

CHROM. 9848

HOCHSPANNUNGSPAPIERIONOPHORESE IM TEMPERATURGRADIENTEN UND IN NICHTWÄSSRIGEN LÖSUNGSMITTELN

E. BLASIUS und G. KLEMM

Fachrichtung Anorganische Analytik und Radiochemie der Universität des Saarlandes, 6600 Saarbrücken (B.R.D.)

(Eingegangen am 30. November 1976)

SUMMARY

High-voltage paper ionophoresis in temperature gradients and non-aqueous solutions

An improved separation chamber for high-voltage ionophoresis by means of a temperature gradient has been developed. It enables a temperature gradient of $3^{\circ}/\text{cm}$. Quantitative evaluations show an improvement of separation efficiency up to 50% compared to separations at 0° . Additional advantages are achieved for non-aqueous electrolyte systems, which show a more temperature-depending viscosity than the aqueous electrolyte solutions. The application of wedge-shaped paperstrips to avoid field strength gradients is not necessary.

EINLEITUNG

In einer früheren Veröffentlichung wird eine Apparatur zur Hochspannung-ionophorese im Temperaturgradienten vorgestellt¹. Legt man einen Temperaturgradienten längs der Trennstrecke an die Kühlplatte an, werden schnell wandernde Ionen auf ihrem Weg zur warmen Seite zusätzlich beschleunigt, während langsam wandernde mehr zurückbleiben. Die entwickelte Trennapparatur erzielt einen maximalen Temperaturgradienten von 0.75° pro cm. Ausserdem kann jede beliebige konstante Trenntemperatur im Bereich von -15° bis $+35^{\circ}$ eingestellt werden.

In der vorliegenden Arbeit wird eine verbesserte Trennkammer beschrieben, die einen wesentlich höheren Temperaturgradienten ermöglicht und es erlaubt, die Trenngüte weiter zu steigern. Anstatt vier werden zwei Kühlblöcke mit je zwei Peltierbatterien und ein Thermoelement zu einem Regelkreis zusammengefasst. Die Länge der Kühlplatte ist um ein Drittel geringer.

Bei Verwendung von Grundelektrolytsystemen, deren Viskosität stärker temperaturabhängig ist als die wässriger Elektrolytlösungen, wird die Wirkung des Temperaturgradienten verstärkt.

TRENNAPPARATUR

Fig. 1 zeigt eine schematische Darstellung der Trennkammer. An fünf Stellen der 40 cm langen und 20 cm breiten Aluminiumkühlplatte wird über fünf Ther-

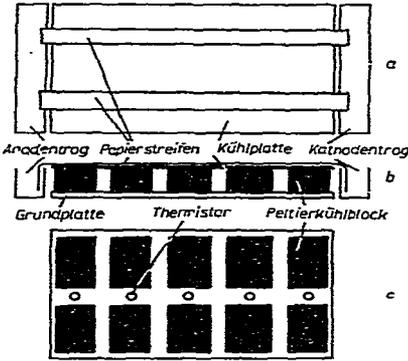


Fig. 1. Apparatur zur Hochspannungionophorese im Temperaturgradienten. Schematische Darstellung der Trennkammer mit Peltierbatterien. a, Sicht von oben; b, Seitenansicht; c, Sicht von unten.

mistoren der Strom von je zwei parallelgeschalteten Kühlblöcken geregelt. In jedem Kühlblock sind zwei Peltierbatterien zu einer Einheit zusammengefasst. An jeder der Messstellen ist eine frei wählbare Temperatur von -15° bis $+35^{\circ}$ einstellbar. Fig. 2 zeigt das Blockschaltbild des Kühlsystems und der Sicherheitskreise.

Zwischen zwei Messstellen erreicht man einen Temperaturgradienten bis zu $3^{\circ}/\text{cm}$. Für Trennungen eignet sich in wässrigen Systemen ein Gradient von $1^{\circ}/\text{cm}$. In nichtwässrigen Lösungsmitteln mit niedrigerem Schmelzpunkt als Wasser sind steilere Temperaturgradienten möglich, da die Temperatur der Kühlplatte an der kältesten Stelle in Bereiche unter -3° verschoben werden kann.

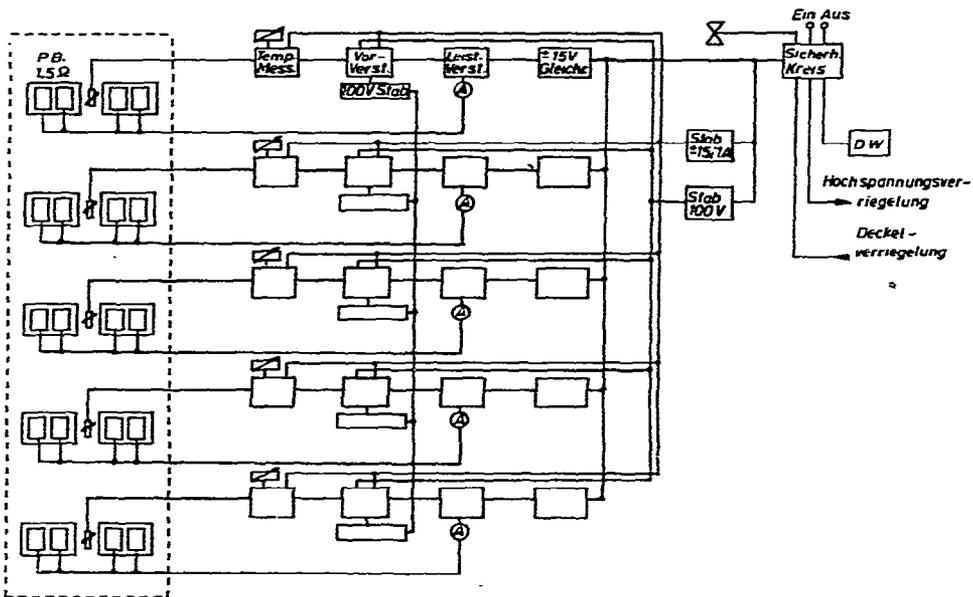


Fig. 2. Blockschaltbild der Apparatur zur Hochspannungionophorese im Temperaturgradienten.

QUANTITATIVE AUSWERTUNG VON PHEROGRAMMEN ZUR ERMITTLUNG DER TRENNGÜTE

Im folgenden werden durch Vergleich von Trenngüten die Vorteile der Anwendung höherer Temperaturgradienten aufgezeigt.

Zum Vergleich der Trenngüte ionophoretischer Trennungen benötigt man ein Auswerteverfahren, das die Stoffverteilung in den Zonen in Form einer angenäherten Gausskurve wiedergibt. Dann gilt²:

$$R_s = \frac{z_2 - z_1}{2(\sigma_1 + \sigma_2)}$$

wobei R_s = Auflösung, Mass für die Trenngüte, $z_2 - z_1$ = Abstand der Mitten zweier getrennter Zonen, σ_1 bzw. σ_2 = Halbwertsbreite der Verteilungskurve einer Zone in 60.7% der Bandenhöhe.

Die Stoffverteilung in den Zonen wird in dieser Arbeit durch Remissionsmessungen³ oder bei radioaktiv markierten Verbindungen durch Aufnahme von Aktivitätsverteilungskurven⁴ ermittelt.

Einfluss der Streifenform auf die Trenngüte

Bei rechteckigen Papierstreifen tritt beim Anlegen eines Temperaturgradienten ein Feldstärkegradient auf, der der Wirkung des Temperaturgradienten entgegengerichtet ist. Die Feldstärke fällt bei einem 2.5 cm breiten rechteckigen Papierstreifen und einem Temperaturgradienten von 1.5°/cm um 0.5 V/cm² ab, wenn die angelegte Spannung 2500 V beträgt (Fig. 3). Konstante Feldstärke erhält man durch keilförmig zugeschnittene Papierstreifen. Quantitative Untersuchungen zeigen jedoch, dass hiermit keine Verbesserung der Trenngüte zu erreichen ist, da wegen des nicht parallelen Feldlinienverlaufs eine Zonenverbreiterung eintritt.

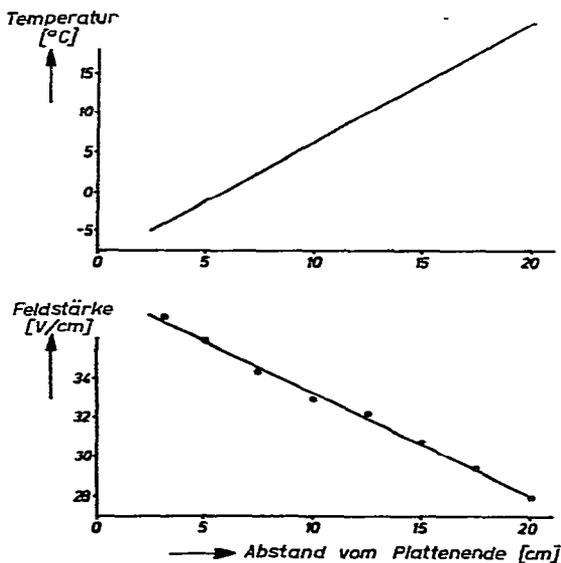


Fig. 3. Temperatur- und Feldstärkeverlauf bei rechteckigen Papierstreifen.

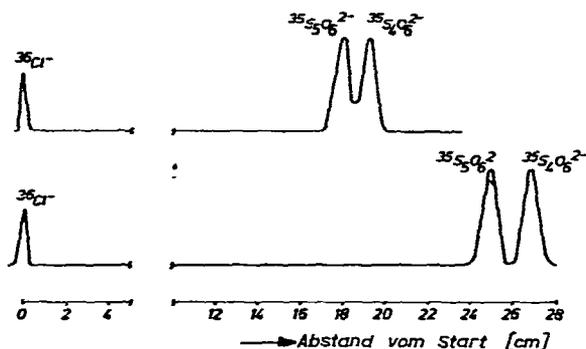


Fig. 4. Aktivitätsverteilungskurven bei der Trennung von $^{35}\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ und $^{35}\text{S}_5\text{O}_6^{2-}$ bei (oben) 0° , $R_S = 1.05$ und (unten) im Temperaturgradienten bei $1.0^\circ/\text{cm}$, $R_S = 1.40$. Trennbedingungen: Feldstärke, 50 V/cm ; Stromstärke, 20 mA ; Trenndauer, 50 min ; Grundelektrolyt, $0.3\text{ M CH}_3\text{COONa} - 0.15\text{ M CH}_3\text{COOH}$; Papier, Schleicher und Schüll 2043 mgl.

Trennung von $^{35}\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ und $^{35}\text{S}_5\text{O}_6^{2-}$ in wässriger Elektrolytlösung

Es werden $10\ \mu\text{l}$ einer Lösung von je 1 mg Polythionat pro ml auf den feuchten Papierstreifen aufgetragen und bei 0° sowie im Temperaturgradienten von $1^\circ/\text{cm}$ unter sonst gleichen Bedingungen getrennt. Nach Trocknen der Pherogramme wird die Verteilung der Aktivität mit dem Papierchromatogrammscanner gemessen. Fig. 4 zeigt die Aktivitätsverteilungskurven. Zur nachträglichen Markierung des Startpunktes dient $^{36}\text{Cl}^-$.

Die Auswertung der Aktivitätsverteilungskurven von je 10 Trennungen ergibt für 0° einen mittleren \bar{R}_S -Wert von 1.06 ± 0.06 und für den Temperaturgradienten von 1.44 ± 0.05 . Das entspricht einer Steigerung der Trenngüte von 35.9% . Bei einem Temperaturgradienten von $0.75^\circ/\text{cm}$ erreicht man eine Steigerung der Trenngüte von 28.6% .

Eine Untersuchung der Trenngüte bei vier verschiedenen Temperaturgradienten zeigt, dass der R_S -Wert im Bereich bis $1^\circ/\text{cm}$ direkt proportional der Grösse des Temperaturgradienten ist (Fig. 5).

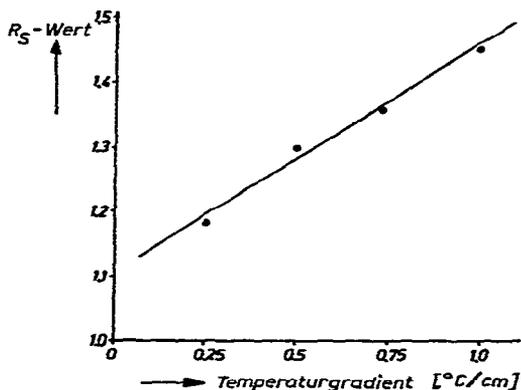


Fig. 5. Abhängigkeit der Trenngüte vom Temperaturgradienten.

Trennungen in nichtwässrigen Lösungsmitteln

Als Grundlektrolyte werden Lösungen von Na_2SO_4 bzw. HCOONH_4 in Formamid verwendet, Systeme, deren Viskosität stärker temperaturabhängig als die wässriger Elektrolytlösungen ist. Als Träger eignet sich Glasfaserpapier, das von fast allen organischen Lösungsmitteln gut benetzt wird. Zur Isolierung der Kühlplatte und zum Abdecken der Streifen dienen PTFE-Folien, als Materialien für die Elektrodentröge Glas oder Polypropylen.

Cis- und trans-[Cr(NCO)₂(en)₂]NCO. Die beiden *cis-trans*-Isomere von $[\text{Cr}(\text{NCO})_2(\text{en})_2]^+$ sind in wässriger Elektrolytlösung nur unvollständig zu trennen. Trennbedingungen: Feldstärke, 75 V/cm; Stromstärke, 20 mA; Trenndauer, 90 min; Grundlektrolyt, 0.3 M CH_3COONa -0.15 M CH_3COOH ; Papier, Schleicher und Schüll 2043 mgl. Zur Trennung in Formamid verwendet man 5 μl einer Lösung der beiden Isomeren (Verhältnis 1:1, Konzentration 0.26 mol/l Formamid). Fig. 6 zeigt die Remissionsgradortskurven der bei 500 nm photometrierten Pherogramme.

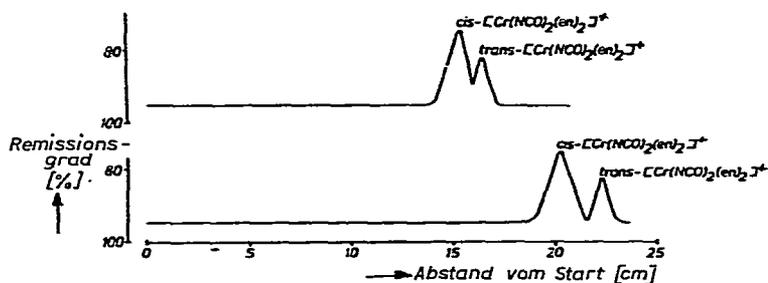


Fig. 6. Remissionsgradortskurve der Pherogramme bei der Trennung von *cis-* und *trans*- $[\text{Cr}(\text{NCO})_2(\text{en})_2]^+$ bei (oben) 0° , $R_S = 0.75$ und (unten) $1.5^\circ/\text{cm}$, $R_S = 1.2$. Trennbedingungen: Feldstärke, 62.5 V/cm; Stromstärke, 10 mA; Trenndauer, 40 min; Grundlektrolyt, gesättigte Lösung von Na_2SO_4 in Formamid; Trenndauer, 40 min; Glasfaserpapier Nr. 6 Schleicher und Schüll.

Die Auswertung der Remissionskurven von je 10 Trennungen ergibt für 0° einen mittleren \bar{R}_S -Wert von 0.77 ± 0.05 und für den Gradienten von $1.5^\circ/\text{cm}$ von 1.19 ± 0.06 . Das entspricht einer Verbesserung der Trenngüte von 50.6%.

$[(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}]_3[\text{Cr}(\text{NCO})_6]$ und $[(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}][\text{Cr}(\text{NCO})_4\text{en}]$. Bei der Darstellung der Cyanatoäthylendiaminchrom(III)-Komplexe aus dem Tetrabutylammoniumsalz des Hexacyanatochromats(III) und Äthylendiamin ist zur Verfolgung des Reaktionsablaufs und zur Reinheitskontrolle der an Al_2O_3 säulenchromatographisch gereinigten Substanzen eine schnelle ionophoretische Trennung von $[(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}]_3[\text{Cr}(\text{NCO})_6]$ und $[(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}][\text{Cr}(\text{NCO})_4\text{en}]$ notwendig⁵.

Da beide Salze in Wasser schwer löslich sind, arbeitet man bei der hochspannung-ionophoretischen Trennung in einem nichtwässrigen Lösungsmittel, in dem die Tetrabutylammoniumsalze löslich sind, z.B. Formamid. Trennbedingungen: Feldstärke, 75 V/cm; Stromstärke, 20 mA; Trenndauer, 10 min; Grundlektrolyt, 0.3 M HCOONH_4 in Formamid; Glasfaserpapier Nr. 6, Schleicher und Schüll).

DANK

Für finanzielle Unterstützung danken wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bonn-Bad Godesberg.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine verbesserte Trennkammer mit Peltierkühlung für die Hochspannungselektrophorese im Temperaturgradienten entwickelt. Sie ermöglicht Temperaturgradienten von $3^{\circ}/\text{cm}$. Wie quantitative Untersuchungen zeigen, beträgt die Verbesserung der Trenngüte gegenüber 0° bis zu 50%. Besonders vorteilhaft wirken sich Grundelektrolytsysteme aus, deren Viskosität stärker temperaturabhängig ist als die wässriger Elektrolytlösungen. Die Anwendung keilförmiger Papierstreifen zur Vermeidung von Feldstärkegradienten bringt keine Vorteile.

LITERATUR

- 1 E. Blasius, H. Augustin und G. Klemm, *J. Chromatogr.*, 108 (1975) 53.
- 2 F. Geiss, *Die Parameter der Dünnschichtchromatographie*, Vieweg, Braunschweig, 1972, S. 66-67.
- 3 E. Blasius und J. Münch, *Z. Anal. Chem.*, 272 (1974) 346.
- 4 E. Blasius und H. Wagner, *Chem. Z.*, 98 (1974) 154.
- 5 E. Blasius und G. Klemm, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, im Druck.