

ANGEWANDTE CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

63. Jahrgang · Nr. 19 · Seite 449-476 · 7. Oktober 1951

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

Papierchromatographie (Auszug¹⁾)

Von Dr. F.R. CRAMER

Chemisches Institut der Universität Heidelberg

Die Forschung der letzten Jahrzehnte, insbes. die biochemische Forschung, steht häufig vor der Aufgabe, mit geringsten Substanzmengen experimentieren zu müssen. Die Entdeckung der Papierchromatographie bedeutet daher eine wesentliche und folgerichtige experimentelle Ergänzung, die, wie sich in der Zwischenzeit erwiesen hat, auch wiederum zu neuen wichtigen und umfassenden Problemen geführt hat.

Die chromatographische Adsorptionsmethode, d. h. die Trennung von Stoffen durch verschiedene Adsorbierbarkeit an Aluminiumoxyd und anderen oberflächenaktiven Stoffen, durch die etwa die Chemie der Carotinoide erst zugänglich geworden ist, beschränkt sich zumeist auf mehr lipophile Stoffe. Gerade jedoch die Stoffklassen, denen sich die Forschung der letzten Jahrzehnte in verstärktem Umfange zugewendet hat, nämlich die Bausteine des Eiweißes und der Polysaccharide, also Aminosäuren und Zucker, sind in kleinsten Mengen vor Entdeckung der Papierchromatographie kaum zu handhaben gewesen.

Es nimmt daher nicht wunder, daß die Entwicklung der Papierchromatographie von der Eiweißforschung ausging. Hier war ja das Bedürfnis nach einer Erweiterung der experimentellen Möglichkeiten am größten. 1941-1943 schufen Martin, Gordon und Syngle die Verteilungschromatographie zur Trennung von hydrophilen Stoffen, speziell von Aminosäuren. Es wird eine Säule von Silicagel verwendet, das mit einer bestimmten Menge Wasser getränkt ist. Auf das obere Ende werden die Acetylaminosäuren aufgebracht. Das „Entwickeln“ des Chromatogramms geschieht mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln, z. B. Butanol, Petroläther, Chloroform u. a. Durch die verschiedenen Verteilungskoeffizienten der Aminosäuren zwischen wässriger Phase (am Gel) und organischer Phase werden die einzelnen Komponenten mit verschiedener Geschwindigkeit weitergewaschen und so getrennt. Dieses Verfahren bewährte sich ausgezeichnet und stellt bereits eine Vorstufe zur Papierchromatographie dar.

Ein anderer Vorläufer der Papierchromatographie ist die Kapillaranalyse. Dabei wird ein Papierstreifen oder Wollfaden in eine Farbstofflösung gehängt, die sich in den Kapillaren des Materials hochsaugt. Die Farbstoffe reichern sich dabei in bestimmten Zonen an. Die Kapillaranalyse dürfte jedoch in ihren physikalischen Grundlagen eher der Adsorptionsanalyse entsprechen.

1944 faßten Consden, Gordon und Martin den Gedanken, statt der Silicasäule einfach Papierstreifen zu verwenden. Die ersten Ergebnisse mit freien Aminosäuren waren so ermutigend und erfolgversprechend, daß sie sofort allerseits aufgegriffen und weiterentwickelt wurden. Es muß als ausgesprochener Glückszufall angesehen werden, daß die Autoren ihre Versuche von vornherein auf Whatman Nr. 1-Papier durchführten, denn, wie sich später gezeigt hat, sind keineswegs alle Filterpapiersorten zur papierchromatographischen Analyse geeignet.

Nachdem die Papierchromatographie sich zur Trennung von Aminosäuren so ausgezeichnet bewährt hatte, wurde sie bald auch zur Analyse von Zuckergemischen, Naturfarbstoffen, Phenolen, Purinen, organischen Säuren, Steroiden und in den letzten Jahren zur Untersuchung fast aller Stoffgemische, u. a. auch anorganischer, verwendet.

Grundsätzlich können Substanzen im Papierchromatogramm getrennt und erkannt werden, wenn sie

- 1) sowohl im Wasser wie in organischer Phase wenigstens etwas löslich sind;
- 2) wenn sie durch physikalische Eigenschaften oder chemische Reaktionen auf dem Papier sichtbar gemacht werden können;
- 3) wenn sie weder mit Cellulose noch mit den verwendeten Lösungsmitteln reagieren.

Besonders zahlreiche Arbeiten liegen vor über das Verhalten von Aminosäuren, Peptiden, Proteinen, Zuckern, Purinen, Nucleinsäuren, organischen Säuren, Anthocyanten, Flavonen, Steroiden, Phenolen, Antibiotica, höheren Alkoholen, Aminen, technischen Farbstoffen, Alkaloiden und Pterinen. Zu diesen organischen Verbindungen kommen Arbeiten über das Verhalten von anorganischen Ionen bei der Papierchromatographie.

Es ist nur verständlich, daß im Verlauf dieser Arbeiten zahlreiche abgewandelte Verfahren und spezielle Arbeitstechniken entwickelt wurden. Es seien hier nur die mehrdimensionale Papierchromatographie, der Chromatopile, der Chromatopack und die Rundfiltertechnik genannt. Hinzu kommen die mehr technischen Kunstgriffe wie das Aufbringen größerer Substanzmengen oder der Bau besonderer chromatographischer Apparaturen, spezieller Trocknungs- und Eluiervorrichtungen usw. Diese knappe Aufzählung möge ein Hinweis darauf sein, wieviel brauchbare Methoden entwickelt wurden. Es bleibt jedoch noch manches Problem zu lösen.

Durch Verwendung gut ausgearbeiteter Mikroverfahren ist es gelungen, Papierchromatogramme auch quantitativ auszuwerten. Man kann die Substanzen auswaschen und anschließend bestimmen oder – um nur ein Beispiel zu nennen – im Chromatogramm etwa durch die Wielandsche Retentionsanalyse erfassen. Auch die Autoradiographie sei hier genannt. Erinnert sei auch an die Elektrophorese von Eiweißstoffen. Diese Variation der Papierchromatographie erweist sich für die Klinik nützlich und erspart Zeit und Mittel.

Schon aus dieser kurzen Übersicht wird die vielseitige Anwendbarkeit der Papierchromatographie in Forschung und Praxis deutlich. Denn die Papierchromatographie eignet sich wegen ihrer Einfachheit bei gleichzeitiger Zuverlässigkeit auch für größere routinemäßige Reihenuntersuchungen etwa in Kliniken oder bei Lebensmitteluntersuchungen.

Die Gründe für eine Zusammenstellung des über die Papierchromatographie als einer experimentellen Forschungsmethode vorliegenden Materials rechtfertigen sich aus dem Vorhergesagten. Aber auch die Gesichtspunkte für diese Zusammenstellung ergeben sich daraus. Dem Chemiker soll eine methodische Anweisung zur Ausführung papierchromato-

¹⁾ Die ausführliche Arbeit erschien als Monographie Nr. 64 zur „Angewandten Chemie“ und „Chemie-Ingenieur-Technik“ im Umfang von 81 S., mit 47 Abb. Preis 9.80 DM. Bestellungen sind zu richten an den Verlag Chemie, G.m.b.H., Weinheim/Bergstraße.

graphischer Verfahren in die Hand gegeben werden. Es soll ihm gezeigt werden, auf welchen Gebieten der Chemie die Papierchromatographie wichtige Probleme zu lösen und zu stellen vermag. Die Fülle des bereits jetzt vorliegenden Stoffes zwingt zur Beschränkung auf die ausführliche Behandlung

- 1) der Methodik,
- 2) der Anwendung auf jeweils typische Vertreter der einzelnen Stoffklassen.

Dementsprechend sind die Wiedergaben der Arbeitsvorschriften meist so ausführlich gehalten, daß sich ein Nachschlagen der oft schwer zugänglichen Originalliteratur in der Regel erübrigt. Das Buch gliedert sich in einen allgemeinen Teil, der die Theorie der Papierchromatographie und besonders die Arbeitsmethodik behandelt, und in einen speziellen Teil, in dem die Trennung der einzelnen Stoffklassen, also Aminosäuren, Zucker, Purine usw. beschrieben ist.

Eingegangen am 5. September 1951 [A 383]

Ionenaustauscher als Hilfsmittel im Laboratorium

Von Priv.-Doz. Dr. G. DICKEL und Dipl.-Chem. K. TITZMANN

Aus dem Physikalisch-Chemischen Institut der Universität München

Es wird ein Überblick über die Verwendungsmöglichkeiten von Ionenaustauschern (vorwiegend Kunstarzaustauschern) im Laboratorium gegeben. Im einzelnen werden behandelt: der chemische und physikalische Aufbau der Austauscher und der Austauschvorgang, das Austauschgleichgewicht, die Austauschgeschwindigkeit, die mathematische Erfassung der Trennung in einer Austauschersäule. Zahlreiche praktische Beispiele (Trennung von Aminosäuren, Verwendung für analytische Zwecke, Wiedergewinnung wertvoller Chemikalien, Wasserstoffbeladene Austauscher als Katalysatoren in der organischen Chemie, Vitamingewinnung und -anreicherung usw.) ergänzen den Beitrag.

A. Allgemeines
B. Ionenaustauscher im Laboratorium
1. Austauschersorten
2. Gesetze des Ionenaustausches

3. Trennungen mit Ionenaustauschern
4. Austauscher als Hilfsmittel bei der chemischen Analyse
5. Austauscher für präparative und allgem. chemische Zwecke

A. Allgemeines über Ionenaustauscher

Vor etwa 100 Jahren entdeckte der englische Chemiker *J. T. Way*¹⁾, daß Böden die Eigenschaft haben, Calcium und Magnesium bis zu einem gewissen Grade gegen Ammonium und Kalium auszutauschen. *Way*²⁾, der die Bedeutung seiner Entdeckung richtig erkannte, verwandte bereits 2 Jahre später den Niederschlag aus einer Aluminium-Lösung und einer Natrium-silicat-Lösung als ersten künstlichen Austauscher. 1858 entdeckte *H. Eichhorn*³⁾ den Ionenaustausch an natürlichen Zeolithen. Diese kristallinen Silicate haben meist schichtartige Struktur und enthalten Zwischenschichten von austauschbaren Kationen. Künstliche oder natürliche Austauscher wurden 1910 erstmals von *R. Gans*⁴⁾ zur Wasserenthärtung herangezogen. Die damaligen Austauscher eigneten sich nicht für den Austausch von Wasserstoff-Ionen. Ihre jetzige Bedeutung konnten sie erst erlangen, nachdem 1935 die beiden Engländer *B. A. Adams* und *E. L. Holmes*⁵⁾ die Brauchbarkeit von Kunstarzen entdeckten. Neben anderen vorzüglichen Eigenschaften besaßen diese auch die Fähigkeit, Wasserstoff-Ionen auszutauschen.

Die Grundkörper der Kunstarze mit saurem Charakter sind gewöhnlich Kondensationsprodukte aus ein- oder mehrwertigen Phenolen mit Formaldehyd, während für basische Austauscher Aniline und Aldehyde kondensiert werden. Diese beiden Grundtypen wurden systematisch weiterentwickelt⁶⁾, indem man Komponenten mit stark sauren bzw. stark basischen Gruppen ein kondensierte. Man kann so eine Stufenleiter von Austauschharzen mit beliebiger Säuren- und Basenstärke herstellen. Bei Säureaustauschern sind die aktiven Gruppen $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$ und bei Basenaustauschern NH_2 , $-\text{NHR}$, $-\text{NR}_2$ u. a. Gute Austauscher-Eigenschaften zeigen auch sulfonierte Kohlen⁷⁾, die von deutschen und holländischen Chemikern etwa um dieselbe Zeit entwickelt wurden.

Die Austauscher sind in erster Linie für den großtechnischen Gebrauch gedacht. Ihre Anwendung ist nicht auf das Gebiet der Wasserenthärtung beschränkt geblieben; vielmehr wurden umfangreiche neue Anwendungsmöglichkeiten in der Le-

bensmittelindustrie⁸⁾ erschlossen, wobei insbes. die in Deutschland während des letzten Krieges entwickelte Entsalzung des Zuckerrübensaftes zu nennen ist. Wichtig ist auch die Entfernung von Metallsalzen aus industriellen Abwässern. Welche Bedeutung die Austauscher erlangt haben, geht am besten aus der Zahl der Veröffentlichungen hervor, die im letzten Jahre auf diesem Gebiet veröffentlicht wurden. Die Review 1950 der amerikanischen Zeitschrift Industrial and Engeniering Chemistry zählt allein 187 Arbeiten auf.

B. Der Gebrauch der Ionenaustauscher im Laboratorium

Neben der großtechnischen Anwendung hat der Ionenaustauscher auch Eingang im modernen Laboratorium gefunden. Die wichtigsten Anwendungsgebiete sind hier:

- a) Die Trennung und Reinigung von anorganischen und organischen Stoffen.
- b) Die Verwendung als Hilfsmittel bei der chemischen Analyse.
- c) Die Verwendung für präparative und allgemeine chemische Zwecke.

1. Die Austauschersorten

Es stehen eine Anzahl von Austauschern zur Verfügung, unter denen man wohl meist einen geeigneten finden wird. Neben den natürlichen Austauschmineralien, von denen die bekanntesten die Zeolithe sind, haben wir die künstlich erzeugten Permutite, die Kohle austauscher und eine große Anzahl verschiedener Kunstarzaustauscher. Im Laboratorium werden wegen ihrer mannigfaltigen Vorteile fast ausschließlich die letzteren angewandt. Die Spezialisierung der Austauscher für industrielle Zwecke bringt es mit sich, daß vorläufig die Auswahl für den Gebrauch im Laboratorium noch beschränkt ist. Da die Entwicklung der Austauscher augenblicklich immer noch in vollem Fluß ist, so sind sie bezüglich ihrer Eigenschaften nicht standardisiert.

Tabelle 1 enthält eine Auswahl der gebräuchlichsten aus der Literatur bekannten Austauscher.

Mit Ausnahme des Dowex 50, der in Form kleiner Kugelchen hergestellt wird, werden die Ionenaustauscher im allgem. von der Fabrik in Form von mehr oder minder zerkleinerten granulierten Teilchen geliefert. Im Laboratorium ist es meist zweckmäßig, eine

¹⁾ J. Royal Agr. Soc. 11, 313 [1850].

²⁾ J. Royal Agr. Soc. 13, 123 [1852].

³⁾ Pogg. Ann. Physik Chemie 105, 126 [1858].

⁴⁾ Jahrb. kgl. pruß. geol. Landesanstalt 26, 179 [1905]; 27, 63 [1906]; Centr. Mineral. Geol. 22, 728 [1913].

⁵⁾ J. Soc. Chem. Ind. T. 64, 1 [1935].

⁶⁾ R. Griesbach, diese Ztschr. 52, 215 [1939].

⁷⁾ O. Liebknecht, U.S.P. 2191060 v. 20. 2. 1940 u. 2106007 v. 25. 6. 1940. P. Smit, U.S.P. 2191063 v. 20. 2. 1940 und 2205635 v. 25. 6. 1940.

⁸⁾ R. Griesbach: Austauschadsorbentien in d. Lebensmittelind. J. Ambr. Barth, Leipzig 1949.