

CHROM. 13,017

Note

Zur Korrektur von R_F -Werten nach Galanos und Kapoulas

HANS-PETER FREY* und GERHARD ACKERMANN

Bergakademie Freiberg, Sektion Chemie, 9200 Freiberg (D.D.R.)

(Eingegangen am 9. Juni 1980)

Trotz wesentlicher Fortschritte auf dem Gebiet der Experimentiertechnik und der Herstellung hochwertiger Sorbentien und Fertigschichten sind die retentionswirksamen Einflussfaktoren in der Dünnschichtchromatographie nicht vollständig zu beherrschen. Die Bewertung der Trennresultate anhand der R_F -Werte ist daher nur mit Einschränkung möglich. Galanos und Kapoulas¹ haben 1964 ein empirisches Korrekturverfahren vorgeschlagen, mit dem nichtkontrollierbare Einflüsse auf den R_F -Wert eliminiert werden können. Die Brauchbarkeit dieser R_F -Korrektur ist vor allem durch einen Ringversuch unterstrichen worden². Eine kritische Wertung hat Geiss vorgenommen³.

Es war Zweck der vorliegenden Arbeit festzustellen, in welchem Umfang das chromatographische Milieu geändert werden kann, ohne die Grenzen praktisch vertretbarer Schwankungen des korrigierten R_F -Wertes zu überschreiten. Mit geringfügigen Abänderungen ist der erwähnte Ringversuch weitergeführt worden.

THEORIE

Der korrigierte R_F -Wert (R_F^c) einer Substanz i wird nach der folgenden Gleichung erhalten:

$$R_{Fi}^c = a \cdot R_{Fi} + b$$

Die Konstanten dieser Geradengleichung sind hier Übertragungsfaktoren, mit denen der R_F -Wert aus einem, in gewissen Grenzen beliebigen, System j^* rechnerisch in ein willkürlich gewähltes Bezugssystem übertragen werden kann. Zur Bestimmung der Konstanten chromatographiert man zwei Bezugssubstanzen, I und II, in beiden Systemen. Dann gilt

$$a = \frac{R_{FII}^c - R_{FI}^c}{R_{FIIJ} - R_{FIJ}} \quad (R_{FII} > R_{FI})$$

und

$$b = R_{FII}^c - a \cdot R_{FIIJ}$$

* Unter "System" wird die Gesamtheit aller auf den R_F -Wert einwirkenden Faktoren verstanden.

Die Gültigkeitsgrenzen dieses Korrekturverfahrens sind theoretisch nicht ableitbar. Formal sind sie an die Bedingung geknüpft, dass sowohl die Substanz *i* wie auch die Bezugssubstanzen der Geradengleichung genügen. Die Erfüllung dieser Bedingung kann von vornherein für chemisch verwandte Substanzen unter isokratischen Trennbedingungen erwartet werden.

EXPERIMENTELLES

Für alle Untersuchungen wurden Trägerplatten 8.5×10 cm (Photodiagläser) verwendet. Die Distanz Eintauchlinie–Start betrug 10 mm, die Trennstrecke 75 mm. Folgende Trennkammertypen kamen zum Einsatz:

- (1) Normalkammer für aufsteigende Entwicklung, gesättigt (modifizierter Hohlglasziegel, Fig. 1a);
- (2) Sandwichkammer für aufsteigende Entwicklung (Eigenbau, Fig. 1b);
- (3) Spezialekammer für horizontale Entwicklung und Milieukontrolle (Eigenbau, Fig. 1c).

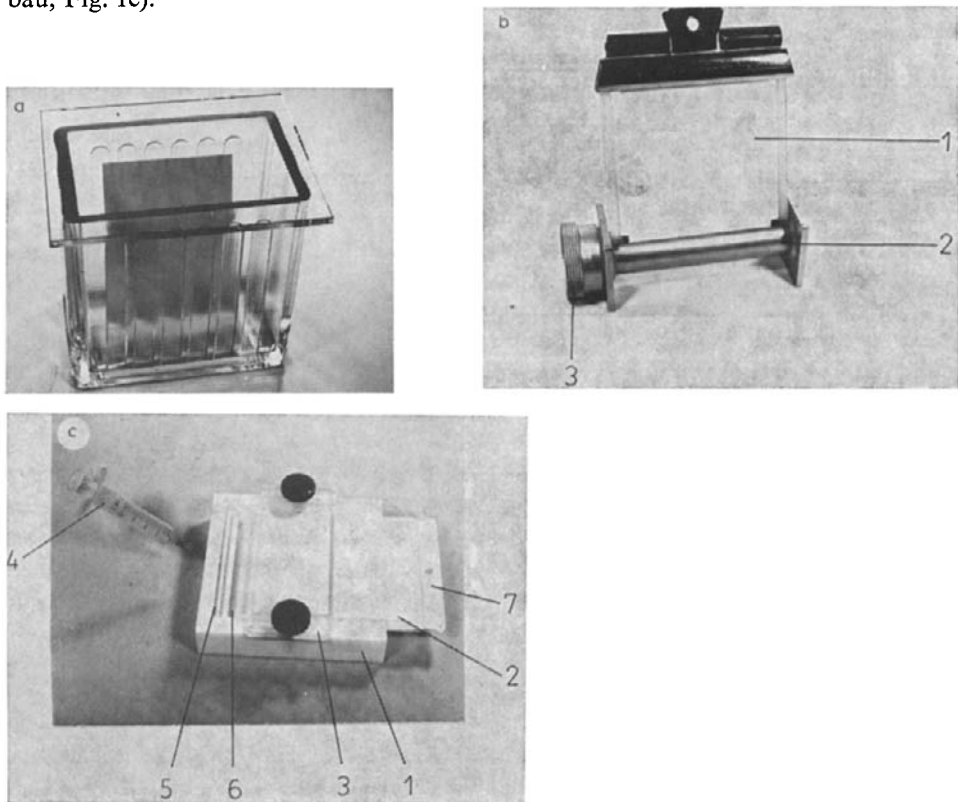


Fig. 1. Entwicklungskammern für das Plattenformat 8.5×10 cm. (a) Normalkammer (modifizierter Hohlglasziegel). (b) Sandwichkammer (Eigenbau); 1 = Sandwichkammer mit DC-Platte, 2 = Fließmittelbehälter, 3 = Verschraubung von 2. (c) Konditionierkammer (Eigenbau); 1 = Trennkammer (PTFE), 2 = DC-Platte, 3 = Verschraubung, 4 = Injektionsspritze für Fließmittelzufuhr, 5 = Docht zur Fließmittelübertragung, 6 = Konditionierraum, 7 = Trennschieber zum Verschliessen von 6.

Als Sorbentien wurden Kieselgel und Aluminiumoxid verschiedenster Qualität und Herkunft verwendet (Tabellen I und II). Testsubstanzen waren Sudan G für Kieselgel und Sudan III für Aluminiumoxid. Als Bezugssubstanzen dienen Indophenol und Buttergelb bzw. *p*-Aminoazobenzol und *p*-Methoxyazobenzol. Die Fließmittel waren Benzol, Toluol und Chloroform, alle chromatographisch rein.

TABELLE I

VERSUCHSBEDINGUNGEN DER IN TABELLE III AUSGEWERTETEN 16 SYSTEME

M = Glühprodukt von Bayerit; N = Glühprodukt von Böhmit; O = Glühprodukt von Hydrargillit (600°C, 30 h); P = Al₂O₃ G (Merck, Darmstadt, B.R.D.); R = Al₂O₃ T (Merck); S = Al₂O₃ basisch (Woelm, Eschwege, B.R.D.); T = Al₂O₃ Sauer (Woelm); NK = Normalkammer; SK = Sandwichkammer; + = Sättigung durch Kammerauskleidung bzw. fließmittelgetränkte Gegenschicht; - = ohne Sättigung; ? = nicht kontrolliert; B = Benzol; T = Toluol.

Lfd. Nr.	Sorbens	Kammertyp	Sättigung	rel. Feuchte in %	Fließmittel
1	M	NK	+	16.1	B
2	M	NK	+	45.6	B
3	N	NK	+	16.1	T
4	N	NK	+	35.2	B
5	N	NK	-	?	B
6	O	SK	+	45.6	B
7	O	NK	+	16.1	B
8	O	NK	+	?	T
9	P	SK	-	?	T
10	R	SK	-	45.6	B
11	R	NK	+	45.6	B
12	R	NK	-	?	T
13	S	SK	-	35.2	B
14	S	NK	+	16.1	B
15	T	NK	+	35.2	B
16	M	SK	-	45.6	T

TABELLE II

VERSUCHSBEDINGUNGEN DER IN TABELLE IV AUSGEWERTETEN 21 SYSTEME

A = Kieselgel G (Merck); B = Kieselgel H (Merck); C = Kieselgel DC (Woelm); D = Kieselgel S (Macherey, Nagel & Co., Düren, B.R.D.); E = Kieselgel G (Macherey, Nagel & Co.); F = Kieselgel G Fertigplatte (Merck); NK = Normalkammer; SK = Sandwichkammer; KK = Konditionierkammer; + = DC Platte 30 mm bei 120°C im Trockenschrank erhitzt; - = kleine Aktivierung; T = Toluol; Bz = Benzol; Chl = Chloroform.

Lfd. Nr.	Sorbens	Kammertyp	Aktivierung	Fließmittel
1	A	NK	+	T
2	B	NK	-	T
3	C	NK	-	Bz
4	C	NK	-	T
5	E	NK	+	Bz
6	E	SK	+	Bz
7	A	SK	-	T
8	D	SK	-	Chl
9	A	SK	+	Chl
10	A	KK	+	T
11	B	KK	+	T
12	E	KK	-	Bz
13	F	KK	-	Chl
14	D	NK	+	T
15	A	NK	+	Chl
16	B	SK	-	T
17	E	SK	+	T
18	F	NK	-	T
19	F	KK	+	Bz
20	F	SK	+	T

In zwei zusammenfassenden Übersichtsexperimenten wurden die Parameter Schichtqualität, Trennkammertyp, Schichtaktivität und Fließmittel willkürlich zu 16 Systemen für Aluminiumoxidschichten (Tabelle I) bzw. Systemen für Kieselgelschichten (Tabelle II) kombiniert. Um dabei der noch immer verbreiteten Praxis zu entsprechen, wurde bei der Kieselgelserie die Änderung der Schichtaktivität durch halbstündiges Erhitzen der Schichten bei 120°C im Trockenschrank und anschliessendes Abkühlen im Exsikkator vorgenommen.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In Fig. 2a sind die R_F^c -Werte von Sudan G (3) den R_F -Werten auf Kieselgelen verschiedener Herkunft (A–F) gegenübergestellt. Die Entwicklung erfolgte in der Sandwichkammer mit Chloroform als Fließmittel. Die Schichtaktivität hat sich frei eingestellt. Die Bezugswerte wurden dem oben genannten Ringversuch entnommen (zitiert in Lit. 3): R_F (Indophenol) = 0.132; R_F (Buttergelb) = 0.467. Alle Werte sind aus fünf Einzelresultaten gemittelt. Während sich die R_F -Werte zwischen 0.24 und 0.57 ändern, liegen die R_F^c -Werte im Bereich 0.21–0.23; sie sind befriedigend konstant.

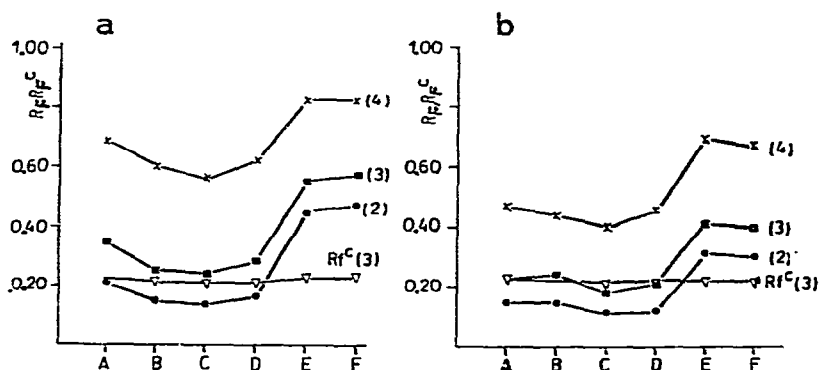


Fig. 2. R_F - und R_F^c -Werte auf Kieselgelschichten. (a) Sandwichkammer; (b) gesättigte Normalkammer (Auskleidung mit fließmittelgetränktem Filterpapier). Testsubstanz: Sudan G (Kurve 3); Bezugssubstanzen: Buttergelb (4) und Indophenol (2); R_F -Werte der Bezugssubstanzen: R_F (4) = 0.47; R_F (2) = 0.13 (entnommen aus Lit. 3); Fließmittel: Benzol; relative Feuchte (Schichtaktivität): nicht kontrolliert; Sorbentien: A–F (vgl. Tabelle II).

Die Fig. 2b zeigt die entsprechenden Ergebnisse in einer Normalkammer. Die R_F -Werte sind erwartungsgemäss erniedrigt, der Unterschied in den R_F^c -Werten ist dagegen statistisch nicht signifikant. Die Veränderung des R_F -Wertes mit der relativen Feuchte in der Trennkammer kann ebenfalls mit dem Korrekturverfahren kompensiert werden, wie Fig. 3a für Aluminiumoxidschichten zeigt. An diesem Beispiel wird ausserdem demonstriert, dass die Wahl der Bezugssubstanzen für das Funktionieren des Korrekturverfahrens von entscheidender Bedeutung sein kann. Die R_F^c -Werte in der Fig. 3a wurden mit den Bezugssubstanzen (2) und (4) berechnet. Diese wandern auf dem Chromatogramm zu beiden Seiten der Testsubstanz. Mit den Bezugssubstanzen (4) und (5) bzw. (1) und (5), die einseitig bzw. in grösserer Entfernung zur Testsubstanz laufen, werden stark fallende bzw. schwankende R_F^c -Werte gemessen. Diese Resultate zeigen, dass die dem Korrekturverfahren zugrunde liegende Voraussetzung der proportionalen Veränderung aller R_F -Werte beim Wechsel

TABELLE III

 R_F - UND R_{F^c} -WERTE, GEMESSEN IN DEN 16 SYSTEMEN DER TABELLE II = *p*-Aminoazobenzol; II = *p*-Methoxyazobenzol; s = Sudan III. Mittelwert: $R_{F^c} = 0.644 \pm 1.8\%$; Bezugssystem: Nr. 13.

Lfd. Nr.	R_{FI}	R_{FII}	R_{Fs}	R_{F^c}
1	0.31	0.62	0.49	0.64
2	0.28	0.62	0.47	0.63
3	0.36	0.70	0.57	0.65
4	0.36	0.71	0.57	0.65
5	0.43	0.84	0.66	0.62
6	0.58	0.91	0.78	0.64
7	0.33	0.67	0.53	0.64
8	0.29	0.69	0.52	0.64
9	0.36	0.85	0.65	0.64
10	0.62	0.95	0.81	0.64
11	0.46	0.68	0.59	0.64
12	0.33	0.69	0.53	0.63
13	0.37	0.83	0.63	0.63
14	0.34	0.65	0.51	0.62
15	0.21	0.60	0.40	0.62
16	0.37	0.84	0.60	0.62

TABELLE IV

 R_F - UND R_{F^c} -WERTE, GEMESSEN IN DEN 20 SYSTEMEN DER TABELLE III = Indophenol; II = Buttergelb; s = Sudan G. Bezugsgrößen: $R_{FI} = 0.132$; $R_{FII} = 0.467$ (entnommen aus Lit. 3).

Lfd. Nr.	R_{FI}	R_{FII}	R_{Fs}	R_{F^c}
1	0.06	0.41	0.12	0.19
2	0.13	0.58	0.21	0.21
3	0.08	0.43	0.15	0.20
4	0.10	0.58	0.21	0.21
5	0.08	0.44	0.16	0.20
6	0.06	0.41	0.17	0.23
7	0.11	0.60	0.22	0.20
8	0.47	0.85	0.69	0.33*
9	0.21	0.63	0.38	0.27*
10	0.06	0.41	0.14	0.20
11	0.04	0.39	0.14	0.23
12	0.13	0.56	0.20	0.19
13	0.21	0.60	0.37	0.27*
14	0.00	0.24	0.05	0.20
15	0.11	0.50	0.25	0.25
16	0.10	0.53	0.21	0.21
17	0.10	0.55	0.22	0.22
18	0.11	0.56	0.22	0.22
19	0.09	0.47	0.18	0.21
20	0.04	0.40	0.10	0.19

* Statistische Ausreisser; Fließmittel = Chloroform; Mittelwert: $R_{F^c} = 0.206 \pm 8.3\%$.

des chromatographischen Systems nur in begrenzten Chromatogrammbereichen erfüllt ist. Grundsätzlich werden proportionale R_F -Änderungen umso eher zu erwarten sein, je geringer die Differenzen der R_F -Werte sind. Dass darüber hinaus die Grenzbereiche des Chromatogramms wegen des dort stark geänderten Fließmittelprofils zu meiden sind, hat Geiss³ bereits unterstrichen (vgl. Fig. 3a. Kurve 5).

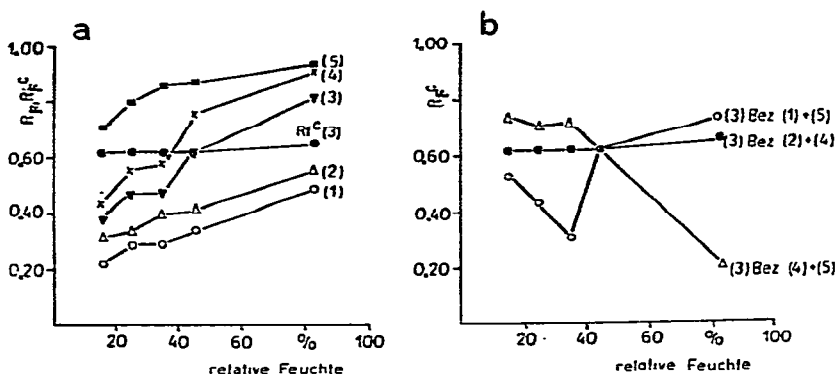


Fig. 3. Abhängigkeit des R_F - und R_F^c -Wertes von der relativen Feuchte in der Trennkammer. (a) R_F -Werte und R_F^c -Wert von Sudan III; (b) R_F^c -Werte von Sudan III für verschiedene Bezugssubstanzen. Testsubstanz: Sudan III (Kurve 3); Bezugssubstanzen: *p*-Hydroxyazobenzol (1), *p*-Aminoazobenzol (2), *p*-Methoxyazobenzol (4), Azobenzol (5); Bezugssystem: 45.6% rel. F; Fließmittel: Toluol; Sorbens: Aluminiumoxid G (Merck).

Die Resultate der beiden Übersichtsversuche sind in den Tabellen III und IV zusammengefasst. Wie zu erwarten, schwanken die R_F -Werte beträchtlich. Die R_F^c -Werte dagegen sind in Anbetracht der teilweise extrem geänderten Versuchsbedingungen erstaunlich konstant. Für Sudan G ergibt sich $R_F^c = 0.21 \pm 8.3\%$. Aus dem erwähnten Ringversuch folgt für den gleichen Farbstoff $R_F^c = 0.22 \pm 6.4\%$. Auf Aluminiumoxidschichten hat Sudan III einen R_F^c -Wert von 0.64 bei einem prozentualen Fehler von nur 1.8% (Tabelle III). Die in Klammer gesetzten Werte der Tabelle IV sind statistisch gesicherte Ausreisser, die mit Chloroform als Fließmittel erhalten wurden. Zwar hat Chloroform in der Snyder'schen⁴ Fließmittelskala mit $\epsilon^0 = 0.26$ nahezu die gleiche Fließmittelstärke wie Benzol ($\epsilon^0 = 0.25$), bedingt aber eine andere Selektivität, so dass das Korrekturverfahren versagt. Andererseits erweist sich hier Toluol dem Benzol gegenüber als gleichwertig; ein Grund mehr, dieses wegen der wesentlich geringeren Toxizität grundsätzlich vorzuziehen.

Als völlig unbrauchbar hat sich das Korrekturverfahren erwiesen, wenn mehrkomponentige und zudem sehr heteropolare Fließmittelgemische verwendet werden⁵. Dann waren die Einflüsse der Schichtaktivität und des Kammertyps (Sandwich- oder gesättigte Normalkammer) auf den R_F -Wert nicht mehr zu kompensieren. Die Ursache hierfür ist sicher in der Entmischung der Fließmittel zu sehen. Dann ist die Trennschicht auch im engeren R_F -Bereich nicht mehr gradientfrei, so dass die R_F -Werte nicht mehr proportional, d.h. mit dem Steigungsmass a der Geradengleichung verändert werden.

LITERATUR

- 1 D. S. Galanos und V. K. Kapoulas, *J. Chromatogr.*, 13 (1964) 128.
- 2 J. H. Dhont, C. Vinkenburg, H. Compaan, F. J. Ritter, R. P. Labadie, A. Verweij und R. A. de Zeeuw, *J. Chromatogr.*, 47 (1970) 376.
- 3 F. Geiss, *Die Parameter der Dünnschichtchromatographie*, Vieweg, Braunschweig, 1972.
- 4 L. R. Snyder, *Principles of Adsorption Chromatography*, Marcel Dekker, New York, 1968.
- 5 Chr. Schütz, *Diplomarbeit*, Bergakademie Freiberg, Freiberg, 1976.