

Über Ring-Papierchromatographie nach der Tropfmethode

1. Mitteilung

Von Dipl.-Chem. G. ZIMMERMANN und Prof. Dr. K. NEHRING
Aus dem Institut für Agrikulturchemie und Bodenkunde der Universität Rostock

Durch Auftropfen der Chromatographielösung aus einer Glaskapillaren auf ein geeignetes Filterpapier in einem Exsiccator werden in kurzer Zeit leicht auswertbare „Ringchromatogramme“ erhalten.

Für papierchromatographische Vorversuche ist die Verwendung etwa handtellergrößer Petrischalen mit eingelegten Rundfiltern beschrieben worden. Die Speisung des Filterblattes geschieht durch die nach unten in die Schale hängende ausgeschnittene Zunge. Der Analysentropfen wird zum Zentrum des Rundfilters heraufgezogen¹⁾, und es bilden sich konzentrische Kreise der zu chromatographierenden Substanz.



Bild 1. Tropfmethode

Beim Nacharbeiten dieses „Zungenverfahrens“ fiel der ausgezeichnete Trenneffekt auf. Bei dem Versuch, die Methode auf einen größeren Maßstab zu übertragen, zeigte sich jedoch die Grenze des Verfahrens. Wie leicht einzusehen, ist der Zungenansatz am Zentrum des Rundfilters nicht beliebig zu vergrößern, so daß die Zufuhr der zur Entwicklung dienenden Flüssigkeit eines größeren Papierchromatogramms nicht ausreichend schnell genug erfolgt. Die Überlegung, daß es eigentlich gleichgültig sein mußte, ob die Entwicklungsflüssigkeit durch das Kapillarsystem des Filterpapiers, oder durch eine im Zentrum aufgesetzte Glaskapillare zugeführt wird, erwies sich als außerordentlich brauchbar. Wie Bild 1 zeigt, benutzen wir eine sehr einfach erstellbare Anordnung, die lediglich aus einem im Deckel tubulierten Exsiccator besteht.

Durch den Tubus ist eine kapillar ausgezogene, abgesprengte Pipette eingeführt, die einige Millimeter über dem Papier endet und mit etwa 10–12 Tropfen pro min bei Verwendung eines mittelweichen Papiers²⁾ fließt. Das zur Entwicklung des Papierchromatogramms dienende Flüssigkeitsgemisch ruht als Vorrat im abgesprengten Pipettenbauch und gewährleistet eine konstante Tropfgeschwindigkeit.

Sämtliche Chromatogramme sind mit Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) entwickelt. Der äußerste Ring ist mit Bleistift markiert und stellt die Chromatogrammgrenze dar, im Original erkennbar an der schwach gelben Färbung.

Wie die Bilder 2, 3 und 4 zeigen, handelt es sich bei den entwickelten Papierchromatogrammen, die als „Ringchromato-

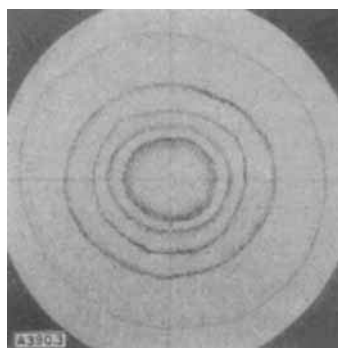


Bild 2

Trennung (Ellipsenbanden von innen nach außen (v. i. n. a.): Histidin, Glycin, Prolin (mit Bleistift schwach markiert), Tyrosin, Leucin

¹⁾ Rutter, Nature [London] 161, 435 [1948]. (Diese Arbeit war für uns im Original nicht erreichbar). Vgl. ferner Analyt. Chemistry 23, 396 [1951].
²⁾ Wir verwenden Papiere der Fa. Gessner u. Kreuzig, Niederschlag/Erzgeb., die sich gut bewährt haben.

gramme“ bezeichnet werden sollen, um elliptische Ausbreitungen der einzelnen Aminosäuren. Dieser Effekt war zu erwarten, weil die Saugkraft in Richtung der Papierfaser größer ist als gegen die Faser³⁾. Die Ellipsen stellen sich stets derart ein, daß die großen Halbachsen streng parallel, die kleinen Halbachsen streng senkrecht zur Faserrichtung liegen. Dadurch ist

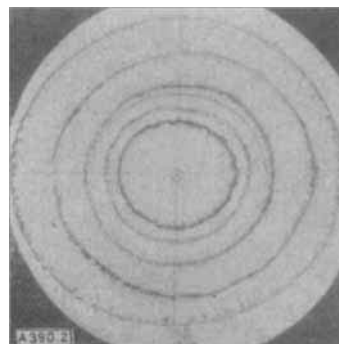


Bild 3

Trennung v. i. n. a.: Lysin, Glycin, Alanin, Valin

es möglich, unter exakt uniformen Bedingungen der Entwicklung, Aussagen über die Abhängigkeit der R_F -Werte von der Faserrichtung zu machen. Hierüber sowie über weitere Einzelheiten und Meßwerte soll in kürze berichtet werden.

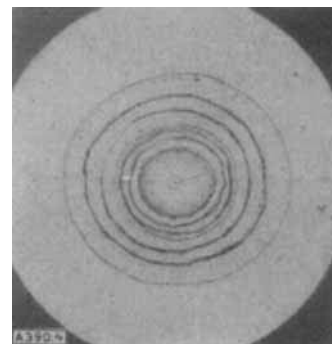


Bild 4

Trennung v. i. n. a.: Lysin, Glycin, Alanin, Prolin (mit Bleistift punktiert nachgezogen), Valin, Leucin

Die Vorteile der Methode sind:

- 1) Schnelligkeit. Ein Ringchromatogramm von 32 cm Durchmesser ist in etwa 4–5 h, eines von 20 cm Durchmesser in 2 h hergestellt.
- 2) Der bedeutende Trenneffekt. Da jede Aminosäure auf einer Ellipsenbande sehr geringer Eigenausbreitung verteilt ist, sind Aminosäuren mit wenig unterschiedlichen R_F -Werten trennbar. Daraus folgt
- 3) Die Genauigkeit der R_F -Messung. An einem Ringchromatogramm, zur Bestimmung einer Aminosäure, können zur Errechnung der R_F -Werte beliebig viele Messungen vorgenommen werden.
- 4) Quantitative Auswertung. Die Ringchromatogramme sind prinzipiell wie Debye-Scherrer-Aufnahmen auswertbar. (Durchstoßpunkt = Auftropfpunkt). Zur quantitativen Bestimmung wird ein Streifen des Ringchromatogramms, präpariert nach den Angaben von W. Graßmann und K. Hannig⁴⁾, photometriert. Da die Farbintensität außenliegender Aminosäurebanden geringer ist als die der innenliegenden, so ist es nur notwendig, Photometerwert mit Flächeninhalt jeder Aminosäurebande zu multiplizieren. Wegen der streng elliptischen Ausbreitung eines Ringchromatogramms, sowie der genauen Messung eines Bandendurchmessers ist diese Flächenbestimmung möglich. Auch die quantitative Bestimmung durch Extraktion von Sektoren der Ringchromatogramme ist möglich.

Eingeg. am 31. August 1951

[A 390]

³⁾ Vgl. hierzu Analyt. Chemistry 23, 403 [1951].

⁴⁾ Naturwiss. 37, 496 [1950].