

Hinweis

Bei dieser Datei handelt es sich um ein Protokoll, das einen Vortrag im Rahmen des Chemielehramtsstudiums an der Uni Marburg referiert. Zur besseren Durchsuchbarkeit wurde zudem eine Texterkennung durchgeführt und hinter das eingescannte Bild gelegt, so dass Copy & Paste möglich ist – aber Vorsicht, die Texterkennung wurde nicht korrigiert und ist gerade bei schlecht leserlichen Dateien mit Fehlern behaftet.

Alle mehr als 700 Protokolle (Anfang 2007) können auf der Seite http://www.chids.de/veranstaltungen/uebungen_experimentalvortrag.html eingesehen und heruntergeladen werden.

Zudem stehen auf der Seite www.chids.de weitere Versuche, Lernzirkel und Staatsexamensarbeiten bereit.

Dr. Ph. Reiß, im Juli 2007

364

Lehramtsvortrag vom 25.06.1986

Harald Stenger

Chromatographie

Unter Chromatographie versteht man die Gesamtheit aller Trennmethode,n mit denen Stoffgemische durch Verteilung über zwei Hilfsphasen in ihre Komponenten getrennt werden. Diese beiden Phasen müssen folgenden Bedingungen genügen:

- Sie dürfen miteinander praktisch nicht mischbar sein und
- eine Phase ist unbeweglich (stationäre Phase), die zweite Phase strömt an dieser vorbei (mobile Phase).

Die chromatographische Trennung beruht nun auf der unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit verschiedener Komponenten (Teilchenarten) entlang der Trennstrecke aufgrund eines Wechselspiels "vorwärtstreibender und zurückhaltender Kräfte" und damit verschiedener Verweilzeiten (Retentionszeiten) an der stationären Phase. Das zu trennende Gemisch wird zu Beginn der Trennstrecke aufgegeben und von der mobilen Phase entlang der stationären transportiert. Dabei vollzieht sich ein kontinuierlicher Substanzwechsel zwischen beiden Phasen, deren Ablauf von den Eigenschaften der zu trennenden Verbindungen und der verwendeten Phasen abhängt. Die daraus resultierenden Wanderungsgeschwindigkeiten bewirken eine Fraktionierung in die Einzelkomponenten.

Gliederung chromatographischer Verfahren nach der Trennfunktion

<u>Trennfunktion</u>	<u>Stationäre Phase</u>	<u>Mobile Phase</u>
<u>Adsorptionschromatographie</u>	Festkörper mit unpolaren, physikalischen Oberflächenkräften	Flüssigkeit oder Gas
<u>Verteilungschromatographie</u>	polarer Flüssigkeitsfilm an einem inerten Festkörper	Flüssigkeit oder Gas
<u>Elektrochromatographie</u>	Festkörper	Pufferlösung (Elektrolyt)

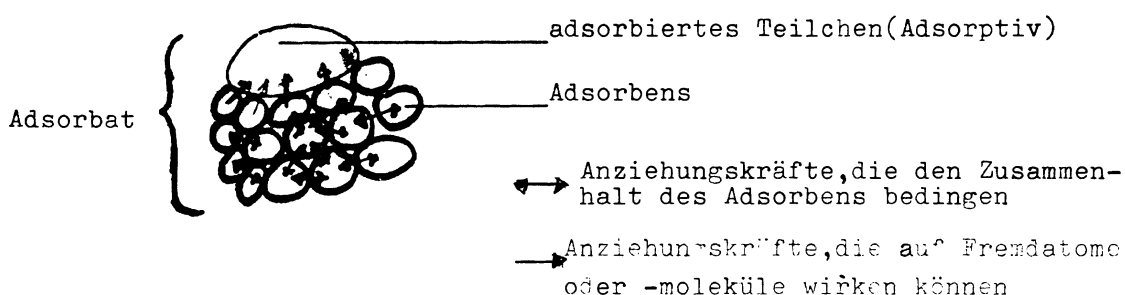
All diese Verfahren zeichnen sich durch die Möglichkeit aus chemisch oder physikalisch empfindliche Stoffgemische bei großer Empfindlichkeit und hoher Trennschärfe voneinander zu trennen.

Die stationäre Phase

a.) Adsorption

Ist die stationäre Phase fest, so sind Unterschiede in den Adsorptionskräften zwischen der festen stationären Phase einerseits und den Komponenten der mobilen Phase andererseits für die Trennung des Gemisches verantwortlich (Adsorptionschromatographie).

Modell zur Erklärung des Adsorptionsphänomens



Die Atome oder Moleküle eines festen Stoffes üben nach allen 3 Raumrichtungen ihre Anziehungskräfte aus; dies bedingt den Zusammenhalt des Stoffes. Die Teilchen an der Oberfläche des Stoffes sind dagegen in der Lage, ihre Anziehungskräfte auch nach außen wirksam werden zu lassen, weil sie nur einseitig mit Nachbaratomen in Wechselwirkung stehen. Häufig weisen sie nicht abgesättigte Valenzen auf, an denen Fremdatome oder -moleküle (Gase oder gelöste Stoffe) gebunden werden können. Man bezeichnet diesen Vorgang b.z.w. diese Verdichtung an der Oberfläche als Adsorption.

Die Ursachen der Adsorption sind hauptsächlich elektrostatische Wechselwirkungen zwischen der Oberfläche des Festkörpers (meist oxidischer Natur) und den polaren Gruppen der adsorbierten Moleküle, wie z.B. Dipol-Dipolwechselwirkungen zwischen permanenten oder durch das Adsorbens induzierten Dipolen, H-Brückenbindungen und Ausbildung von π -Komplexen. Die diesen Physisorptionen zu Grunde liegenden Bindungsenergien betragen zwischen 4 und 40 kJ/mol.

Versuch 1

Geräte: 2 Waschflaschen, Calciumchloridrohr, Wasserstrahlpumpe, Glasrohr, Schlauchverbindungen

Chemikalien: Watte, Zigarette

Man schließt die Geräte so an die Wasserstrahlpumpe, daß sich das locker mit Watte gefüllte Calciumchloridrohr zwischen den beiden Waschflaschen befindet. Verbindet man die der Wasserstrahlpumpe gegenüberliegende Waschflasche mittels eines PVC-schlauches oder eines Glasrohres mit durchbohrten Stopfen mit einer brennenden

Zigarette, so kann man den Zigarettenrauch durch die Apparatur leiten. Der weiße Zigarettenrauch wird von der Watte zurückgehalten, bis sie durch und durch gesättigt ist. Erst dann dringt der Rauch in die zweite Waschflasche vor. Gleichzeitig kann man hierbei auch die Adsorption der teerigen Bestandteile des Rauches beobachten, die bedeutend langsamer vordringen. Ergebnis: Man kann durch Adsorption Stoffe trennen.

Da das Adsorptionsvermögen der festen Substanz beschränkt ist, läßt sich der Adsorptionsvorgang in drei Abschnitte gliedern: Maximales Aufnahmevermögen des Festkörpers, teilweise und schließlich vollständige Sättigung des Adsorbens mit den Adsorbaten. Es kommt zu einer Einstellung eines Adsorptionsgleichgewichtes, daß sich bei konstanter Temperatur durch eine asymptotisch verlaufende Adsorptionsisotherme beschreiben läßt. Dafür gilt die von Freundlich aufgestellte Beziehung:

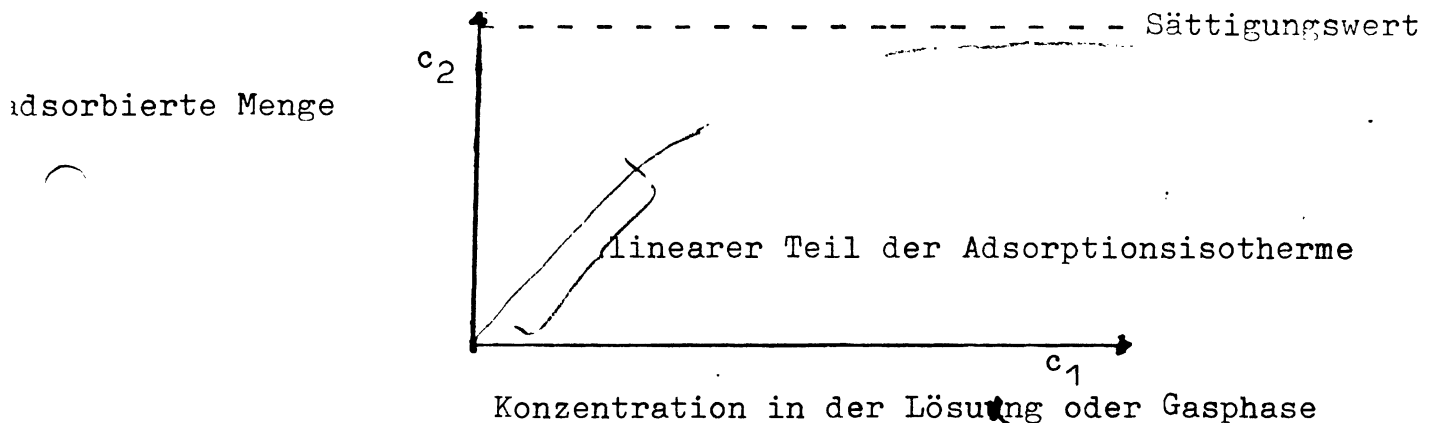
$$\frac{c_1}{c_2^n} = k \quad (n > 1)$$

c_1 = Konzentration der Verbindung in der flüssigen b.z.w. gasförmigen Phase

c_2 = Konzentration der Verbindung an der Festkörperoberfläche

k = Adsorptionsisotherme

Die Adsorptionsisotherme ist eine Sättigungskurve



Nur zu Beginn des Adsorptionsvorganges sind c_1 und c_2 annähernd proportional. Doch da (bei den von Freundlich gemachten Annahmen) höchstens eine monomolekulare Deckschicht auf dem Festkörper entstehen kann, nähert sich die Größe c_2 einem entsprechenden Grenzwert. Somit ist c_1 nicht mehr proportional zu c_2 , sondern einem Exponenten der Größe c_2 . Das Arbeiten im weitgehend linearen Bereich der Adsorptionsisotherme ist die Basis für eine reproduzierbare Chromatographie von Molekülen. Es hat sich gezeigt, daß

dieser lineare Bereich für zahlreiche Adsorbentien gleich ist. Für Trennungen erweist sich ein Verhältnis von 0,1 mg zu trennender Stoff pro 1 Gramm aktiviertes Adsorbens als besonders vorteilhaft. Dieser Bereich wird auch als die lineare Kapazität von Adsorbentien bezeichnet, die sich mit zunehmender Homogenität der Festkörperoberfläche vergrößert. Trennungen auf einem Adsorbens beruhen auf der Tatsache, daß ein Gleichgewichtszustand entsteht zwischen den Molekülen, die auf der stationären Phase adsorbiert werden und den Molekülen, die sich in dem sich in Bewegung befindlichen Lösungsmittel frei bewegen können, wobei einzelne Moleküle zwischen den beiden Phasen wechseln. Wenn die Moleküle einer bestimmten Komponente eine starke Affinität zum Adsorbens haben, dann wird diese Komponente sich nur langsam bewegen, während eine andere Komponente mit geringerer Affinität zum Adsorbens sich schneller bewegen wird. Es ist wichtig Adsorbens und Lösungsmittel so auszuwählen, daß die bestmögliche Trennung einer bestimmten Mischung erreicht wird. Im Allgemeinen wird man die Polarität des Laufmittels der Polarität der Probe anpassen und in den meisten Fällen wird man die starken Adsorbentien für nichtpolare Substanzen, die weniger aktiven Adsorptionsmittel für die stärker polaren Substanzen verwenden. Der Grund für die erste Regel ist ganz einleuchtend. Wenn man z.B. ein polares Laufmittel wählen würde für ein Gemisch unpolarer Substanzen, dann würden die Laufmittelmoleküle bevorzugt adsorbiert, während die Probe das System schnell passieren würde, ohne daß eine Trennung erreicht würde. Wenn andererseits ein nichtpolares Laufmittel für ein polares Substanzgemisch verwendet würde, dann würde das Gemisch am Ausgangspunkt zurückbleiben, so daß auch hier praktisch keine Trennung erreicht würde. Um die Auswahlmöglichkeiten zu verbessern, wurden Tabellen bekannter Laufmittel und Adsorptionsmittel zusammengestellt und in der Reihenfolge zunehmender Polarität und damit zunehmender Elutionskraft und in der Reihenfolge zunehmender Adsorptionskraft. Diese Zusammenstellung beruht auf praktischen Erfahrungen. Man erreicht Trennungen dadurch, daß man das Laufmittel variiert oder die Adsorptionskraft des Adsorptionsmittels abändert. Das Adsorbens erreicht seine aktivste Form, wenn man durch starkes Erhitzen H_2O und organische Verunreinigungen entfernt. Durch Zugabe von definierten Wassermengen, kann man die Aktivität kontrolliert verringern (Desaktivierung). In welchem Ausmaß die Aktivität verringert wird, wird oft an der Brockmannskala abgelesen:

Aktivitätsstufe	1	2	3	4	5
Massenprozent H_2O	0	3	6	10	15

Adsorptionsmittel, nach steigender Adsorptionskraft geordnet:

Zucker, Stärke
Talk
Na₂CO₃
K₂CO₃
CaCO₃
MgO
aktiviertes Kieselgel
aktiviertes Al₂O₃

Laufmittel, nach steigender Elutionskraft geordnet:

Hexan, Petrolether
Heptan
Cyclohexan
CCl₄
Benzol
Toluol
CHCl₃
Diethylether
Essigsäureethylester
Pyridin
Aceton
Propanol
Ethanol
Methanol
H₂O
Mischungen von Säuren b.z.w. Basen mit H₂O, Alkoholen oder Pyridin

b.) Verteilung (stationäre Phase flüssig-mobile Phase flüssig oder gasförmig)

Bei der Flüssig-Flüssig-Chromatographie (LLC) und der Flüssig-Gas-Chromatographie (GLC) ist der zugrundeliegende Prozeß die sogenannte "echte Verteilung", die auf den unterschiedlichen Löslichkeiten verschiedener Reinstoffe in zwei praktisch nicht mischbaren flüssigen Phasen besteht. Es gilt das Nernstsche Verteilungsgesetz:

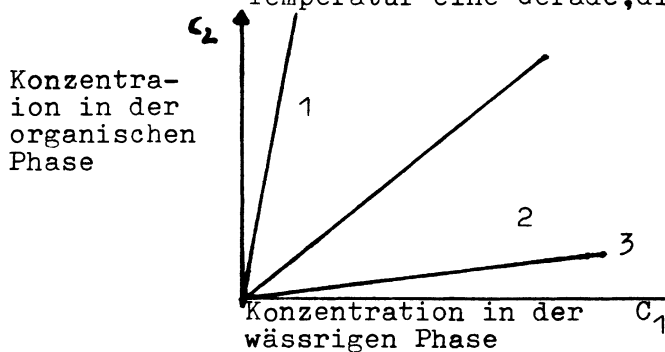
$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

K = Verteilungskoeffizient (im Idealfall T = konst., von der Konzentration c unabhängig)

C_s = Konzentration in der stationären Phase

C_m = Konzentration in der mobilen Phase

Der Verteilungskoeffizient K ist für die jeweilige Substanz in einem definierten System bei konstanter Temperatur eine Konstante. Wird die Konzentration einer Verbindung in Phase 1 gegen die Konzentration in Phase 2 aufgetragen, so ergibt sich bei konstanter Temperatur eine Gerade, die Verteilungsisotherme.



Verteilungsisothermen verschiedener Substanzen
1 = lipophile Substanz (fast nur in der organischen Phase löslich $K \ll 1 - C_1 \ll C_2$)
2 = in beiden Phasen gleich gut lösliche Substanz $K \approx 1 - C_1 \approx C_2$
3 = hydrophile Substanz (fast nur in der wässrigen Phase löslich $K \gg 1 - C_1 \gg C_2$)

Der Wasserfilm an den Cellulosefasern (bei PC) bildet die stationäre Phase, über die die mobile Phase (org. Laufmittel oder Laufmittelgemisch) wandert. Durch Diffusion an den Phasengrenzflächen verteilt sich dabei jede der gelösten Substanzen ständig zwischen beiden Phasen. Die Flüssigkeiten müssen für die Verteilungschromatographie so ausgewählt werden, daß sie möglichst wenig ineinander löslich sind, und daß andererseits die zu trennenden Stoffe in beiden Phasen eine endliche Löslichkeit haben. Während des Chromatographievorganges bilden sich laufend dynamische Gleichgewichte zwischen der mobilen und der stationären Phase aus in Abhängigkeit vom Nernstschen Verteilungskoeffizienten K aus. Da die mobile Phase jedoch über die stationäre Phase hinwegwandert, wird das Gleichgewicht gestört, d.h. eine bestimmte Anzahl von Teilchen aus der stationären Phase hat sich in der mobilen Phase gelöst und ist in dieser mitgeführt worden. Es stellt sich ein neues Gleichgewicht zwischen den Phasen ein, dieses wird durch die Wanderung der mobilen Phase erneut gestört u.s.w.. Anhand Anhang Nr. 1 wird dies an einem konkreten Beispiel veranschaulicht. Dabei wird von einer Teilchenzahl von 10 000 und einem Nernstschen Verteilungskoeffizienten $K=1:4$ ausgegangen. Die einzelnen Wegabschnitte sind als Rechtecke dargestellt, deren Mitten nur als Mittelwerte relevant sind. Bei den geteilten Rechtecken wird deutlich, wie sich die Gesamtteilchenzahl eines bestimmten Wegabschnittes, die jeweils auf der rechten Hälfte aufgeführt ist, aus der Teilchenzahl in der stationären Phase und der Teilchenzahl in der mobilen Phase (Zahlen auf der linken Seite) zusammensetzt. In Anhang 2 sind die Teilchenzahlen der einzelnen Wegabschnitte als prozentualer Anteil der Teilchenanzahl N beim Start aufgetragen. Man erkennt daß die Höhen der einzelnen Säulen nach jedem weiteren Zeitabschnitt streng monoton kleiner werden. Dabei bleibt die Summe der schraffierten Säulen nach einem bestimmten Zeitabschnitt stets gleich. Als anschauliches Modell hierfür möge folgender Versuch dienen, um die Multiplikative Verteilung zu demonstrieren.

Versuch 2

10 gleiche(!) Waschflaschen werden mit einer sehr verdünnten Ammoniaklösung (0,4 ml einer 2-molaren NH_3 -lsg. auf 1 l aqua dest./ pro Waschflasche 60 ml), die durch eine auszuprobierende Menge des Indikators Bromthymolblau blaugrün(!) gefärbt ist, beschickt, hintereinandergeschaltet und an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen. Mit Hilfe einer Gasspritze werden ca. 25 ml CO_2 in die erste

Waschflasche gedrückt. (Die Wasserstrahlpumpe soll nur mäßig und gleichmäßig saugen; nach Zugabe des CO_2 ist es zweckmäßig z.B. mittels Dreiweghahn eine Waschflasche mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ vorzuschalten, um eingesogenes Luft- CO_2 zu binden.) Die eingegebene Menge Gas wird von der mobilen Phase Luft mitgenommen und gelangt in die flüssige Phase (=stationäre Phase) der ersten Waschflasche. Durch Lösen des Gases und Reaktion mit H_2O ändert sich der pH-Wert von schwach basisch zu schwach sauer, der Indikator schlägt von blau nach gelb um. Die strömende Luft transportiert das CO_2 in wenigen Sekunden in die zweite, dann in die dritte Waschflasche. Es erfolgt jeweils der Indikatorumschlag, während zeitlich verschoben der ursprüngliche Farbton wiederkehrt. Die Ausgangsfarbe in den ersten Waschflaschen ist bereits wieder erschienen, während die Wanderung der Umschlagsfarbe noch sichtbar ist. (siehe auch Anhang Nr. 3)

Die mobile Phase

Im Wechselspiel der drei Hauptkomponenten des Sorptionsmilieus (Stoffgemisch, mobile Phase, stationäre Phase) besitzt das Laufmittel einen sehr entscheidenden Einfluß. Für chromatographische Zwecke hat sich die Polarität als zweckmäßig erwiesen. Die Dielektrizitätskonstante ist z.B. als Ordnungsgröße für die Polarität anwendbar, und übliche Flüssigkeiten werden nach steigender Polarität eingeordnet (s. Polaritätsreihe). Mit sehr geringen Umstellungen in der Sequenz wird dieses Ordnungssystem als eluotrope Reihe bezeichnet. Sie ist wegen bestimmter Eigenheiten von Sorptionsmitteln und Laufmitteln in ihrer Reihenfolge strittig. (Für die Chromatographie mit umgekehrten Phasen-reversed phase- werden die gleichen Eluenten verwendet und dann als anisotrope Reihe bezeichnet).

Zur Auswahl der geeigneten Laufmittel geht man immer so vor, daß man zunächst ein Laufmittel mittlerer Polarität wählt (CHCl_3 , CH_2Cl_2). Auf der Basis dieses ersten Ergebnisses wählt man ein polareres oder unpolareres zweites Laufmittel und engt dann das optimale System mithilfe der Lösungsmitteltabellen (eluotrope Reihe) ein durch weitere Versuche und gegebenenfalls durch Mischen von Laufmitteln, die auf der Polaritätsskala nicht allzuweit auseinander liegen sollten. Eine elegantere Lösung zur Auffindung eines geeigneten Laufmittels gibt es bis heute nicht.

Die Überlegungen zur Wahl eines geeigneten Trennsystems, also des Trennprinzips der mobilen und stationären Phase, beruhen ebenfalls wie die Wahl der Ausführungsform auf mehr oder weniger empirischen Regeln, sind aber vielfältiger Natur. Generell ist es von Vorteil,

möglichst viele physikalische und chemische Daten zu kennen, als da sind Löslichkeit, Art und Funktionsfähigkeit funktioneller Gruppen, Molekulargewichte, Absorptionsspektren zum Einsatz kommender Detectoren, Siedepunkte und anderes mehr. Einen ersten Anhalt, bei Kenntnis einiger Eigenschaften der zu trennenden Komponenten bietet die Stahl'sche Dreiecksmethode (Siehe Anhang 4). Das Dreieck ist drehbar und gibt bei der Einstellung der einen Ecke auf die Eigenschaften des zu trennenden Gemisches, die ja vorgegeben sind, die optimalen Trennbedingungen bezüglich der "Aktivität" der stationären Phase und der Polarität des Elutionsmittels an.

Versuch 3:

Auf 3 DC-karten wurden mit dünn ausgezogenen Kapillaren jeweils 7 Tintenfarbstoffe aufgetragen (Brillant-Schwarz, Brillant-Grün, Pink, Brillant-Rot, Violett, Blau-Schwarz, Brillant-Braun, alle von Pelikan). Diese DC-karten wurden in drei DC-Mikroentwicklungskammern entwickelt (1.) Laufmittel CHCl_3 , 2.) Laufmittel $\text{H}_2\text{O}/2\%-\text{NH}_3$ 98/2, 3.) Laufmittel Ethanol/Isopropanol 1/1

Ergebnis: Das erste Laufmittel nahm alle Farbstoffe nicht mit; die Substanzen blieben am Start sitzen. Aufgrund der Erfahrung das Tinten mit Wasser schmieren, sich also lösen wurde als nächstes Laufmittel das sehr polare $\text{H}_2\text{O}/\text{NH}_3$ -gemisch verwendet mit dem Resultat, daß alle Farbstoffe mit der Laufmittelfront mitwanderten. In Vorversuchen wurde jetzt nach und nach das optimale Laufmittel erprobt. Es stellte sich heraus, daß Laufmittel 3.) die beste Trennung erzielte. Durch die Trennung konnte auch gezeigt werden, daß die einzelnen Tinten jeweils aus mehreren Farbstoffen zusammengesetzt waren.

Elektrochromatographie

Die Elektrophorese auf Trägern macht sich die Eigenschaft zunutze, daß elektrisch geladene und echt (molekulardispers) oder Kolloidal (kolloiddispers) gelöste Teilchen zur jeweils entgegengesetzten Elektrode wandern. Definitionsgemäß lassen sich nur jene Substanzen elektrophoretisch trennen, die in der betreffenden Lösung dissoziieren. Das ist wichtig, weil man die Dissoziation beeinflussen kann (z. B.: pH-wert). Bei der von mir verwandten Elektrophorese wandern die geladenen Teilchen auf Papierträgern, die mit entsprechender Pufferlösung getränkt sind. Dabei werden die einzelnen Fraktionen z. T. scharf getrennt und an der stationären Phase stabilisiert. Bei dieser Art von Chromatographie hat das elektrische Feld die wichtigste Trennfunktion, deren Ausprägung jedoch wesentlich durch die Eigenschaften der stationären Phase und

der Elektrolytlsg. beeinflusst wird. Trägererelektrophoresen werden in klinischen, chemischen und biochemischen Laboratorien eingesetzt für Routineuntersuchungen.

Ein Ion wird in einem elektrischen Feld durch konstante Kräfte zur Bewegung in eine bestimmte Richtung veranlaßt. Die Wanderungsgeschwindigkeit v ist abhängig von der Ladungszahl z , der elektrischen Feldstärke E , der Viskosität des Mediums η und dem Radius des Ions r .

$$v = \frac{z_i \cdot E}{\eta \cdot r}$$

Die Ionenmobilität u ist die bei einem bestimmten elektrischen Feld erreichte Geschwindigkeit.

$$u = \frac{v}{E}$$

Die Einflußgrößen kann man folgendermaßen charakterisieren:

-Ladungszahl: Verwendung geeigneter Pufferlösungen, um die für eine elektrophoretische Auftrennung günstigste Ladungszahl der zu trennenden Moleküle zu erreichen.

-Feldstärke: Quotient aus der angelegten Spannung U und der Entfernung der Elektroden d $E = \frac{U}{d}$ [$V \cdot cm^{-1}$]

Verringerung der Trennzeit durch höhere Feldstärke, erhöhte Spannung vergrößert die Wärmeentwicklung (daher Kühlung).

-Viskosität: Verringerung bei steigender Temperatur (ca. 3% größere Wanderungsgeschwindigkeit pro $1^\circ C$ Temperaturerhöhung).

-Ionenradius: Vergrößerung des Ionenradius durch Hydrathülle; bei Wanderung verstärkte Abbremsung durch Gegenionen (Debye-Hückel-effekt).

Faktoren die die Wanderung eines Ions im elektrischen Feld beeinflussen (Papiererelektrophorese) \longrightarrow siehe Anhang Nr. 5

Die elektrophoretische Wanderung von Substanzen kann durch folgende Werte beschrieben werden.

-Wanderungsstrecke (cm oder mm)

-Wanderungsgeschwindigkeit ($cm \cdot h^{-1}$, $mm \cdot h^{-1}$, $mm \cdot min^{-1}$)

-elektrophoretische Mobilität ($cm^2 \cdot v^{-1} \cdot h^{-1}$)

-Beziehung zwischen 2 Wanderungsstrecken:

$$R_b = \frac{\text{Wanderungsstrecke der unbekanntten Substanz}}{\text{Wanderungsstrecke der Bezugssubstanz}}$$

Versuch 4

Die Farbindikatoren Methylorange und Methylenblau wurden als 2%-ige Lösungen (Verhältnis 2/1) zusammengegeben und auf einen dicken Papierchromatographiestreifen (10 cm lang, 2 cm breit) aufgetragen. Dies erfolgt am besten mittels eines rechteckig zugeschnittenen Papierchromatographiestreifens (Tipp-Ex-Format), der so zwischen 2 Objektträgern eingeklemmt wird, daß eine Schmalseite herauschaut wie die Klinge aus einem Rasierapparat. Diese Schmalseite wird in die Mischfarbstofflösung eingetaucht und kurz, vorsichtig in der Mitte des Papierstreifens quer zur Längsrichtung aufgedrückt. Nach kurzer Zwischentrocknung kann man diesen Vorgang vorsichtig wiederholen. Der so vorbehandelte Papierchromatographiestreifen wird zwischen 2 Objektträgern (dient als Verdunstungsschutz) eingelegt und zwar so, daß an beiden Enden ein genügend langer Streifen herauschaut, der jeweils in einen der beiden Puffertanks (pH 7) eintaucht. ———— (siehe Anhang Nr. 6). (100 ml Puffer: 61,2 ml 0,06 M Na_2HPO_4 und 38,8 ml 0,06 M KH_2PO_4). Der Papierchromatographiestreifen sollte vorher mit Puffer getränkt worden sein. In die beiden Puffertröge tauchen 2 Graphitelektroden ein, die mit einer Gleichspannungsquelle verbunden sind. Bei genügend hoher Stromstärke (ohne Kühlung 300-maximal kurzzeitig 600 mA) kann eine deutliche Auftrennung innerhalb von nur einer Minute beobachtet werden. (Vorsicht Hochspannung!). Die getrennten Indikatoren bilden bei der von mir gewählten Auftragechnik 2 schmale, relativ scharfe Banden aus.

Gaschromatographie (Versuch 5)

Die Gaschromatographie (GC) nimmt innerhalb der chromatographischen Verfahren insofern eine Sonderstellung ein, weil sie die einzige Methode ist, die als mobile Phase ein Gas benutzt. Zum Aufbau eines Demonstrationsgaschromatographen siehe Anhang Nr. 7.

Die Temperatur des Wasserbades wird auf 95°C eingestellt, das Trägergas Wasserstoff wird mit einem Druck von 1.7 atü (auf richtigen Sitz der Anschlüsse achten, am besten erhitzte PVC-schläuche weit über die Glasanschlüsse des Gaschromatographen überziehen und die Schläuche zusätzlich mit Schraubklemmen absichern) durch die Apparatur geleitet, und nach erfolgter Knallgasprobe entzündet. Nun gibt man 100 µl eines Gemisches aus Pentan (Sp. 36°C), Monoiodmethan (Sp. 41-43°C), Chloroform (Sp. 61°C) und Toluol (Sp. 110°C) durch Einspritzen durch eine entsprechende PVC-membran am Säulen-

beginn auf. Die Mischung verdampft in dem heißen Einspritzblock innerhalb von Sekunden und wird mit dem Wasserstoffstrom durch die Säule transportiert. Es ist für den Trenneffekt sehr wichtig, daß die Proben möglichst momentan verdampfen. Außerdem soll ^(der Weg) vom Einlaß bis zum Beginn des Säulenkopfes möglichst kurz sein, damit keine Verdünnung der verdampften Substanz durch das Trägergas vor Eintritt in die Säule erfolgt (Vermeidung von unnötiger Bandenverbreiterung). Die Vorteile des Gases als mobile Phase liegen in seinem geringeren Strömungswiderstand gegenüber flüssigen mobilen Phasen begründet. Daher resultieren kürzere Analysenzeiten bei höherer Trennschärfe. Die GC ist allerdings nur auf Gase, unzer- setzt verdampfbare Verbindungen oder in solche überführbare Deri- vate anwendbar. Deshalb ist bei der GC auch die Temperatur eine wichtige Arbeitsgröße. Als Kenngröße in der GC wird häufig die Retentionszeit verwandt: Die Gesamtretentionszeit ist die Zeit vom Einbringen der Probe bis zum Bandenmaximum. Für ein und die selbe Säule ist unter gleichen Bedingungen (Temperatur, Durchfluß- geschwindigkeit des Trägergases, Säulenfüllung und Länge) die Retentionszeit ein reproduzierbares und charakteristisches Kenn- zeichen. Bei der von mir verwandten Säule betragen die Retentions- zeiten unter den angegebenen Bedingungen: Pentan (7 cm hohe, gelbe Flamme) 55 sec., Monoiodmethan (bläulich-weiß-gelbe Flamme, 5 cm hoch) 90 sec., Chloroform (fast weiße, blauummäntelte sehr schmale Flamme, 7 cm hoch) 170 sec., Toluol (außerordentlich helle Flamme, hellgelb und leicht rußend) 6 min..

Versuch 6

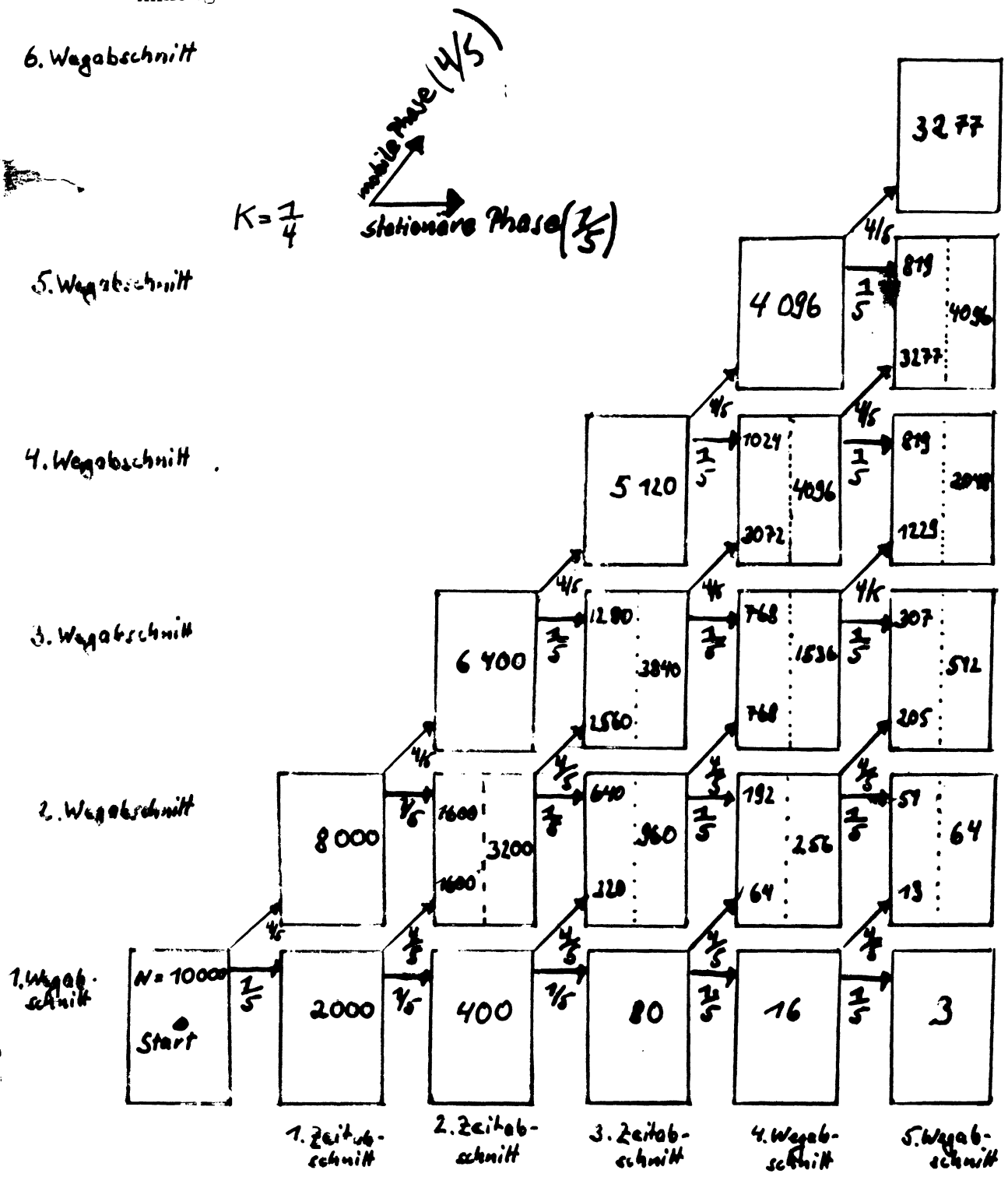
Die Temperatur spielt wie gesagt bei der GC eine wichtige Rolle. Als Faustregel darf gelten, daß bei einer Erhöhung der Säulentem- peratur um 30°C , die Retentionszeiten um etwa die Hälfte abnehmen. Versuch 6 soll diesen Einfluß tendenziös zeigen.

2 in etwa gleichlange PVC-schläuche (z.B. jeweils 2 m lang) mit möglichst großen Innendurchmesser werden entweder mit im Trockenschrank bei 100°C gut getrocknetem Vollwaschmittel locker gefüllt (gleichmäßig!), oder man verwendet mit Silikonoel impräg- niertes Kochsalz zur Füllung (eine entsprechende Menge Kochsalz wird mit einer Silikonoel/Diethylether-Mischung gut umgerührt und über mehrere Tage unter gelegentlichem Umrühren in einem Abzug zur Abdunstung stehen gelassen). Beide Schläuche werden jeweils auf einer Seite mit je einem Bunsen- oder Teclubrenner verbunden (Stellung auf Sparflamme). Die noch freien Schlauchenden

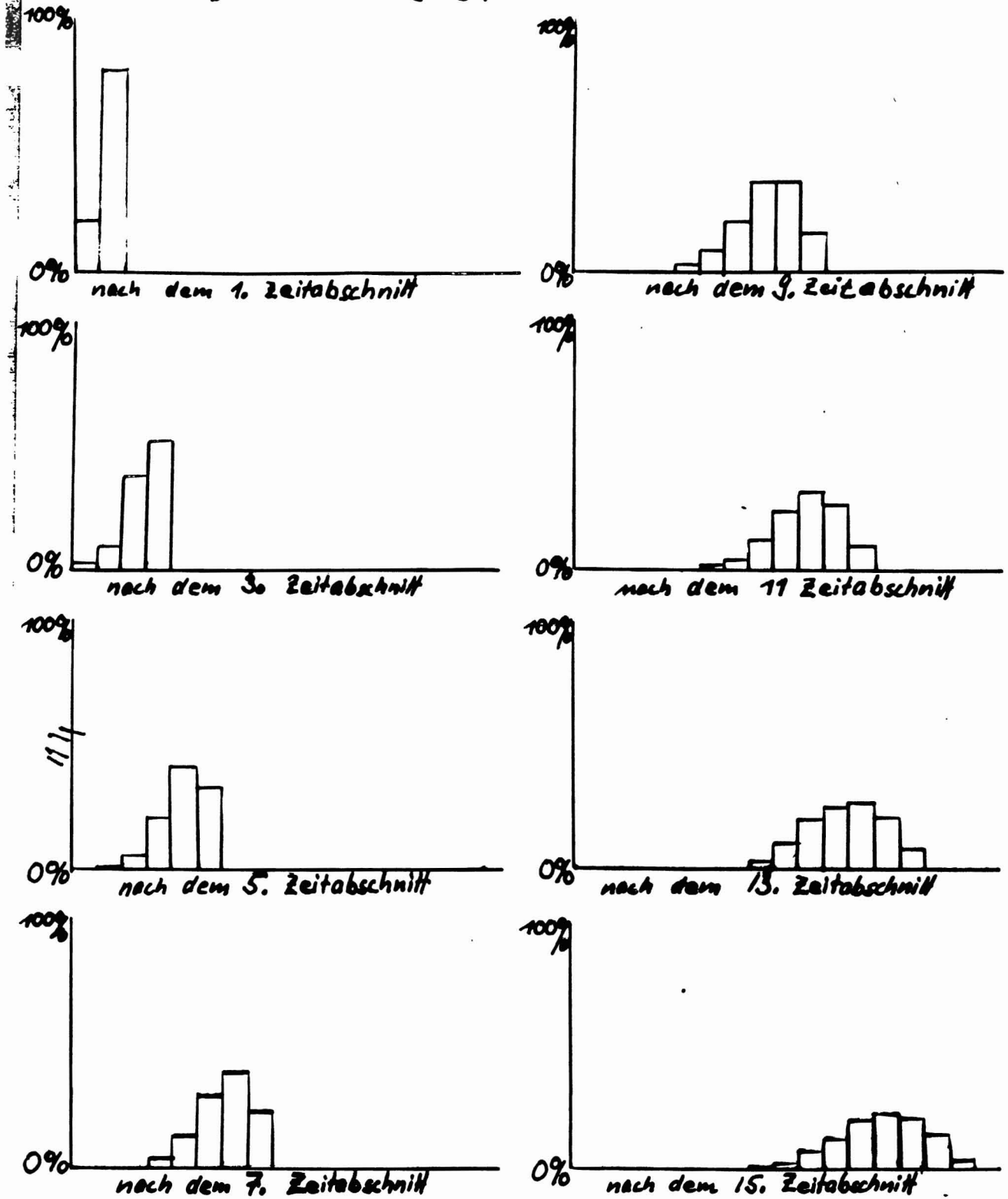
werden jeweils über 2 passende (50 cm lange) Gummischläuche an zwei Erdgasanschlüsse im Labor angeschlossen. Nach Aufdrehen der Gashähne kann es mehrere Minuten dauern, bis das Gas die beiden Brenner erreicht hat. Dann werden beide Brenner im abgedunkelten Raum entzündet. Durch Einspritzen eines Gases (Feuerzeuggas) mittels zweier Einwegespritzen zur gleichen Zeit an den dafür vorgesehenen Gummischlauchstücken, kann man die Retentionszeiten für die beiden eventuell verschieden gepackten "Säulen" ermitteln, und durch Kürzen einer "Säule" und erneuter Retentionszeitmessung beider "Säulen" die Retentionszeiten in etwa gleichgestalten. Um den Einfluß der Temperatur auf die Retentionszeiten nun zu zeigen, wird ein PVC-schlauch in ein heißes Wasserbad (eine halbe Stunde zur Adaptation), der andere in ein eisgekühltes Wasserbad eingelegt. Jetzt wird wieder gleichzeitig in beide Gummischlauchstücke eine jeweils gleiche Menge Gas injiziert. Nun zeigt sich, daß sich die Sparflamme des an die erhitzte "Säule" angeschlossenen Brenners deutlich vor der anderen Sparflamme vergrößert und erhellt was den zeitig früheren Durchbruch des Feuerzeuggases signalisiert. Bei Versuch 6 handelt es sich um eine Adsorptionschromatographie. (im Falle von Waschpulver) Das Trennprinzip des Demonstrationsgaschromatographen ist die Verteilung. Hier wurde eine Kieselgurart (Diaphorit, Chromosorp, Celit) mit Dinonylphtalat, einer mäßig polaren Flüssigkeit mit sehr geringem Dampfdruck, belegt, die Viskosität von Dinonylphtalat ist ebenfalls sehr gering, was kurze Diffusionszeiten bedingt, was sich positiv auswirkt auf die Länge der Retentionszeit und auf die Bandenschärfe.

Literatur:

- Abbott D., Andrews R.S., Chromatographische Methoden
Berufskundliche Reihe zur Fachzeitschrift Chemie für Labor und Betrieb, Umschau Verlag, Band 17, 1. Auflage 1973
- Bukatsch, Glöckner, Experimentelle Schulchemie, Anorganische Chemie, Analytische Chemie, Band 3/11, Auflage 1971
- Bukatsch, Glöckner, Experimentelle Schulchemie, Organische Chemie, Band 6/11, Auflage 1976
- Schlösser Kurt, Praxis der Naturwissenschaften, Heft 3, 1976
- Schäch, Naumer, Martin, Praxis der Naturwissenschaften, Heft 5, 34. Jahrgang, 1985
- Krauß G.-J., Experimente zur Chromatographie, VEB, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1979
- Merck E., Säulenchromatographie
- Riedel-de Haën, Dünnschichtchromatographie auf DC-Karten
- Woelm Pharma, Dünnschichtchromatographie mit Adsorbentien-Woelm



Teilchenzahlen der einzelnen Wegabschnitte als prozentualer Anteil der Teilchenanzahl N beim Start

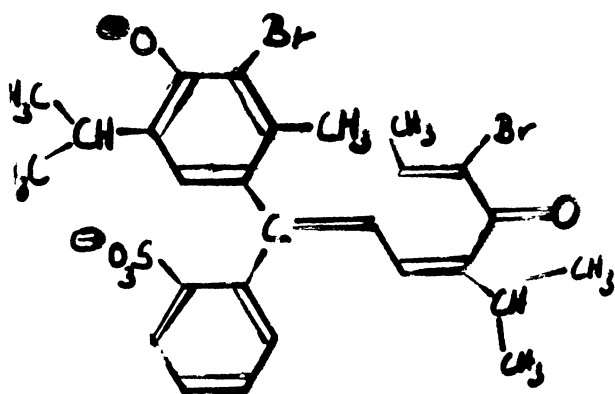


b

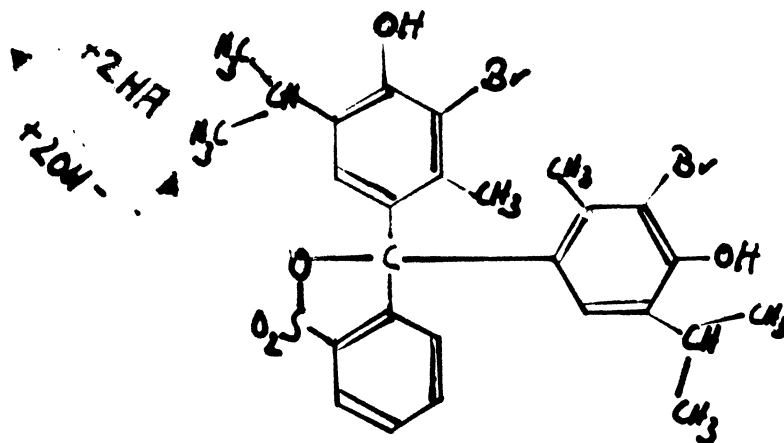
NH_3 kann in reversibler Weise Protonen aufnehmen



Bromthymolblau: Säure-/Base-Indikator aus der Gruppe der Sulfonphthaleine



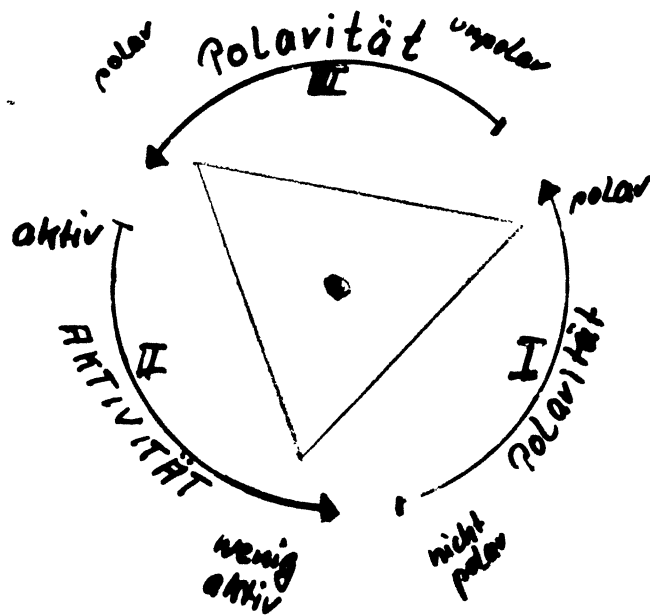
oberhalb pH 7,5
mesomer
blau



gelb pH 2-6

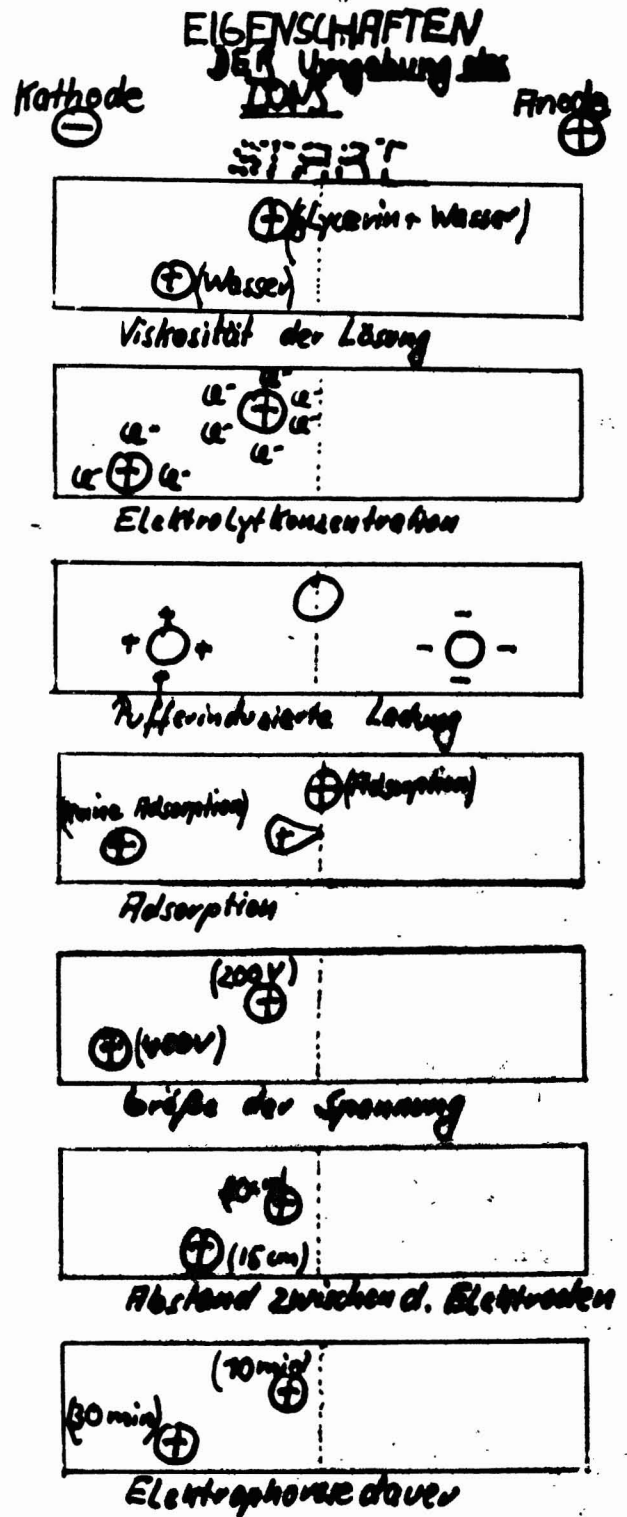
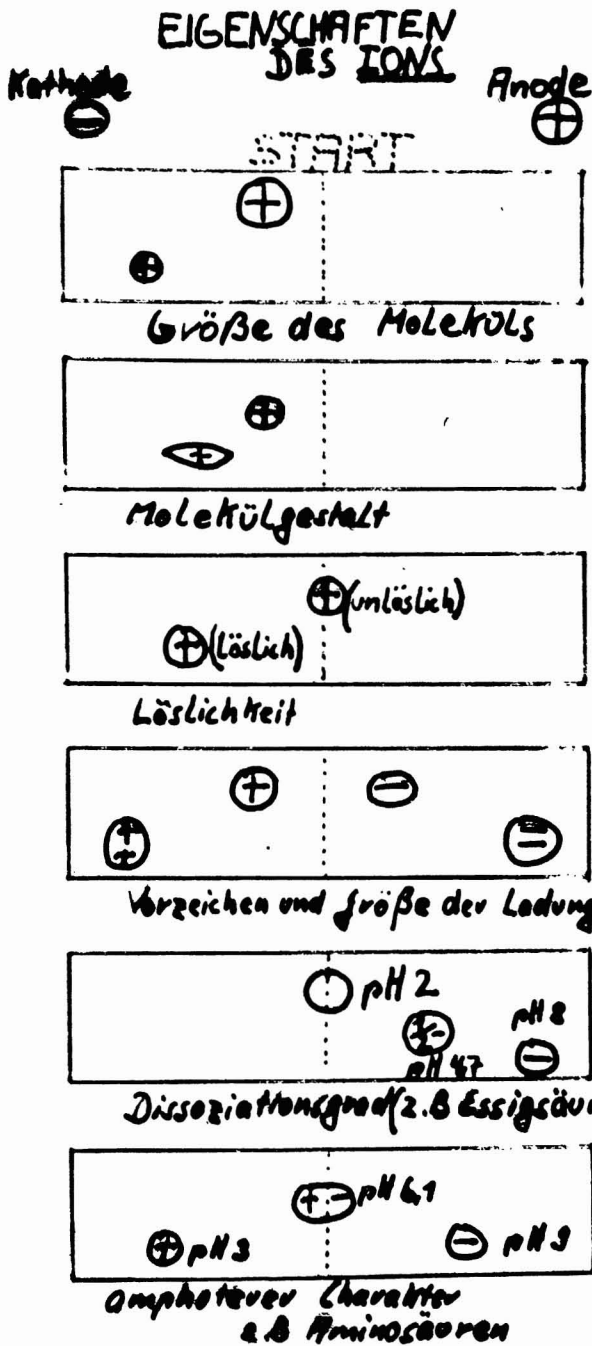
Anhang Nr. 4

STAHL'SCHE DREIECKSMETHODE



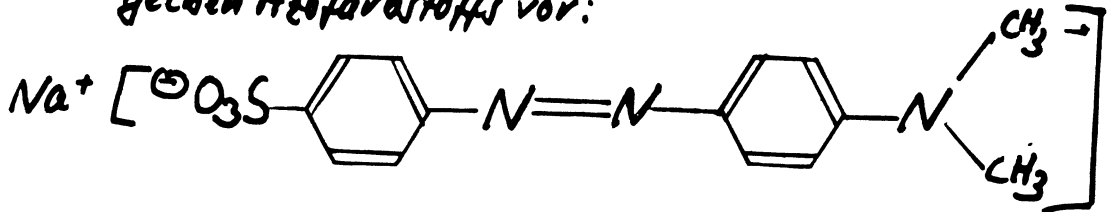
- I zu trennendes Gemisch
- II stationäre Phase
- III mobile Phase Elutionsmittel

Faktoren, die die Wanderung eines Ions bei der Papierelektrophorese beeinflussen:



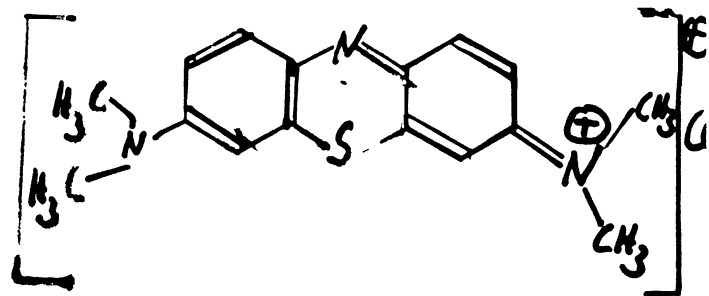
Methylorange $C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$

Farbumschlag rot-gelborange pH 3,1-4,4
oberhalb pH 4,5 liegt die Substanz als Na-Salz des
gelben Azofarbstoffs vor:



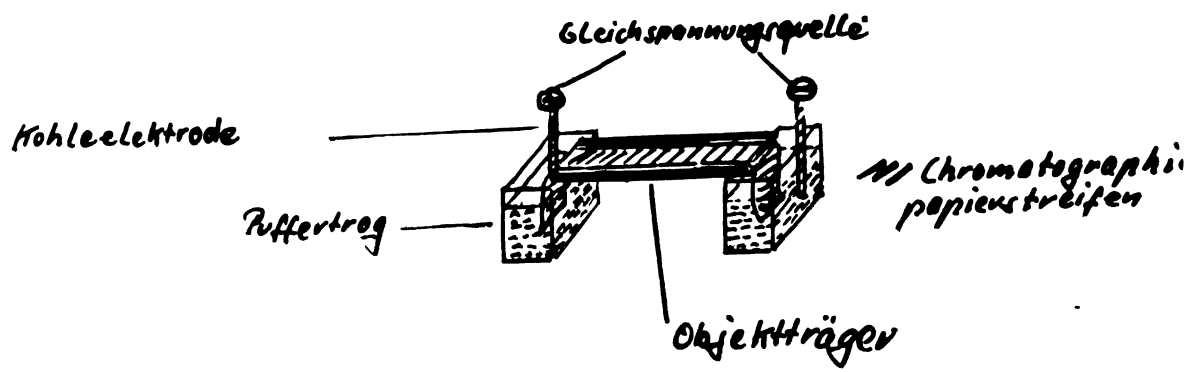
➔ Wanderung zur Anode

Methylenblau $C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot xH_2O$



➔ Wanderung zur Kathode

Einfache Apparatur zur Elektrophorese auf Objektträgern



Anhang Nr. 7

Säule eines Demonstrationsgaschromatographen:

- (1) spiralgewundene Trennsäule; (2) von einem Wasserstrom durchflossener Glasmantel; (3) Säulenbeginn; (4) Einspritzstelle mit PVC-Membran; (5) Trägergaseinlaß; (6) Ende des Trennröhres; (7) Gummistopfen; (8) Verbrennungsdüse; (9) Quarzwollstopfen

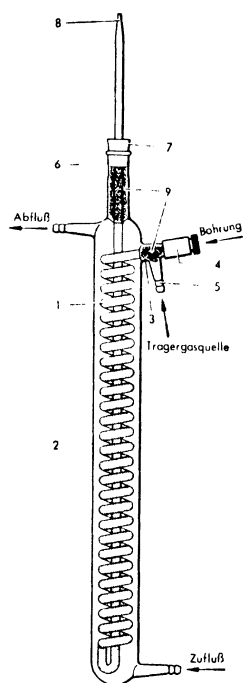


Abb. 79. Säule des Demonstrations-Gaschromatographen (PHYWE)