

## Ein einfacher Lichtabsorptionsdetektor für die Durchlauf-Dünnschichtchromatographie \*

H. U. Schmid, Y. Cramer und H. Arm \*\*

Institut für Organische Chemie der Universität Bern

### Summary

Description is given of a photometric detector for continuous-flow thin-layer chromatography. The detection takes place directly on the thin-layer foil during the separation of sample components. The detector has a maximum of sensitivity at 550 nm. The detection limit is about  $10^{-9}$  grams.

Die Auswahl optimaler Fließmittel für Trennungen, welche mit Hilfe der Hochdruck-Säulenchromatographie ausgeführt werden sollen, kann in Vorversuchen erfolgen. Dazu eignet sich besonders die Durchlauf-Dünnschichtchromatographie, bei welcher das Fließmittel kontinuierlich auf die Dünnschicht aufgebracht und nach einer bestimmten Laufstrecke von ihr abge-

dampft wird; dadurch wird eine konstante Fließgeschwindigkeit auf der Schicht gewährleistet, was die Korrelation der Retentionsdaten der Dünnschicht- und Säulenchromatographie vereinfacht. Um eine visuelle Kontrolle der Trennung der Probenkomponenten zu umgehen, wurde ein einfacher Detektor entwickelt, mit welchem sichtbares Licht absorbierende Stoffe während ihrer Wanderung auf der Dünnschicht nachgewiesen werden können.

### Durchlaufkammer

Die Durchlaufkammer ist in Abb. 1 schematisch dargestellt. Die Dünnschichtfolie *f* (es eignen sich nur Folien mit durchsichtigen Kunststoffträgern) ist mit der Schicht nach oben waagrecht eingespannt. Ihre vordere Querkante ist nach unten in den Fließmitteltrog *t* gebogen. Der Abstand zwischen Folie und Deck-

\* Eingegangen am 1. Dezember 1975

\*\* Prof. H. Arm, Institut für Organische Chemie der Universität Bern, Erlachstrasse 9a, CH-3012 Bern

platte d beträgt 2 mm. Zwei Bohrungen b in der Deckplatte ermöglichen die Probenaufgabe mit Hilfe von Mikropipetten. Die Fließmittelzufuhr erfolgt mit einer Schlauchquetschpumpe über das Rohr z in die Vorkammer k, welche ein Ablaufrohr a enthält. Vorkammer und Fließmitteltrog kommunizieren durch das Verbindungsrohr r. Die Fließmittelzufuhr wird so eingestellt, dass beständig ein kleiner Überschuss durch das Ablaufrohr wegfliessen. Dadurch wird eine konstante

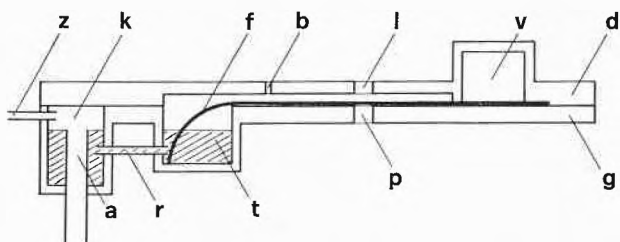


Abb. 1: Durchlaufkammer; Erklärungen im Text

Höhe des Fließmittelhorizontes im Fließmitteltrog und damit eine konstante Eintauchtiefe der Dünnschichtfolie in das Fließmittel erreicht. Über dem Folienende befindet sich der Verdampfungsraum v, in welchem mit einer Saugpumpe Unterdruck so eingestellt wird, dass das Fließmittel genau beim Eintritt in den Verdampfungsraum von der Schicht weg verdunstet. Die Bestimmung der Fließgeschwindigkeit auf der Dünnschicht wurde in einer früheren Mitteilung [1] beschrieben.

Die Durchlaufkammer befindet sich in einem lichtdichten Luftthermostat, welcher auch die Elektronik des Detektors enthält.

### Detektor

Der Nachweis der Probenkomponenten beruht auf ihrer Lichtabsorption im sichtbaren Wellenbereich. Dabei wird Licht von bestimmter Wellenlänge auf die Dünnschicht gestrahlt und der durchtretende Anteil mit einem Photowiderstand gemessen. Es gelangt ein differentielles Verfahren zur Anwendung, indem die Absorption des Probenflecks (Messpunkt) mit derjenigen einer «leeren» Stelle der Dünnschicht (Referenzpunkt) verglichen wird.

Als Lichtquelle wird eine Halogenlampe verwendet, welche in einer optischen Bank auf das gemeinsame Ende eines Lichtfaserleiterpaares fokussiert wird, dessen beide andern Enden in die Bohrungen l am Mess- und Referenzpunkt münden. Zwischen Halogenlampe und Lichtleiter befindet sich ein Grünfilter (Bandfilter Agfa-Gevaert U 535) mit einem Transparenzmaximum bei 535 nm.

In den beiden Bohrungen p der Grundplatte g befinden sich zwei Photowiderstände (Clairex Typ 5 CdS) mit einem Empfindlichkeitsmaximum bei 550 nm. Aus der Transparenzkurve des Grünfilters und der Empfind-

lichkeitskurve der Photowiderstände ergibt sich die Empfindlichkeitskurve des gesamten Detektorsystems in Abhängigkeit von der Wellenlänge; sie erstreckt sich von 500 bis 590 nm und hat ein Maximum bei 550 nm. Die beiden Photowiderstände sind Glieder einer symmetrischen Wheatstone-Brücke, deren Spannungsänderung auf einem Potentiometerschreiber registriert wird.

### Trennbeispiel

Folgende rote Azofarbstoffe wurden getrennt: 1-[(o-methoxyphenyl)azo]-2-Naphthol (im folgenden mit «o» bezeichnet), 1-[(m-methoxyphenyl)azo]-2-Naphthol («m»), 1-[(p-methoxyphenyl)azo]-2-Naphthol («p»), 1-[(p-n-butylphenyl)azo]-2-Naphthol («b») und N-äthyl-1-[(p-phenylazo)phenyl]azo]-2-Naphthylamin («pp»). 1 µl einer Mischung von je 0,025 mg·ml<sup>-1</sup> der Farbstoffe in Oktan wurde in der beschriebenen Durchlaufkammer mit den Fließmitteln Toluol allein und Toluol mit Zusätzen von 1, 2 bzw. 5% Äthanol auf einer Dünnschichtfolie Polygram Sil G (Macherey-Nagel) mit einer Silicagel-Schichtdicke von 0,25 mm aufgetrennt.

Der Abstand Fließmittelauftragungsort – Fließmittelfront betrug etwa 7,5 cm. Die Detektoren waren 4 cm vom Probenauftragungsort entfernt angebracht.

Abb. 2 zeigt ein typisches Chromatogramm. Die negative Bande, welche 9,5 min nach dem Zeitpunkt der Probenauftragung erscheint, wird durch das Lösungsmittel Oktan verursacht. Es kann angenommen werden,

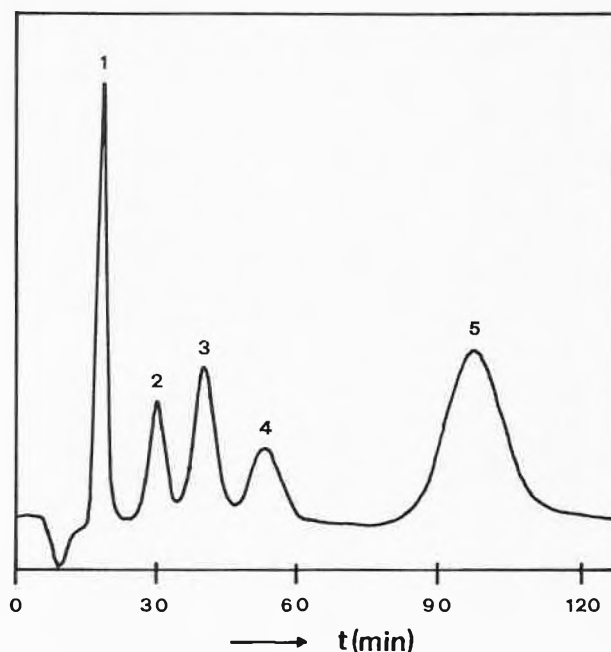


Abb. 2: Trennung eines Gemisches von Azofarbstoffen. Fließmittel: Toluol + 2% Äthanol. t: Retentionszeit. 1: n-Äthyl-1-[(p-phenylazo)phenyl]azo]-2-Naphthylamin, 2: 1-[(p-n-butylphenyl)azo]-2-Naphthol, 3: 1-[(p-methoxyphenyl)azo]-2-Naphthol, 4: 1-[(m-methoxyphenyl)azo]-2-Naphthol, 5: 1-[(o-methoxyphenyl)azo]-2-Naphthol

dass Oktan ungefähr mit der Fließmittelgeschwindigkeit  $u$  auf der Dünnschicht wandert:  $u = 4/9,5 = 0,42 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ . Die unterschiedlichen Bandenhöhen sind auf Unterschiede in der Lichtabsorption der Komponenten bei 550 nm zurückzuführen. Die Basisbreiten der Banden nehmen direkt proportional mit den Retentionszeiten zu; bei quantitativen Bestimmungen müssen die Bandenflächen entsprechend korrigiert werden.

In Tabelle 1 sind die Retentionszeiten der Farbstoffe in Abhängigkeit von der Fließmittelzusammensetzung aufgeführt.

Tabelle 1: Retentionszeiten

Äthanolzusatz [%]	Retentionszeiten der Farbstoffe [min]				
	pp	b	p	m	o
0	17,5	39	61	90	162
1	18,5	35	51	71	131
2	18,0	31	42	55	100
5	16,5	23	28	34	58

Die Zahl der theoretischen Trennstufen  $N$  wird wie folgt berechnet:

$$N = 16 \left( \frac{a}{b'} \right)^2 \quad (1)$$

( $a$ : Distanz Probenauftragungsort-Detektor in [cm],  $b'$ : Probenfleckdurchmesser in Fließrichtung in [cm]). Da der Detektor den durchwandernden Probenfleck anzuzeigen beginnt, wenn die vordere Peripherie (in Fließrichtung) des Flecks die hintere Peripherie des Detektors erreicht, und die Anzeige endet, wenn die hintere Peripherie des Flecks die vordere Peripherie des Detektors verlässt, wird der Durchmesser des Flecks um den Betrag  $d$  (= Detektordurchmesser) zu gross angezeigt; die Beziehung (1) muss entsprechend korrigiert werden:

$$N = 16 \left( \frac{a}{b-d} \right)^2 \quad (2)$$

( $b$ : scheinbarer Probenfleckdurchmesser in Fließrichtung in [cm]).

Durch Einsetzen von

$$\begin{aligned} a &= t_c \cdot v \\ b &= b_c \cdot v \\ d &= d_c \cdot v \end{aligned}$$

( $v$ : Wanderungsgeschwindigkeit des Probenflecks auf der Dünnschicht,  $t_c$ : Retentionszeit auf dem Chromatogramm in [min],  $b_c$ : Basisbreite der Bande auf dem Chromatogramm in [min],  $d_c$ : auf die Dimensionen des Chromatogramms umgerechneter Detektor«durchmesser» in [min]) in Gl. (2) folgt:

$$N = 16 \left( \frac{t_c}{b_c - t_c(d/a)} \right)^2 \quad (3)$$

Tabelle 2 enthält die nach Gl. (3) berechneten Werte von  $N$  und die Werte von  $b'$  der Farbstoffe bei der Trennung mit reinem Toluol als Fließmittel;  $a = 4 \text{ cm}$ ,  $d = 0,4 \text{ cm}$ .

Tabelle 2: Berechnete Werte  $N$  und  $b'$ 

Farbstoff	$t_c$ [min]	$b_c$ [min]	$N$	$b'$ [cm]
pp	17,5	4,5	648	0,63
b	39	10	654	0,63
p	61	17	501	0,71
m	90	25	506	0,71
o	162	41	683	0,61

Die Zahl theoretischer Trennstufen pro cm Dünnschicht beträgt im Mittel 150. Die unterste Nachweisgrenze des Detektors liegt ungefähr bei  $10^{-9}$  Gramm, kann aber mit relativ einfachen Mitteln gesteigert werden. Die beschriebene Apparatur weist folgende Vorteile auf: relativ einfache Handhabung; es können viele Trennungen nacheinander auf derselben Dünnschichtfolie durchgeführt werden; die Trennung kann direkt auf der Schicht verfolgt werden, eine zusätzliche visuelle oder densitometrische Kontrolle nach der Trennung ist unnötig. Der Fließmittelwechsel ist etwas umständlich, kann aber durch Verwendung mehrerer Durchlaufkammern mit verschiedenen Fließmitteln umgangen werden. Es ist vorgesehen, die Detektion auf den gesamten sichtbaren und den UV-Bereich auszuweiten und die Methode auch für quantitative Analysen und für Gradientelution auszubauen.

Die vorliegende Arbeit wurde durch Mittel des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Kredit Nr. 252671) ermöglicht.

#### Literatur

- 1 M. Schweingruber, Y. Cramer und H. Arm: *Chimia* 29 (1975) 301.