

CHROM. 7546

## EINFLUSS DER GESCHICHTE DES KIESELGELS IN DER DÜNNSCICHT-CHROMATOGRAPHIE

KAREL CHMEL

*Entwicklungslaboratorium, Glaswerke Kavalier, Betrieb Votice, 259 01 Votice (Tschechoslowakei)*

(Eingegangen am 4. März 1974)

### SUMMARY

#### *Influence of the history of silica gel in thin-layer chromatography*

It has been shown that the history of silica gel (in particular the relative humidity of the air to which the silica gel was exposed before its use in chromatography) affects the  $R_F$  values of the chromatographed substances. This effect is caused by a hysteresis loop on the silica gel adsorption isotherm, so that one particular silica gel sample may have various water contents at a given relative air humidity, depending on its history. The phenomenon discussed is illustrated by the chromatographic behaviour of some azo dyes and alkaloids.

### EINLEITUNG

Die Feuchtigkeit der umgebenden Atmosphäre beeinflusst das Ergebnis der chromatographischen Trennung wesentlich. In der Adsorptionschromatographie nehmen die  $R_F$ -Werte der zu trennenden Stoffe gewöhnlich mit der Luftfeuchtigkeit zu. Diese Wirkung zeigt sich insbesondere bei der Chromatographie auf dünnen Kieselgel-Schichten bei Verwendung wenig polarer Fließmittel<sup>1-3</sup>. Bei einer bestimmten Menge des im Kieselgel gebundenen Wassers gibt es oft die Bedingung für gute Trennung<sup>4</sup>.

Die Tatsache, dass die Adsorptionsisothermen des Kieselgels infolge der Kapillarkondensation des Sorbates eine Hysteresis aufweisen, ist auch gut bekannt<sup>5,6</sup>. Die Anwesenheit der Hysteresis-Schleife bedeutet, dass bei gleicher relativer Luftfeuchtigkeit das Kieselgel einen verschiedenen Wassergehalt je nachdem besitzen kann, ob es seinen aktuellen Zustand entlang des Adsorptions- oder Desorptionsastes der Isotherme erreicht hat, und ferner je nachdem, ob die Desorption von einem völlig inaktivierten Kieselgel (100% relativer Feuchtigkeit) ausgeht oder von einem Kieselgel mit niedrigerem Wassergehalt<sup>7</sup>. Wenn also bei der chromatographischen Trennung die Luftfeuchtigkeit so ist, dass ihr Wert in den Bereich der Hysteresis-Schleife fällt, muss erwartet werden, dass das Ergebnis der chromatographischen Trennung von der Geschichte des Kieselgels abhängig wird, d.h. davon, ob das Kieselgel vorher einer Atmosphäre mit einer niedrigeren oder höheren Feuchtigkeit ausgesetzt war, als der aktuelle Wert beträgt.

## EXPERIMENTELLER TEIL

*Material*

Fertig-Folien für Dünnschichtchromatographie (DC) Silufol<sup>®</sup> der Grösse 15 × 15 und 5 × 15 cm. Trennkammer der Grösse 180 (Höhe) × 80 (Tiefe) × 180 (Breite) mm und Testfarbstoffgemisch aus der Garnitur für TLC I (Glasswerke Kavalier, Votice, Tschechoslowakei). Die verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel waren p.a. Das Toluol wurde mit Natrium getrocknet und redestilliert.

*Adsorptionsisotherme*

Die Adsorptionsisotherme wurde mittels Adsorption von Wasser am Kieselgel Silpearl für DC bei 25° und normalem Luftdruck gemessen<sup>8</sup>. Beim Messen des Adsorptionsastes der Isotherme wurde eine Probe völlig aktivierten Kieselgels in einem Wägegläschen über einer Schwefelsäurelösung geeigneter Konzentration<sup>8</sup> in einem Thermostat während der zur Erreichung des Gleichgewichtes erforderlichen Zeit (gewöhnlich 2–3 Tage) belassen. Die Menge des adsorbierten Wassers wurde durch Wägen auf einer analytischen Waage festgestellt und in Prozenten der Einwaage des Kieselgels ausgedrückt. Beim Messen des Desorptionsastes der Isotherme wurde eine Probe völlig inaktivierten Kieselgels (100% relative Feuchtigkeit) verwendet. Die erhaltenen Werte wurden in ein Diagramm der Abhängigkeit der Menge des adsorbierten Wassers von der relativen Luftfeuchtigkeit eingetragen (Fig. 1).

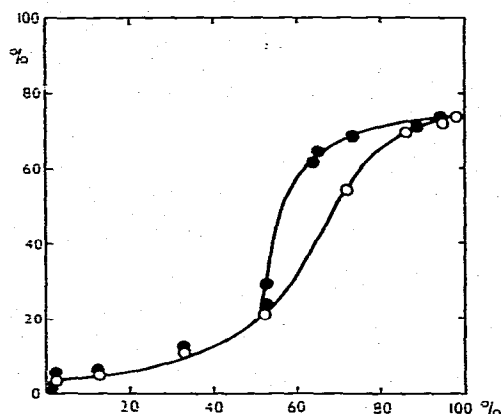


Fig. 1. Typische Adsorptionsisotherme des Kieselgels Silpearl. Abhängigkeit der Menge des adsorbierten Wassers (Achse y: die Menge wird in Prozenten der Einwaage des Kieselgels ausgedrückt) von der relativen Luftfeuchtigkeit (Achse x). —○—, Adsorption; ●—●, Desorption.

*Abhängigkeit der  $R_F$ -Werte von der relativen Luftfeuchtigkeit*

Auf einer Fertig-Folie Silufol<sup>®</sup> wurden der Start und eine 10 cm lange Laufstrecke bezeichnet. Die Folie wurde dann 30 min in einem Trockenschrank bei 110° aktiviert. Nach Herausnehmen wurde die Adsorbensschicht mit einer Glassplatte bedeckt, und zwar mit Ausnahme des Startes, auf den die Lösungen der Proben bzw. das Testfarbstoffgemisch schnell aufgetragen wurden. Die so vorbereitete Silufol<sup>®</sup>-Folie wurde schnell in die Trennkammer mit gut dichtendem Deckel übertragen,

in der sich ein Becherglas mit einer Schwefelsäurelösung geeigneter Konzentration und ein Haarhygrometer ("Präzisionshygrometer", Firma Lange, Berlin, D.D.R.) befanden. Die ganze Kammer wurde in einen Thermostat bei einer Temperatur von 25° während der zur Erreichung des Gleichgewichtes erforderlichen Zeit (1–2 Tage) eingelegt; hierauf folgte das Entwickeln wiederum bei einer Temperatur von 25°, das bei den Testfarbstoffen in einer gesättigten Kammer in Toluol durchgeführt wurde. In ähnlicher Weise wurde zwecks Feststellung des Einflusses der Luftfeuchtigkeit bei der Desorption vorgegangen: nur statt der Aktivierung im Trockenschrank wurde die Silufol<sup>®</sup>-Folie 24 h über Wasser belassen, die Proben wurden aufgetragen, das Silufol<sup>®</sup> wurde dann während der zur Erreichung des Gleichgewichtes erforderlichen Zeit der Desorption über Schwefelsäurelösung unterzogen und augenblicklich entwickelt. Die erhaltenen Werte wurden in ein Diagramm der Abhängigkeit der  $R_F$ -Werte von der relativen Luftfeuchtigkeit eingetragen (Fig. 2, 3).

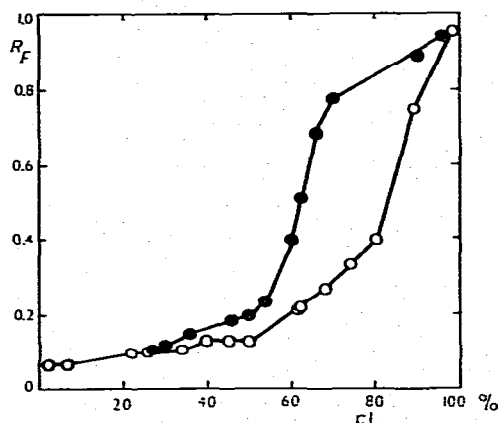


Fig. 2. Abhängigkeit des  $R_F$ -Wertes von Sudan III von der relativen Luftfeuchtigkeit. ○—○, Adsorption; ●—●, Desorption.

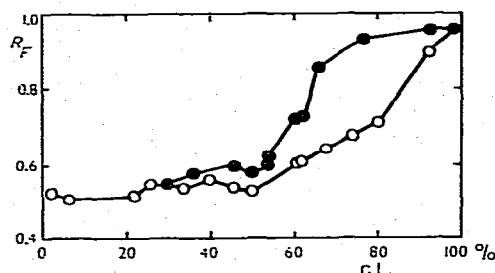


Fig. 3. Abhängigkeit des  $R_F$ -Wertes des Azobenzols von der relativen Luftfeuchtigkeit. ○—○, Adsorption; ●—●, Desorption.

Für eine weitere Reihe von Versuchen wurden stets zwei Silufol<sup>®</sup>-Folien von 5 × 15 cm genommen, eine wurde aktiviert und die andere über Wasser völlig inaktiviert. Auf beide Folien wurden dann in der beschriebenen Weise Lösungen von Alkaloiden aufgetragen. Diese beiden Folien wurden in eine Trennkammer mit gut dichtendem Deckel übertragen, in der sich nur ein Haarhygrometer befand. Die Kammer wurde in den Thermostat während der zur Erreichung des Gleichgewichtes erforderlichen Zeit eingelegt (gewöhnlich 5 h). So wurden die beiden Folien auf die gleiche relative Feuchtigkeit gebracht und dann gleichzeitig in einer einzigen Trennkammer entwickelt (Fig. 4).

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Abhängigkeit der  $R_F$ -Werte von der relativen Luftfeuchtigkeit zeigte einen ähnlichen Verlauf für die Farbstoffe Dimethylgelb, Sudan III, Sudanblau II und

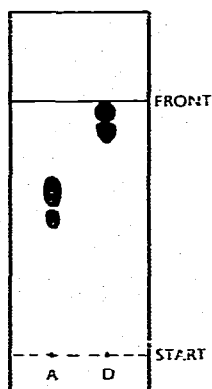


Fig. 4. Chromatographische Trennung von Strychnin und Brucin bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 69%. Entwicklung in ungesättigter Kammer 30 min nach Aufgiessen der Lösungsmittel: Fließmittel: Chloroform-Aceton-Diäthylamin (5:4:1): Nachweis mit Jodoplatinat<sup>12</sup>. A, Adsorption; D, Desorption.

Sudanrot R (Fig. 2), während bei Azobenzol ein etwas anderer Verlauf (Fig. 3) festgestellt wurde und zwar darum, weil der  $R_F$ -Wert des Azobenzols auch bei niedrigen relativen Luftfeuchtigkeiten nicht sinkt<sup>2</sup>. Trotzdem ist in allen Fällen ersichtlich, dass bei höherer relativer Luftfeuchtigkeit einem bestimmten Wert dieser Feuchtigkeit zwei  $R_F$ -Werte des gleichen Stoffes entsprechen und zwar je nachdem, ob das Adsorbens den der gegebenen Feuchtigkeit entsprechenden Zustand entlang des Adsorptions- oder des Desorptionsastes der Isotherme erreicht hat. Die Abhängigkeiten weisen eine Hysteresis-Schleife auf, die der Hysteresis auf der Adsorptionsisotherme des Adsorbens sehr ähnlich ist (Fig. 1).

Wenn also bei gleicher Temperatur, gleicher Luftfeuchtigkeit und gleichen anderen Bedingungen die Trennung der gleichen Probe auf zwei Schichten ausgeführt wird, von denen die erste Wasser aus der Atmosphäre adsorbiert hat, während von der zweiten Wasser desorbiert worden ist, so erhält man verschiedene Ergebnisse (Fig. 4). Der Unterschied hängt von der Natur der zu trennenden Stoffe ab, ferner von der Qualität des Entwicklungssystems und von der relativen Luftfeuchtigkeit bei der Trennung.

Hieraus ist ferner ersichtlich, dass die Ergebnisse chromatographischer Trennung auf im Laboratorium hergestellten Platten, und zwar aus einem Kieselgel der gleichen Charge, nicht verglichen werden können, wenn ein Teil der Platten nach der Herstellung frei an der Luft getrocknet wurde (der Wassergehalt sinkt entlang des Desorptionsastes der Isotherme) und der zweite Teil im Trockenschrank getrocknet wurde (diese Platten wurden eigentlich aktiviert, und an der Luft steigt der Wassergehalt des Kieselgels entlang des Adsorptionsastes der Isotherme).

Die relative Luftfeuchtigkeit im Laboratorium schwankt sowohl in der Jahreszeit (im Winter ist sie zumeist 30–40%, im Sommer 50–60%) als auch in Abhängigkeit vom Wetter und von anderen Faktoren. Kurzfristige Schwankungen der Luftfeuchtigkeit können durch verschüttetes Wasser, abgewischten Fußboden usw. bewirkt werden. Bei freier Aufbewahrung der DC-Schichten im Laboratorium kann der Wassergehalt im Adsorbens auch infolge eines kurzfristigen Ansteigens der Feuchtig-

keit der umgebenden Atmosphäre zunehmen, denn die Wasseraufnahme geschieht relativ schnell<sup>3</sup>. Wenn die aktuelle Luftfeuchtigkeit dann in den Bereich der Hysteresis-Schleife fällt, wird in gewisser Masse dieser erhöhte Wassergehalt im Adsorbens auch nach dem Sinken der Luftfeuchtigkeit auf den ursprünglichen Wert bewahrt. So hängen der Wassergehalt und die  $R_F$ -Werte von der maximalen Luftfeuchtigkeit ab, dem das Kieselgel vor seiner Verwendung ausgesetzt war.

Diese Erscheinung kann auch zum Teil die häufig beobachteten nichtkonstanten Eigenschaften sog. engporiger Kieselgele erklären, bei denen die Hysteresis-Schleife auf der Isotherme bei niedrigeren relativen Luftfeuchtigkeiten liegt<sup>9</sup> und die Gefahr der Beeinflussung der chromatographischen Eigenschaften grösser ist.

Daraus ist ersichtlich, wie die Geschichte des Kieselgels (und allgemein eines jeden beliebigen Adsorbens, dessen Isotherme eine Hysteresis aufweist) die Streuung der  $R_F$ -Werte vergrössern kann. Bei höheren Ansprüchen auf die Reproduzierbarkeit der  $R_F$ -Werte ist es also notwendig, die DC-Schichten zu aktivieren und entsprechend einem früheren Vorschlag von Stahl im Exsikkator aufzubewahren<sup>10</sup>, damit sie einen definierten Ausgangszustand aufweisen<sup>11</sup>, und sie vor dem Entwickeln mit der Feuchtigkeit der umgebenden Atmosphäre ausgleichen zu lassen.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Es wird gezeigt, dass die Geschichte, konkret die relative Luftfeuchtigkeit, der das Kieselgel vor seiner Verwendung für die Chromatographie ausgesetzt war, die  $R_F$ -Werte der zu chromatographierenden Stoffe beeinflusst. Dieser Effekt wird durch die Hysteresis-Schleife auf der Adsorptionsisotherme des Kieselgels verursacht und bedeutet, dass eine und dieselbe Probe des Kieselgels bei der gegebenen relativen Luftfeuchtigkeit in Abhängigkeit von der Geschichte des Kieselgels einen unterschiedlichen Wassergehalt aufweisen kann. Die diskutierte Erscheinung wird am chromatographischen Verhalten einiger Azofarbstoffe und Alkaloide gezeigt.

#### LITERATUR

- 1 F. Geiss, H. Schlitt und A. Klose, *Z. Anal. Chem.*, 213 (1965) 321.
- 2 K. Chmel, *Chem. Listy*, 66 (1972) 1305.
- 3 F. Geiss, *J. Chromatogr.*, 33 (1968) 9.
- 4 J. Pitra, *J. Chromatogr.*, 33 (1968) 220.
- 5 R. K. Iler, *Kolloidnaja chimija kremnezema i silikater* (Übersetzung aus dem Englischen: *The Colloid Chemistry of Silica and Silicates*), Moskau, 1959, S. 145; V. Šatava, *Úvod do fyzikální chemie silikátů* (Einführung in die physikalische Chemie der Silikate), SNTL Prag, 1965, S. 229.
- 6 H. W. Kohlschütter und K. Unger, in E. Stahl (Editor), *Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook*, Academic Press, New York, 2nd ed., 1969, S. 16.
- 7 V. Ponec, Z. Knor und S. Černý, *Adsorpce na tuhých látkách* (Adsorption an festen Stoffen), SNTL Prag, 1968, S. 405.
- 8 A. V. Dumanskij und E. F. Nekrjatsch, *Ukrain. Chim. Zh.*, 26 (1960) 289.
- 9 J. K. Rózylo, in *Podstavy podziałowej i adsorpcyjnej chromatografii cieczowej* (Grundlagen der Verteilungs- und Adsorptionsflüssigkeitschromatographie), Ossolineum, Warszawa 1973, S. 90-92.
- 10 E. Stahl (Editor), *Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook*, Academic Press, New York, 1965, S. 27.
- 11 W. Ebing, *J. Chromatogr.*, 44 (1969) 81.
- 12 F. Šita, V. Chmelová-Hlavatá und K. Chmel, *Chromatographische Analyse von Drogen*, Glaswerke Kavalier, Votice, 1973, S. 36.