

den meßbaren Extinktionsbereich von 0,01 bis 2 und dient zur Umrechnung der Extinktion in den Logarithmus des Extinktionskoeffizienten. Die Abszissen-Einteilung ist

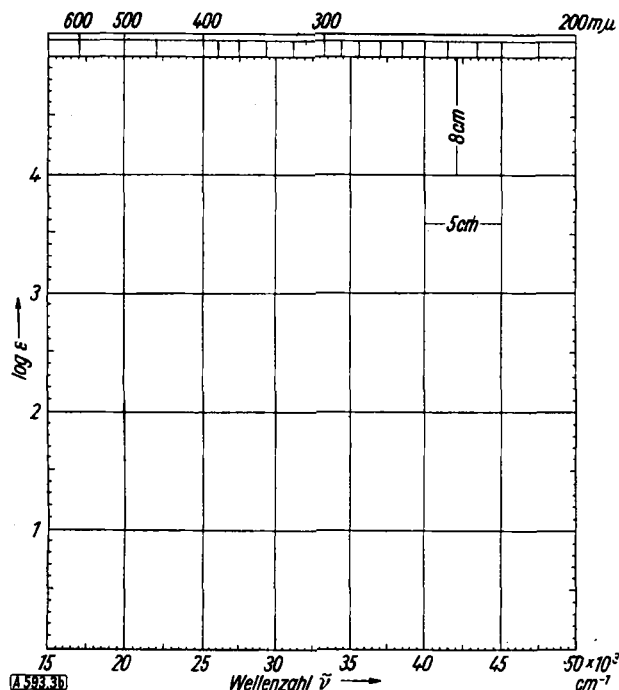


Bild 4. Zeichenblatt

hyperbolisch zur Umrechnung der Wellenlänge in Wellenzahl. Das Zeichenblatt, Bild 4, auf das die endgültige Kurve sofort gezeichnet werden kann, ist ein DIN A 2-Transparentpapier. Es wird auf die Rechenschablone so gelegt, daß die Seitenränder übereinstimmen. Die Einstellung in der Längsrichtung ergibt sich aus einer einfachen Rechnung: Gegeben sei beispielsweise eine Konzentration von $0,7 \cdot 10^{-3}$ Mol/l und eine Schichtdicke von 0,5 cm. Dann berechnet sich der Extinktionskoeffizient zu

$$\epsilon = \frac{E}{0,7 \cdot 10^{-3} \cdot 0,5} = \frac{E}{0,35} \cdot 10^3.$$

Wäre nun $E = 0,35$; dann wäre $\log \epsilon = 3$. Das heißt: man muß die Linien $\log \epsilon = 3$ des Zeichenblattes auf $E = 0,35$ der Schablone aufsetzen. Ist der Meßbereich erschöpft, dann variiert man die Schichtdicke oder Konzentration und verschiebt das Zeichenblatt (das Verschieben des Transparentpapiers ist besonders einfach, da es auf der emaillierten Eisenblechschablone nur mit Heftmagneten festgehalten wird) nach obiger Gebrauchsanweisung, wobei man sofort den Anschluß der neuen Meßwerte an die vorhergehenden nachprüfen kann. In beiden Fällen erhält man die Absorptionskurven gegenüber dem obigen Vorschlag genau vierfach linear vergrößert. Die Rasterteilung ist dann, besonders auf dem Millimeterpapier, so fein, daß man die abgelesenen Werte ohne Verlust in der Wiedergabegenauigkeit sofort von der Ablesung am Instrument auf die graphische Darstellung übertragen kann.

Eingeg. am 13. Mai 1954 [A 593]

Zur Rundfilter-Papierchromatographie

Von Dr. O. TÖPPEL, Aschaffenburg

Aus dem Zentrallaboratorium der Aschaffener Zellstoffwerke Aktiengesellschaft

Es wird eine modifizierte Rundfiltertechnik beschrieben, die es gestattet, bessere Reproduzierbarkeit zu erreichen, größere Substanzmengen zu trennen und die Entwicklungsgeschwindigkeit leicht zu variieren. Die Methode eignet sich besonders zur Reinheitsprüfung chemischer Präparate und zu quantitativen Versuchen. Als Reagenz zum Sichtbarmachen verschiedener organischer Verbindungen auf Papierchromatogrammen wird die „Fischersche Base“ empfohlen.

Wiederholt ist der ausgezeichnete Trenneffekt der Rundfilterchromatographie hervorgehoben worden. Folgende Ausführungen haben sich anscheinend am besten eingebürgert:

1. Die zu untersuchende Substanz oder das Substanzgemisch wird auf das Papier direkt aufgetragen.
2. Das Lösungsmittelgemisch wird zugeführt entweder von unten, z. B. durch eine herausgeschnittene Zunge¹⁾ aus dem Chromatogrammpapier („Rutter-Technik“²⁾) oder mittels eines durch den Mittelpunkt des Rundfilters gesteckten Doctes³⁾, bzw. Streifens^{4, 5)} usw. oder von oben durch Auftropfen⁶⁾ bzw. Aussaugen^{7, 8)} des Lösungsmittels aus einer geeigneten Kapillare.

Diese Verfahren sind bei einigen speziellen Aufgaben (z. B. Reinheitsprüfung, quantitative Auswertung usw.)

¹⁾ L. Rutter, Nature [London] 161, 435 [1948].

²⁾ R.H. Mueller u. D.L. Clegg, Analytic. Chem. 21, 1429 [1949], 23, 403, 396, 408 [1951].

³⁾ S. Rosebeck, Chem. Weekblad 46, 813 [1950].

⁴⁾ K.V. Giri u. N.A.N. Rao; Nature [London] 169, 923-4 [1952].

⁵⁾ J.G. Marshall u. Mittler, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales 145, 417 [1951]; Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap Proc. 54, c 391 [1951].

⁶⁾ G. Zimmermann u. K. Nehring, diese Ztschr. 63, 556 [1951]; vgl. T. Karyons, Sh. Shinuzu u. M. Hashimoto, Nature [London] 170, 422 [1952].

⁷⁾ H. Pfizner, zit. n. F. Cramér: Papierchromatographie 2. Aufl. Weinheim/Bergstr. Verlag Chemie 1953 S. 34.

⁸⁾ F. H. Pollard, J. F. W. McOmle, Endeavour 1951, 213.

im Hinblick auf Reproduzierbarkeit, wahlweise Einstellung der Entwicklungsgeschwindigkeit und trennbare Substanzmenge der folgenden Arbeitstechnik unterlegen:

Die zu untersuchende Probe wird in Cellulosepulver eingehüllt in ein Röhrchen gefüllt, das auf den Mittelpunkt des Rundfilters aufgesetzt wird und durch das gleichzeitig das Lösungsmittel aufgebracht wird (s. Bild 1). Dadurch wird die Substanz viel feiner verteilt als wenn man sie direkt auf das Papier aufträgt. Die trennbare Menge (0,5 bis 40 mg in

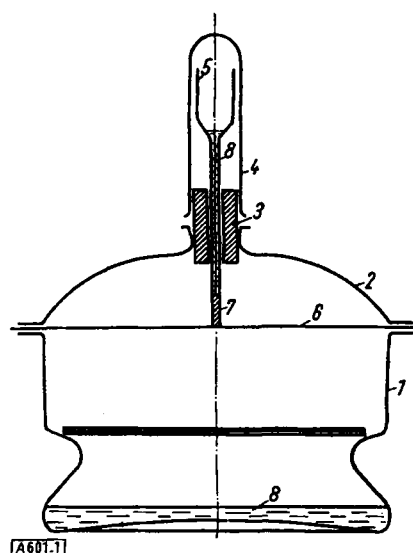


Bild 1

Versuchsanordnung. 1 Exsikkatorboden; 2 Exsikkatordeckel; 3 Stopfen; 4 Reagenzglas; 5 Glasrohr; 6 Chromatogrammpapier (bzw. -karton); 7 Cellulosepulver; 8 Entwicklungsgemisch

allgemeinen Fällen) kann, gegenüber den bisherigen vergleichbaren Methoden, wesentlich gesteigert werden. Nebenbestandteile in sehr geringen Konzentrationen können somit leichter erkannt und nachgewiesen werden.

Diese Methode hat sich im praktischen Betrieb schon seit langer Zeit gut bewährt. Sie gestattet es, die sonst anzuwendende präparative Papierchromatographie („Chromatopile“, „Chromatopack“) oder die für Betriebslaboratorien etwas zu zeitraubenden säulenchromatographischen Methoden durch eine praktisch wartungsfreie Arbeitsweise zu ersetzen.

Zur gleichzeitigen Trennung mehrerer Substanzen verwendet man das mit reinem Cellulose-Pulver gefüllte Glasröhrchen nur als Lösungsmittelzufluß. Die zu untersuchenden Proben, bzw. die Vergleichssubstanzen werden direkt auf das Chromatogrammpapier kreisförmig um die Lösungsmittelaufgabestelle aufgetragen⁹⁾. Die Sektoren können dabei vorteilhaft durch Einschnitte voneinander getrennt werden.

Man beobachtet bei beiden Verfahren, daß die Trennschärfe der einzelnen Banden voneinander, wie bekannt, in der Hauptsache von der Gesamtwanderungstrecke und dann etwas von der Wanderungsgeschwindigkeit der Lösungsmittelfront beeinflußt wird. Man kann, namentlich bei größeren Mengen, also etwa sagen, daß man umso schärfere und schmalere Banden bei gleichen Aufgabemengen erhält, je langsamer das Chromatogramm entwickelt wird.

Bei den hier beschriebenen Arbeitsweisen kann die Wanderungsgeschwindigkeit der Lösungsmittelfront¹⁰⁾ nun zusätzlich durch die Wahl: a) des Röhrchendurchmessers, b) der Stopfdichte und c) der Stopfhöhe, sehr leicht eingestellt werden.

a) Für den Einfluß des Röhrchendurchmessers auf die Laufgeschwindigkeit fanden wir, daß bei inneren Durchmessern von 3,5; 4,5; 5,7 (mm) sich die zurückgelegten Strecken in den mittleren Bereichen wie ca. 10:12:14 verhalten.

b) Bezüglich der Stopfdichte zeigte sich, daß die Röhrchen immer mit der Hand so fest als möglich gestopft werden sollen. Die Wanderungsgeschwindigkeit läßt sich dann am besten bei gleicher Stopfdichte durch Wahl der Stopfhöhe einstellen.

c) Die Abhängigkeit der Laufgeschwindigkeit von der Stopfhöhe ist durch ein charakteristisches Beispiel in Bild 2 dargestellt.

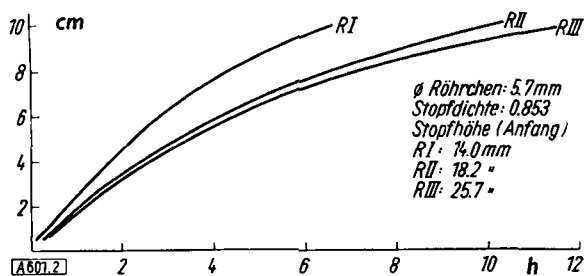


Bild 2
Einfluß der Stopfhöhe auf die Entwicklungsgeschwindigkeit bei gleicher Stopfdichte

Auf den entwickelten Chromatogrammen werden die einzelnen Substanzen dann wie bisher sichtbar gemacht. Als Sprühreagenz ungewöhnlich großer Anwendungsbreite und Empfindlichkeit scheint das u. W. noch nicht vorgeschlagene 1,3,3-Trimethyl-2-methylen-indolin empfehlenswert zu sein. Diese meist als „Fischersche Base“ bezeichnet

nete Verbindung ist durch ihre sehr reaktionsfreudige Methylen-Gruppe zu vielen in der Literatur ausführlich beschriebener Reaktionen befähigt^{11, 12)}. Wir haben sehr gute Erfahrungen mit dieser Verbindung zur Sichtbarmachung von Ameisensäure und verschiedener ihrer Derivate, einigen trihalogenmethyl-haltigen Substanzen, Aldehyden und Ketonen, verschiedener Heterocyclen sowie von i. a. kuppelungsfähigen Substanzen sammeln können.

Wegen der verbesserten Reproduzierbarkeit eignen sich die erhaltenen Chromatogramme auch besonders zur quantitativen Auswertung, denn bei gleicher Laufgeschwindigkeit und Gesamtwanderungstrecke stellen die Bandenbreiten bekanntlich ein direktes Maß für die Konzentration der betreffenden Substanzen dar¹³⁾. Die genauesten Ergebnisse werden erhalten, wenn man durch geeignete Abstimmung in der Zusammensetzung der Entwicklerflüssigkeiten die interessierenden Verbindungen in R_f -Bereiche zwischen 0,30 und 0,80 legt. Trotz konstanter Stopfdichte und -höhe wird aber die Laufgeschwindigkeit etwas von der Aufgabemenge beeinflusst. Diese soll deshalb bei quantitativen Versuchen immer ungefähr gleich groß gewählt werden. Das geschilderte Verhalten (anscheinend durch die Löslichkeits- und Viscositätsverhältnisse der betreffenden Untersuchungssubstanz im Lösungsmittelgemisch bedingt) wird, wie auch die Konzentrationsabhängigkeit der Bandenbreite nach den bisherigen Erfahrungen auch etwas durch die jeweiligen spezifischen Eigenschaften der betreffenden Verbindungen beeinträchtigt. Die Darstellung von Einzelheiten wollen wir deshalb Beschreibungen spezieller Anwendungen zur gleichzeitigen, quantitativen Bestimmung mehrerer, durch andere analytische Verfahren nur schwer nebeneinander bestimmbarer Verbindungen vorbehalten.

Arbeitsvorschriften

1) Ausführung der geschilderten Methode

Die Aufgaberöhrchen werden aus Glasrohren, halbierten Pipetten o. ä. mit einem inneren Durchmesser von 2,0 bis 6,5 mm (am besten 3-4 mm) hergestellt. Das untere Ende wird plangeschliffen, weil dieses, um einwandfreie Chromatogramme zu erhalten, vollkommen dicht abschließend auf dem Filterpapier sitzen muß. Mit Hilfe eines gut passenden Metallstopfers füllt man das Röhrchen mit Cellulosepulver (z. B. Nr. 123 der Firma Schleicher & Schüll) bis zu einer Schichthöhe von ca. 5-10 mm so fest als möglich. Jetzt wird die Untersuchungssubstanz in einer möglichst einheitlichen Schicht eingegeben und daraufhin noch einmal etwa die gleiche Menge Cellulosepulver eingestopft. Am unteren Ende muß die Füllung vollkommen plan mit der Glaswandung des Röhrchens abschneiden. Das Röhrchen wird mit einem durchbohrten Stopfen im Deckeltubus des wie sonst üblich vorbereiteten Exsikkators eingeführt und das plangeschliffene Ende gerade auf das Filterpapier aufgesetzt. Das Röhrchen darf nicht zu stramm in die Durchbohrung des Stopfens eingepaßt werden, damit evtl. Senkungen des Papiers während das Chromatogramm läuft durch selbsttätiges Nachgeben des Röhrchens ausgeglichen werden können. Dieses darf andererseits aber nicht durch zu hohes Eigengewicht — meist hervorgerufen durch zu viel Entwicklungsmittel im Röhrchen — die Papierbahn in der Mitte streifig nach unten drücken, da sonst leicht verwaschene Chromatogramme erhalten werden. Das Röhrchen wird von oben mit dem Lösungsmittelgemisch gefüllt und über den Kopf ein weiteres Reagenzglas gestülpt, das auf einem Gummistopfen sitzt (siehe Bild 1).

Wenn über 1 mm starke Papiere, sog. Filtrierkartons verwendet werden müssen, so empfiehlt es sich, diese nicht zwischen Exsikkatorboden und Deckel, sondern direkt in das Exsikkatorinnere einzulegen.

Undeutliche Chromatogramme kann man leicht dadurch verbessern, daß man das trockene Chromatogramm noch einmal mit

¹¹⁾ M. Coenen, diese Ztschr. 60, 71 [1948]; 61, 11—17 [1949].

¹²⁾ W. König, Ber. dtsh. chem. Ges. 55, 3303 [1922]; DRP. 410487 v. 4. 6. 1922, Friedländer 15, 452, vgl. DRP. 415 534 v. 24. 8. 1923; Friedländer 15, 454, Ber. dtsh. chem. Ges. 57, 146—149, 891 [1924]; 67, 1274 [1934] u. v. a.

¹³⁾ F. Cramer: Papierchromatographie 2. Aufl., Weinheim/Bergstr. Verlag Chemie 1953, S. 40.

⁹⁾ O. Lüderitz u. U. Westphal, Z. Naturforsch. 7b, 136 [1952].

¹⁰⁾ A. Saifer u. J. Oreskes, Analytic. Chem. 25, 1539 [1953].

reinem Lösungsmittel laufen läßt⁴⁾. Auf quantitative Eluierung der Substanz aus dem Röhrchen prüft man am besten, indem man dieses auf ein frisches Papierblatt setzt und ein zweites Chromatogramm laufen läßt.

Bei quantitativen Versuchen werden immer gleiche Mengen Cellulosepulver eingewogen, um gleiche Stopfdichte über die Versuchsserie zu erzielen.

2) Das Entwickeln mit Fischerscher Base

Die Fischersche Base wird am besten in Form eines sehr beständigen Salzes (z. B. Chlorid, Bromid, Perchlorat) aufgehoben. Wir empfehlen wegen ihrer sehr breiten Anwendungsfähigkeit, die optimale Zusammensetzung des Entwicklungsgemisches in speziellen Fällen durch Vorversuche zu ermitteln. Für allgemeine Fälle haben sich folgende Anwendungsvorschriften bewährt:

a) 50 cm³ einer 0,5proz. alkoholischen Lösung mit ca. 0,5 cm³ Bromwasserstoffsäure (D ca. 1,38) versetzen und versprühen. Anschließend mit Heißdampf ausblasen und nach Trocknen mit einem Gemisch aus gleichen Teilen einer 1n-Soda- und 1n-Ammoniak-Lösung nachsprühen und daraufhin wiederum mit Heißdampf ausblasen. In besonderen Fällen, wo z. B. die Reaktion zwischen der Fischerschen Base und der betreffenden Substanz unter Abspaltung von Mineralsäure verläuft, hat es sich bewährt, dem Entwicklungsgemisch etwas Pyridin, Ammoniak (bes. a. f. Ameisensäure und Derivate) o. ä. zuzusetzen.

Zur Entwicklung größerer Flächen ist folgende Ausführungsform bequemer:

b) Ein saugfähiger Filtrierkarton in der doppelten Größe des zu entwickelnden Chromatogramms wird mit einer 5proz. alkoholischen Lösung der Base und den entspr. Zusätzen eingesprüht. Man bringt das trockene Chromatogramm nun zwischen den so vorbereiteten, in der Mitte gefalteten Filtrierkarton und legt das ganze in einen gut angewärmten Trockenapparat, (wie er z. B. zur Trocknung photographischer Papiere verwendet wird). Chromatogramm herausnehmen, sobald die Substanzen als orange-gelbe bis i. a. bläulich rote Flecken auf weißem Untergrund erscheinen. Eine weitere Nachbehandlung mit Heißdampf zur Entfernung überschüssiger Fischerscher Base, die bei längerer Lagerung des Chromatogramms dieses rot färben würde¹⁴⁾, ist bei richtiger Ausführung nicht erforderlich.

Meinem Mitarbeiter, Herrn W. Morhard, danke ich herzlich für seine wertvolle und tatkräftige Hilfe. Den Farbfabriken Bayer, Leverkusen, gilt unser Dank für freundliche Überlassung verschiedener Indol-Derivate.

Eingeg. am 3. April 1954 [A 601]

¹⁴⁾ W. König, Ber. dtsch. chem. Ges. 57, 689 [1924].

Trennung von Substanzen durch Verteilung zwischen zwei flüssigen Phasen

Nomenklaturvorschläge

Von Dr. E. HECKER*)

Max-Planck-Institut für Biochemie, Tübingen

und Dr. K. ALLEMANN,

Institut für allgemeine und spezielle organische Chemie der Universität Bern

Es wird eine Systematik der Verfahren zur Substanztrennung unter Verwendung von zwei flüssigen Phasen angegeben. Die Einteilungsprinzipien sind: Art der Phasenbewegung, Zahl der bewegten Phase sowie Art und Ort der Gemischzugabe.

Zur Trennung von Substanzen wurde in der Technik schon frühzeitig die Verteilung zwischen zwei flüssigen Phasen benutzt. Ihre Anwendung im Laboratorium war lange Zeit aus Mangel an geeigneten Apparaturen auf die Fälle beschränkt, bei denen einige Verteilungen durch Ausschütteln im Scheidetrichter oder eine Perforation zur Trennung des Substanzgemisches ausreichten. Einen großen Fortschritt bedeuteten daher die Arbeiten von Jantzen¹⁾ (1926ff.), der sich erstmalig mit der Konstruktion von Apparaturen und der Theorie der multiplikativen Verteilung sowie ihrer Anwendung im Laboratorium befaßte. Schon vorher war dazu ein Ansatz von Frenc²⁾ gemacht worden. Leider sind diese Arbeiten wieder in Vergessenheit geraten. Erst mit der Verteilungschromatographie³⁾ und der Papierchromatographie⁴⁾ sowie den Apparaturen von Craig^{5, 5a)} sind die multiplikativen Verfahren der Verteilung zwischen zwei flüssigen Phasen zum unentbehrlichen Hilfsmittel im Laboratorium geworden. Diese Entwicklung begann vor etwa zehn Jahren. Seither

werden auch andere Verfahren der multiplikativen Verteilung im Laboratorium zunehmend verwendet, und neue oder verbesserte Apparaturen zu ihrer Ausführung entwickelt und gebaut.

Leider war die Benennung der neuen Verfahren und Apparaturen nicht immer zufriedenstellend. Deshalb scheint es heute wünschenswert, eine Übersicht über die verschiedenen, praktisch bedeutungsvollen Verfahren zu geben und eine systematische Benennung vorzuschlagen. Um die Folgerichtigkeit der Nomenklaturvorschläge zu gewährleisten, wurden von den bisher üblichen Bezeichnungen diejenigen durch neue ersetzt, die sich in die Systematik der Verfahren nicht einfügen lassen. Auch solche Benennungen, die seither nicht sinngemäß angewandt wurden und deshalb leicht Verwirrung stiften können, werden nicht mehr gebraucht. Die vorliegende Systematik ist so gehalten, daß eventuell später noch hinzukommende, neue Verfahren, oder nicht erwähnte Methoden, die bisher ohne praktische Bedeutung waren, jederzeit unabhängig von apparativen Prinzipien sinngemäß eingeordnet werden können. Dasselbe gilt auch für die technischen Verteilungsverfahren.

Im fremdsprachigen Schrifttum wird eine konsequente und systematische Benennung der Verteilungsverfahren bisher nicht benutzt. Ansätze dazu sind von Craig⁶⁾ gemacht worden. Sie weichen von der vorliegenden Bezeichnungsweise ab, da der Zweck der Verteilung als Ordnungsprinzip dient. Die Verfahren selbst werden nicht systematisch benannt. Die Vorschläge

*) Demnächst erscheint Monographie Nr. 67 zur Angewandten Chemie und Chemie-Ingenieur-Technik: „Verteilungsverfahren im Laboratorium“ von E. Hecker. Etwa 228 S. mit 89 Abb. sowie 74 Tab. im Text und einem 12 seitigen Tabellenheft; Kart. DM 19.—, Vorbestellungen an Verlag Chemie, GmbH, Weinheim/Bergstraße.

¹⁾ E. Jantzen, Dechema Monographie Nr. 48, Verlag Chemie, Berlin 1932.

²⁾ M. Frenc, diese Ztschr. 38, 323 [1925].

³⁾ A. J. P. Martin u. R. L. M. Synge, Biochemic. J. 35, 1358 [1941].

⁴⁾ R. Consden, A. H. Gordon u. A. J. P. Martin, Biochemic. J. 38, 244 [1944].

⁵⁾ L. C. Craig, J. biol. Chemistry 155, 519 [1944].

^{5a)} L. C. Craig, W. Hausmann, E. H. Ahrens jr. u. E. J. Hurfenist, Analytic. Chem. 23, 1236 [1951].

⁶⁾ L. C. Craig u. D. Craig in A. Weissberger: Technique of Organic Chemistry, Bd. III, Interscience Publishers New York 1950.