente die maximale Temperatur in der Trägerschicht an.

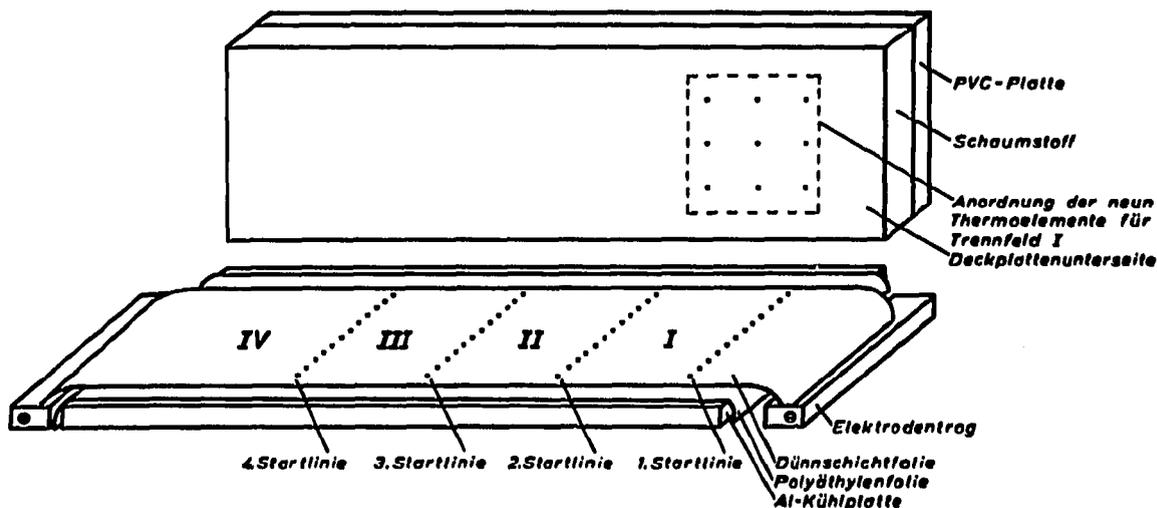


Fig. 1. Aufbau der temperaturkontrollierten Kammer.

Die Thermolemente bestehen aus 0.1-mm dicken Eisen-Konstantan-Drähten, die durch einen elektrischen Funken zusammengeschweisst sind. Die Schweisspunkte besitzen einen Durchmesser von 0.45 bis 0.48 mm. Die Nebenlötstellen werden in Styropor eingebettet. Mit Hilfe eines Schalters lassen sich nacheinander jeweils zwei der insgesamt neun Thermolemente mit zwei Multiflex Galvanometern (B. Lange, Berlin) verbinden. Es sind also die Thermospannungen von zwei Thermolementen gleichzeitig messbar. Bei der Empfindlichkeitseinstellung 1:1 entsprechen etwa 3 Skalenteile 1° .

Trennungen

Bei der Anwendung verschiedener Trägermaterialien stellt sich die Frage nach vergleichbaren Trennbedingungen.

Die Leitfähigkeit des Trägers ist abhängig von Art und Schichtdicke, da von ihnen auch die aufgenommene Grundelektrolytmenge bestimmt wird, von Zusammensetzung und Konzentration des Grundelektrolyten und von der Trenntemperatur. Vergleiche der Wanderungsgeschwindigkeiten sind daher nur möglich, wenn in den Trägern bei gleichen Feldstärken durch entsprechende Wahl der Kühlsolentemperatur gleiche Trenntemperaturen eingestellt werden. Diesem Verfahren sind Grenzen gesetzt, da beim Überschreiten einer maximalen Differenz zwischen Trenn- und Kühlsolentemperatur im Träger Temperaturgradienten auftreten. Wann dies der Fall ist, hängt von der Konstruktion der Kühlplatte ab.

Unterschiedliche Trägermaterialien und Schichtdicken. Das Ermitteln der jeweils richtigen Kühlsolentemperatur ist zeitraubend. Daher wird für die nachfolgenden Versuche die Trenntemperatur gemessen, die sich bei Anwendung einer 0.2-mm dicken Kieselgelschicht, voller Ausnutzung des Speiseaggregates (5000 V) und der Einstellung der Kühlsole auf 0° ergibt. Sie liegt in Abhängigkeit vom Ort zwischen $+5^\circ$ bis $+7^\circ$. Zum Schluss der Ionophorese ergibt sich im allgemeinen ein Temperaturanstieg um 1° bis 2° , der mit einem leichten Stromanstieg gekoppelt ist. Die Ursache ist auf eine

Erhöhung der Grundelektrolytmenge in der Dünnschicht zurückzuführen. Die Trennzeit beträgt 30 Min.

Bei Anwendung anderer Schichtdicken bzw. Dünnschichtmaterialien stellt man bei einer Kühlsolentemperatur von 0° diejenige Spannung ein, die eine Trenntemperatur von +5° bis +7° ergibt. Sofern sie schon bei geringeren Spannungen als 5000 V erzielt wird, verlängert man die Trennzeit entsprechend. Erhält man andererseits diese Trenntemperatur auch beim Anlegen von 5000 V nicht, so wird sie lediglich gemessen und die Trennzeit auf 30 Min festgesetzt. In solchen Fällen ist der Vergleich mit den anderen Trennungen erschwert.

Für alle Trennungen wird der bei der Hochspannungspapierionophorese bewährte Glykokoll-H₂SO₄-Puffer (s. *Kieselgel als Trägermaterial*) benutzt. Das Substanzgemisch ist in 10⁻³ M HCl gelöst und die Lösung 0.5%ig in Bezug auf jede Komponente. Es werden jeweils 2 µl zwölfmal auf die vier Startlinien punktförmig aufgetragen. Der grosse Abstand zwischen den Startmittelpunkten wird gewählt, um die Zonengrösse und -ausbildung vergleichen zu können. Bei Kopplung mit einem quantitativen Bestimmungsverfahren trägt man das Trenngemisch in engeren Abständen auf. In Tabelle II sind die Trennbedingungen zusammengestellt.

Die Aluminiumoxidschicht ist für die Trennung der Polysulfandisulfonate ungeeignet. Bei den beiden anderen Schichtmaterialien werden einwandfreie Trennungen erreicht.

Bei Kieselgel sind die Zonen kreisrund. Der Konzentrationsschwerpunkt befindet sich überwiegend in der Mitte. Der Zonendurchmesser verringert sich von ca. 10 mm bei den 0.1-mm dicken Schichten auf ca. 6 mm bei 0.32-mm Schichtdicke. Fig. 2 zeigt eine Vierfachtrennung.

Die gleichmässige Wanderung der Komponenten auf der 20-cm breiten Schicht ermöglicht die einfache Identifizierung durch Mitlaufenlassen von Vergleichssubstanzen (Fig. 3). Eine Identifizierung über R_F-Werte entfällt.

TABELLE II

TRENNBEDINGUNGEN FÜR UNTERSCHIEDLICHE TRÄGERMATERIALIEN UND SCHICHTDICKEN

Träger	Schichtdicke (mm)	Spannung (V)	Stromstärke (mA)	Anfangs- temperatur (°C)	Zeit (Min)
Kieselgel	0.1	5000	17	2-3	30
Kieselgel	0.2	5000	40	5-7	30
Kieselgel (MN SIL-G)*	0.2	5000	40	5-7	30
Kieselgel	0.32	3700	55	5-7	40
Cellulose	0.05	5000	10	1-2	30
Cellulose (MN CEL 300)*	0.1	5000	35	4-6	30
Cellulose	0.1	5000	15	2-3	30
Cellulose	0.15	5000	40	5-7	30
Aluminiumoxid	0.15	5000	10	1-2	30

* Hersteller: Macherey, Nagel und Co., Düren.

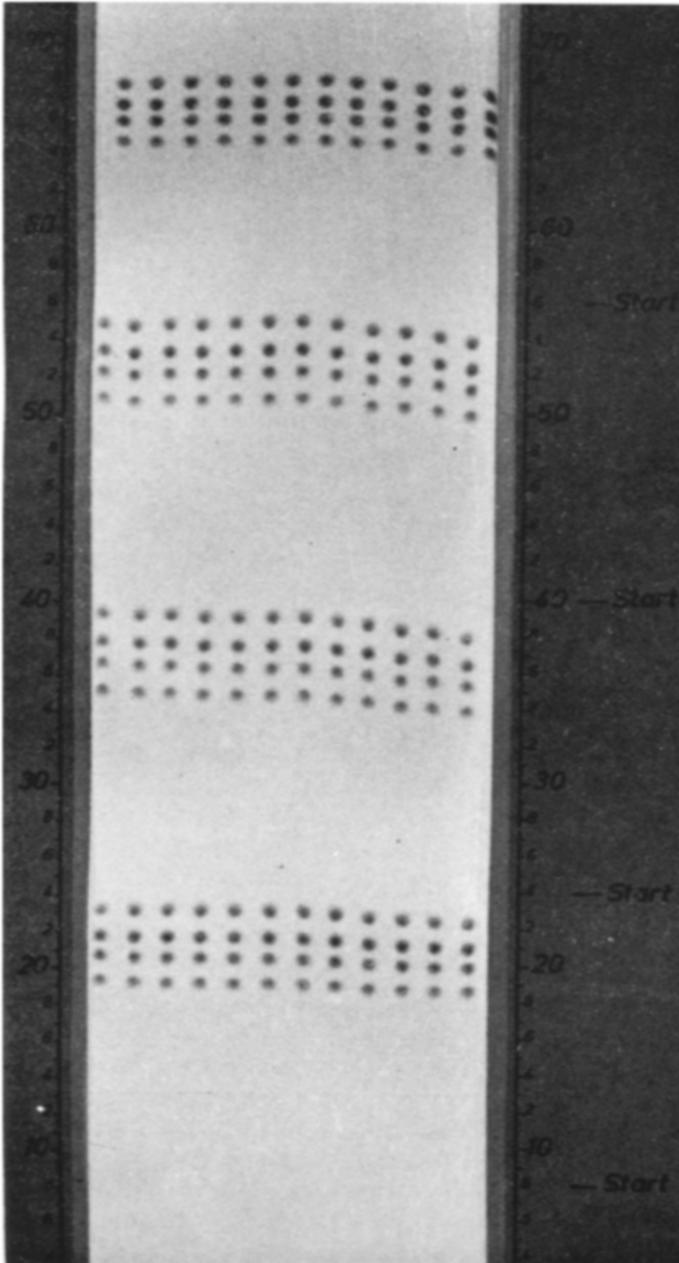


Fig. 2. Vierfachtrennung auf einer 0.32-mm dicken Kieselgelschicht.

Bei Cellulose befindet sich die grösste Konzentration in der Front der Zonen, die kurze breite Schwänze nachziehen. Die Zonen sind ungefähr gleichgross wie bei Kieselgel entsprechender Schichtdicke.

Kieselgel als Trägermaterial. Als optimal für die Trennung der Polysulfandisulfonate erweisen sich folgende Bedingungen:

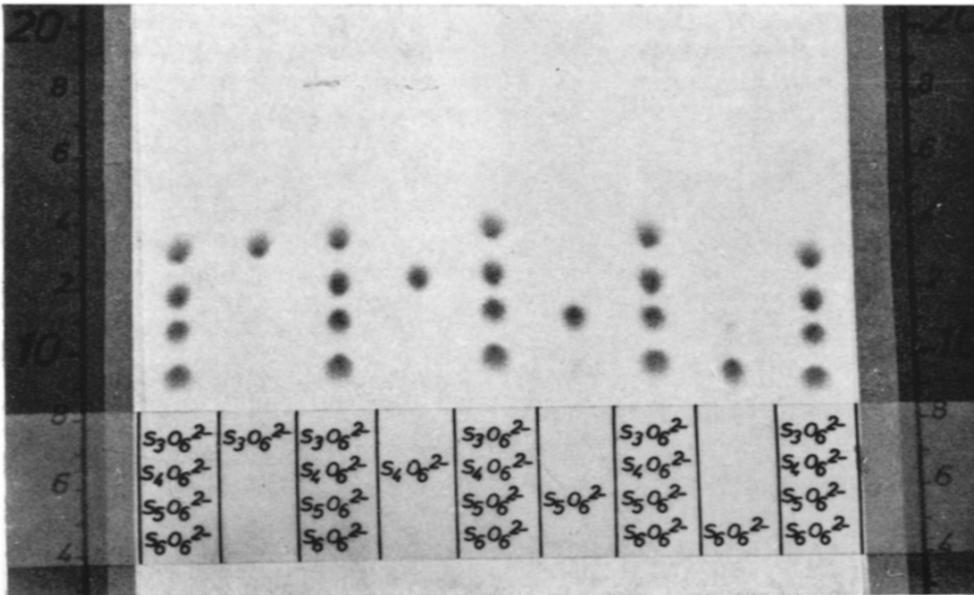


Fig. 3. Trennung eines Gemisches aus vier Polysulfandisulfonaten mit Vergleichssubstanzen auf einer 0.2-mm dicken Kieselgelschicht.

Schichtmaterial/Schichtdicke: Kieselgel/0.2 mm

Spannung/Stromstärke: 5000 V/40 mA

Trennzeit/Trenntemperaturen: 30 Min/5–7°

Temperatur der Kühlsole: 0°

Auftragevolumen: s. Fig. 4

Grundelektrolyt: Glykokoll–H₂SO₄, pH 3 (75 g Glykokoll und 9.8 g H₂SO₄ pro 1 Liter).

Andere Grundelektrolyte (z.B. Phosphatpuffer pH 6.9; Acetatpuffer pH 4.7; Citratpuffer pH 3.1) bringen keinen Vorteil. Nur bei Anwendung des Acetatpuffers ergibt sich eine ungefähr gleichgute Trennung wie beim Glykokoll–H₂SO₄-Puffer.

Die Wanderungstrecken sind unter den oben angegebenen Bedingungen praktisch unabhängig vom Auftragevolumen (Fig. 4).

Auf der unteren Startlinie sind von links nach rechts 2, 4, 8 und 10 μ l und auf der oberen 5, 7.5, 10 und 12.5 μ l aufgetragen. Eine gute Trennung wird bis zu einem Auftragevolumen von 5 μ l erreicht.

Bei Erhöhung der Feldstärke und damit der Trenntemperatur lässt sich die Trennzeit bis auf 10 Min herabsetzen. Hierzu wird die Trennung quer über die Kühlplatte mit einer Spannung von 2500 V vorgenommen. Die Stromstärke steigt von anfangs 90 mA bis auf 150 mA am Ende der Ionophorese. Dementsprechend verändert sich die örtlich unterschiedliche Trenntemperatur von 20–25° bis 32–40°.

Wegen Überlastung der Kühlplatte wandern die in der Mitte der Dünnschicht befindlichen Zonen schneller als die am Rand. Zonengröße und -ausbildung sind jedoch mit denen in Fig. 2 vergleichbar.

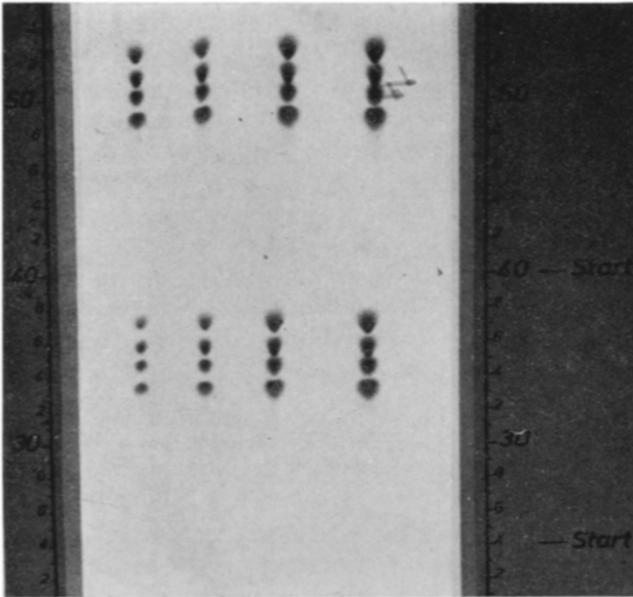


Fig. 4. Trennung der Polysulfandisulfonate bei verschiedenen Auftragevolumina.

DISKUSSION

Als besondere Vorteile der Ionophorese auf Dünnschichten an Stelle von Papier werden genannt²²: Geringere Trennzeiten, kompaktere Zonen, bessere Reproduzierbarkeit der Wanderungstrecken, grössere Beladbarkeit und einfachere Handhabung bei Kopplung mit quantitativen Bestimmungsverfahren. Andererseits sind auch wesentliche Nachteile aufzuführen.

Dünnschichten auf Glasplatten und Folien

Dünnschichten auf Glasplatten, nach den für die Chromatographie gegebenen Vorschriften hergestellt, erfordern wegen ihrer leichten Verletzbarkeit besondere Verfahren für das Aufbringen des Grundelektrolyten und spezielle Trennapparaturen.

Für das Aufbringen des Grundelektrolyten gibt es mehrere Methoden²³⁻²⁷. Sie sind entweder umständlich und zeitraubend²⁴⁻²⁷ oder führen zu inhomogener Anfeuchtung^{23,25}. Demgegenüber wird der Papierstreifen einfach durch die Grundelektrolytlösung gezogen und anschliessend in einer Walzenpresse abgepresst²⁸.

Um die feuchte, teigige Dünnschicht nicht zu verletzen, muss man entweder Trennkammern mit flüssigen Wärmeaustauschern²⁹⁻³¹ oder sogenannte "feuchte" Trennkammern^{22,32-40} mit oder ohne festen Wärmeaustauschern anwenden. Entsprechende Untersuchungen über dadurch bedingte Störeinflüsse sind bekannt⁴¹. Demgegenüber werden für die Papierionophorese trockene Trennkammern benutzt. Die Aufpressung des Trägers auf die Kühlplatte erfolgt entweder mit Hilfe eines verformbaren Kissens⁵ oder einer zweiten Kühlplatte^{42,43}. Örtliche Feuchtigkeitsunterschiede während der Trennung werden dadurch vermieden. Zusätzlich wird

eine allgemeine Erhöhung des Feuchtigkeitsgehaltes durch Sogströmung und Endosmose stark vermindert.

Bei der Verwendung von Dünnschichtglasplatten macht sich neben der schlechteren Abführung der Jouleschen Wärme nachteilig bemerkbar, dass zwischen feuchter Dünnschicht und Elektrodenrog eine Verbindung durch einen Papierstreifen notwendig ist.

Bei Anwendung von Dünnschichtfolien lassen sich abgesehen vom Arbeitsaufwand für die Selbstherstellung bzw. dem Preisunterschied zwischen Fertigfolien und Papier die Vorteile sowohl der Papier- als auch der Dünnschichtionophorese miteinander verbinden.

Temperaturkontrolle in der Schicht

Unabhängig von der Art des Trägermaterials berichtet eine Anzahl von Veröffentlichungen über die Abführung der Jouleschen Wärme^{28,43-45}. Dagegen wird die im Träger tatsächlich vorhandene Temperatur nur indirekt über Temperaturmessungen an der Kühlsole abgeschätzt⁴⁶. In wenigen Fällen wird die Kühlsoletemperatur von den Autoren anscheinend mit der Trenntemperatur gleichgesetzt, was aber auch bei der Anwendung von Trennkammern mit flüssigen Wärmeaustauschern nicht zulässig ist.

Die Temperatur im Träger in der trockenen Kammer hängt ab von der erzeugten Jouleschen Wärme, der Temperatur der Kühlsole und der konstruktiv bedingten Wärmeabfuhr durch die Kühlplatte. Die schnellste Anpassung an die optimale Trenntemperatur erfolgt durch Veränderung der elektrischen Leistung. Eine Einstellung durch entsprechende Wahl der Kühlsoletemperatur lässt sich nur aufgrund entsprechender Vorversuche vornehmen. Das Herunterkühlen während der Trennung führt zu unerwünschten Temperaturgradienten. Sie bewirken Verzerrungen der Zonen und schlechte Reproduzierbarkeit der Wanderungstrecken.

Für eine vollständige Trennung müssen die einzelnen Komponenten eines Gemisches bestimmte Wanderungstrecken zurücklegen. Die erforderlichen Trennzeiten werden umso kürzer, je grösser die Wanderungsgeschwindigkeiten sind. Diese wachsen bei gleichbleibender Feldstärke mit steigender Trenntemperatur. Andererseits erhöht sich auch die Diffusionsgeschwindigkeit. Durch die kürzeren Trennzeiten bleibt aber die Zonengrösse ungefähr gleich.

Besondere Bedeutung hat die direkte Temperaturmessung im Träger für Trenngemische, bei denen oberhalb bestimmter Temperaturen unerwünschte Nebenreaktionen bzw. Zersetzungen eintreten.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird die hochspannung-ionophoretische Trennung der Polysulfandisulfonate auf beschichteten Folien mit dem Ziel einer späteren quantitativen Auswertung der Zonen beschrieben. Bei Anwendung der Dünnschichtfolien lassen sich die Vorteile der Papier- und Dünnschichtionophorese miteinander verbinden. Die Trennungen erfolgen in einer für die Hochspannungspapierionophorese hergestellten Kammer. Der zusätzliche Einbau von Thermoelementen erlaubt die Messung der Trenntemperatur im Trägermaterial.

LITERATUR

- 1 E. Blasius und H. Thiele, *Z. Anal. Chem.*, 197 (1963) 347.
- 2 E. Blasius und R. Krämer, *J. Chromatogr.*, 20 (1965) 367.
- 3 E. Blasius und H. Wagner, *J. Chromatogr.*, 26 (1967) 549.
- 4 E. Blasius und G. Schönhard, *J. Chromatogr.*, 28 (1967) 385.
- 5 E. Blasius, A. Knöchel, N. Spannhake und H. Wagner, *J. Chromatogr.*, 70 (1972) 109.
- 6 E. Blasius und H. Wagner, *Talanta*, 20 (1973) 43.
- 7 E. Blasius und A. Knöchel, *J. Radioanal. Chem.*, 13 (1973) 363.
- 8 E. Blasius und A. Knöchel, *J. Radioanal. Chem.*, 13 (1973) 373.
- 9 E. Blasius und A. Knöchel, *J. Radioanal. Chem.*, 13 (1973) 381.
- 10 E. Blasius und A. Knöchel, *J. Radioanal. Chem.*, im Druck.
- 11 E. Blasius und N. Spannhake, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, im Druck.
- 12 E. Blasius und N. Spannhake, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, im Druck.
- 13 E. Blasius und N. Spannhake, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, im Druck.
- 14 A. Lestienne, E. P. Przybylowicz, W. J. Staudenmayer, E. S. Perry, A. D. Baitsholts und T. N. Tischer, *Int. Symp. Chromatogr., III., Brüssel*, (1964) 233.
- 15 E. P. Przybylowicz, W. J. Staudenmayer, E. S. Perry, A. D. Baitsholts und T. N. Tischer, *J. Chromatogr.*, 20 (1965) 506.
- 16 A. D. Baitsholts und R. E. Ardell, *J. Chromatogr.*, 30 (1967) 493.
- 17 H. Jork, *Pharm. Int.*, 4 (1968) 11.
- 18 V. Rábek, *J. Chromatogr.*, 33 (1968) 186.
- 19 H. J. Petrowitz, *Chem.-Ztg.*, 93 (1969) 329.
- 20 J. Petit, J. A. Berger, J. L. Chabard, G. Besse und G. Voissière, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, (1969) 1027.
- 21 H. Halpaap und H. Bausch, *J. Chromatogr.*, 48 (1970) 144.
- 22 G. Patuska und H. Trinks, *Chem.-Ztg.*, 85 (1961) 535.
- 23 R. Conden, A. H. Gordon und A. J. P. Martin, *Biochem. J.*, 40 (1946) 33.
- 24 W. J. Criddle, G. J. Moody und J. D. R. Thomas, *J. Chem. Educ.*, 41 (1964) 609.
- 25 K. Bächman und H. Görisch, *J. Chromatogr.*, 23 (1966) 336.
- 26 E. Sawicki, M. Guyer und C. R. Engel, *J. Chromatogr.*, 30 (1967) 522.
- 27 A. S. C. Wan, *J. Chromatogr.*, 60 (1971) 371.
- 28 G. Werner und O. Westphal, *Angew. Chem.*, 67 (1955) 251.
- 29 R. L. Bielecki, *Anal. Biochem.*, 12 (1965) 230.
- 30 A. Yaron und H. A. Sober, *Anal. Biochem.*, 12 (1965) 173.
- 31 H. G. Gassen, *J. Chromatogr.*, 39 (1969) 147.
- 32 C. G. Honnegger, *Helv. Chim. Acta*, 44 (1961) 173.
- 33 A. Moghissi, *Anal. Chim. Acta*, 30 (1964) 91.
- 34 W. J. Ritschard, *J. Chromatogr.*, 16 (1964) 327.
- 35 H. Stegemann und B. Lerch, *Anal. Biochem.*, 9 (1964) 417.
- 36 S. Katz und A. Lewis, *Anal. Biochem.*, 17 (1966) 300.
- 37 R. L. Munier und G. Sarrazin, *J. Chromatogr.*, 22 (1966) 336.
- 38 G. Patuska und R. Krüger, *Int. Symp. Chromatogr. Electrophor., IV., Brüssel*, (1966) 180.
- 39 K. Buchtela und M. Liesegang-Buchtela, *Mikrochim. Acta*, (1967) 380.
- 40 G. Augusti-Tocco, C. Carestia, P. Grippo, E. Parisi und E. Scarano, *Biochim. Biophys. Acta*, 156 (1968) 8.
- 41 J. Kowalczyk, *J. Chromatogr.*, 14 (1964) 411.
- 42 E. Blasius und W. Preetz, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 335 (1965) 1.
- 43 D. Gross, *J. Chromatogr.*, 5 (1961) 194
- 44 Th. Wieland und G. Pfeiderer, *Angew. Chem.*, 67 (1958) 257.
- 45 H. Michl, *J. Chromatogr.*, 1 (1958) 93.
- 46 T. Badzio und T. Pompowski, *J. Chromatogr.*, 39 (1969) 344.