

186. Mehrdimensionale Papierchromatographie

von A. Stöckli.

(29. VI. 54.)

Die im folgenden beschriebene, meines Wissens erstmals von uns angewandte Technik der mehrdimensionalen Papierchromatographie ermöglicht die vollkommene Trennung theoretisch beliebig vieler Komponenten aus chromatographisch verteilbaren Stoffgemischen, wie Aminosäuren, Zucker usw.

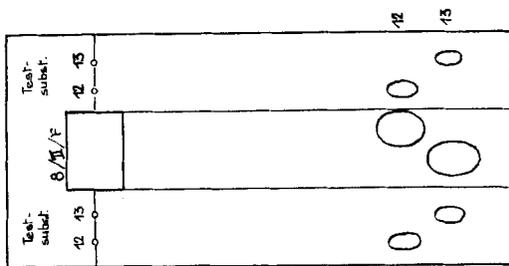
Prinzip.

Ein für die papierchromatographische Analyse vorbereitetes Stoffgemisch wird im eindimensionalen Verfahren unter Verwendung geeigneter Lösungsmittel, in ähnlicher Weise wie von *McFarren*¹⁾ beschrieben, vorgetrennt. Durch Entwickeln zweier Parallelchromatogrammstreifen und evtl. auch solcher mit Testsubstanzen wird der genaue Standort der einzelnen Komponenten ermittelt (vgl. Fig. 1). Die noch ungenügend voneinander getrennten Substanzen werden nun gruppenweise auf neue Blätter übertragen und mit andern, für die Trennung der verschiedenen Komponentengruppen besonders geeigneten Lösungsmitteln weiter getrennt. Es kann dabei sowohl nach dem absteigenden wie auch nach dem aufsteigenden Verfahren chromatographiert werden.

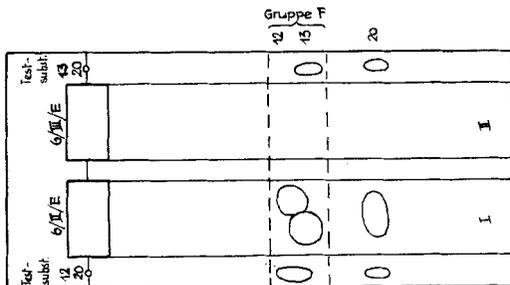
Die Übertragung der einzelnen Substanzengruppen von einem Blatt auf das andere ist äusserst einfach: Das betreffende Streifenstück wird aus einem noch nicht entwickelten Chromatogramm herausgeschnitten und über ein ausgespartes Fenster entsprechender Grösse auf ein neues Blatt aufgenäht. Zum Aufnähen verwendet man am besten eine Nähmaschine und dünnen, weissen Baumwollfaden. Dabei ist lediglich zu beachten, dass bei absteigendem Lösungsmittel der untere (bei aufsteigendem der obere) Saum schmal gehalten wird und der Abstand der Naht vom Streifenrand nicht mehr als 1 bis 1,5 mm beträgt (vgl. Fig. 2). Die Substanzen im aufgenähten Streifen werden vom Lösungsmittel quantitativ auf das neue Blatt übertragen. Ist die Trennung einzelner Komponenten auch nach dem zweiten Laufe noch ungenügend, so überträgt man die betreffende Gruppe auf ein drittes Blatt. Dies liesse sich theoretisch beliebig oft wiederholen, praktisch ist dem allerdings eine Grenze gesetzt, da die Flecken mit jedem Laufe grösser und diffuser werden. Eine zweite und dritte Übertragung ist jedoch u. U. noch gut anwendbar.

¹⁾ *Earl F. McFarren*, Anal. Chem. **23**, 168 (1951).

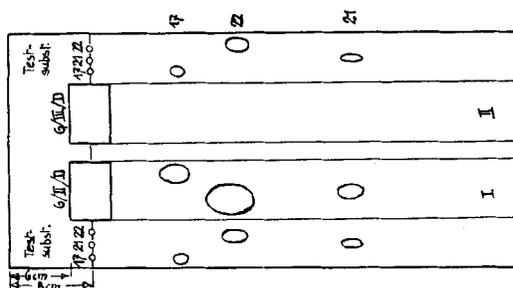
Blatt 9
Whatman Nr. 1
 n-Butanol, 3% NH_3
 3. Lauf



Blatt 8
Whatman Nr. 1
 Wasserges. Collidin
 2. Lauf



Blatt 7
Whatman Nr. 1
 Wasserges. Collidin
 2. Lauf



Blatt 6
Whatman Nr. 1, gepuffert pH 8,4¹⁾
 Benzyl-Butylalkohol 1:1
 1. Lauf

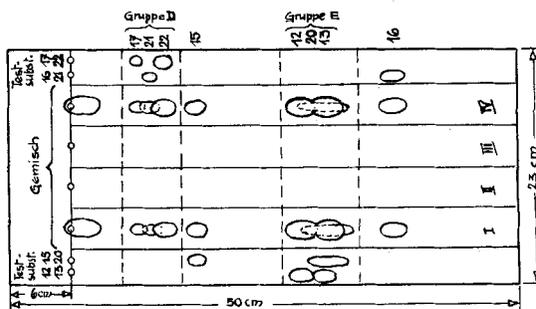


Fig. 1.

Trennung von Isoleucin (12), Leucin (13), Methionin (15), Phenylalanin (16), Prolin (17), Tryptophan (20), Tyrosin (21) und Valin (22) mittels der mehrdimensionalen Chromatographie-technik. Die Blätter 6 bis 9 sind dem angeführten Beispiel entnommen.

¹⁾ *Earl F. McFarren*, *Anal. Chem.* **23**, 168 (1951).

In Anlehnung an den Begriff der zweidimensionalen Papierchromatographie, bei der in zwei Läufen mit zwei verschiedenen Lösungsmitteln getrennt wird, kann die neue, in mehreren Läufen und mit mehreren verschiedenen Lösungsmitteln arbeitende Technik als mehrdimensionale Papierchromatographie bezeichnet werden.

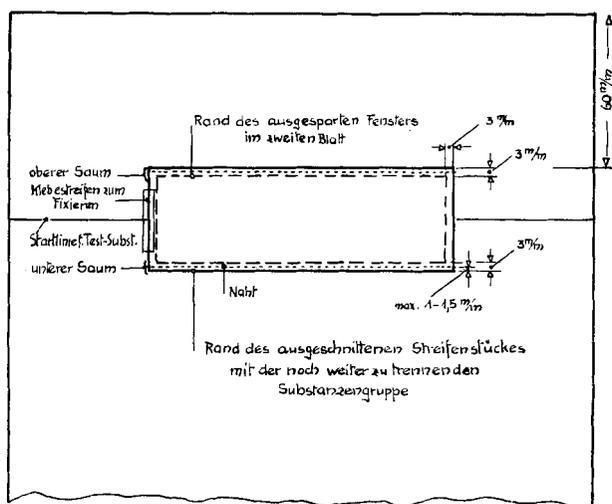


Fig. 2.

Übertragung einer noch weiter zu trennenden Stoffgruppe durch Aufnähen des ausgeschnittenen Streifenstückes auf einem neuen Blatt.

Vorteile.

Das mehrdimensionale Verfahren bietet folgende beachtliche Vorteile:

1. Es ermöglicht die vollkommene Trennung auch komponentenreicher Gemische in kleinen Gefäßen (für absteigende Chromatographie z. B. $22 \times 30 \times 50$ cm), wie sie für eindimensionale Chromatographie gebräuchlich sind.

2. Zur genauen Standortbestimmung und zur Identifizierung der einzelnen Komponenten können bei jedem Laufe Testsubstanzen mitchromatographiert werden. Da gleichzeitig die Komponenten weit voneinander getrennt werden können, ermöglicht dies, die Substanzflecken ohne vorheriges Anentwickeln einzeln aus dem Blatt herauszuschneiden und quantitativ zu bestimmen.

3. Bei jedem Laufe kann in der Faserrichtung des Papiers chromatographiert werden.

4. Sind in einem Gemisch nur einzelne Substanzen von Interesse, so können diese auf dem ersten Blatt durch Wahl geeigneter Bedingungen (Lösungsmittel, Laufdauer, pH) von den übrigen Komponenten getrennt und durch Übertragen für sich allein weiter behandelt werden, was u. U. die Arbeit wesentlich vereinfacht.

Beispiel:

Mit der mehrdimensionalen Technik konnten sämtliche Komponenten eines Gemisches von 22 Aminosäuren folgendermassen getrennt werden:

Apparatur: 5 Apparaturen für eindimensionale Chromatographie.

Papier: Whatman Nr. 1, Bogengrösse 23 × 50 cm.

Lösungsmittel: a) 75-proz. wässriges Phenol + 0,3-proz. NH_3 , Leuchtgasatmosphäre;
 b) Butanol-Essigsäure-Wasser (125 : 30 : 125), überstehende wasser-gesättigte Schicht;
 c) Benzyl-Butylalkohol (1 : 1), gepuffert nach *McFarren*¹⁾;
 d) wassergesättigtes Collidin;
 e) n-Butanol, gesättigt mit 3-proz. NH_3 .

Es wurde absteigend bei Zimmertemperatur chromatographiert.

Blatt Nr.	Lösungsmittel und Laufdauer	Vollständig getrennt wurden*):
1	1. Lauf: Phenol 60 Std.	Glutaminsäure
2	2. Lauf: But.-Essigs. 60 Std.	Cystin
3		Asparaginsäure
		Asparagin
		Glycin
		Serin
		Threonin
4	1. Lauf: Phenol 30 Std.	—
5	2. Lauf: But.-Essigs. 60 Std.	Lysin
		Histidin
		Glutamin
		Arginin
		α -Alanin
		β -Alanin
	γ -Aminobuttersäure	
6	1. Lauf: Benzyl-But. 50 Std. Papier gepuffert pH 8,4 nach ¹⁾	Methionin Phenylalanin
7	2. Lauf: Collidin 50 Std.	Prolin
		Tyrosin
		Valin
8		Tryptophan
		{ Isoleucin } **)
		{ Leucin }
9	3. Lauf: n-But.- NH_3 50 Std.	Isoleucin
		Leucin

*) Minimaler Abstand zweier benachbarter Fleckenränder = 8 mm.

***) Bei Isoleucin und Leucin berühren sich die beiden Flecken nach dem zweiten Laufe gerade noch.

¹⁾ *Earl F. McFarren*, Anal. Chem. **23**, 168 (1951).

Zusammenfassung.

Es wird ein neues mehrdimensionales Papierchromatographie-Verfahren beschrieben. Dabei wird vorerst eindimensional vortrennt, hierauf werden die noch ungenügend separierten Komponenten gruppenweise auf neue Blätter übertragen und mit spezifischen Lösungsmitteln weiter getrennt. Die Übertragung erfolgt durch Ausschneiden und Aufnähen der betreffenden Chromatogramm-Streifenstücke. Das Verfahren bietet grosse Vorteile: Unter anderem sehr guter Trenneffekt, auch bei komponentenreichen Gemischen; es erfordert nur kleine Gefässe; bei jedem Laufe können Testsubstanzen mitchromatographiert werden. An einem Beispiel wird die Trennung eines Gemisches von 22 Aminosäuren nach der neuen Technik dargestellt.

Versuchsstation Schweiz. Brauereien, Zürich.

187. Trennparameter bei Azeotropismus zeigenden Gemischen.

Teil I.

Azeotropismus bei regulären oder nahezu regulären Gemischen (Trennparameter und für die teilweise Trennung solcher Gemische benötigte Trennstufenzahl; Beziehungen zwischen den für das azeotrope Gemisch charakteristischen Konstanten)

von **Werner Kuhn.**

(30. VI. 54.)

1. Feststellung einer Abhängigkeit des Trennparameters von der Zusammensetzung bei nicht athermischen Gemischen.

Bezeichnen wir mit

$$\gamma_{11} = \frac{c_{11}}{c_{11} + c'_{11}} \quad (1)$$

die relative molare Konzentration des ersten (leichter flüchtigen) Bestandteils eines binären Gemisches in der Flüssigkeit, mit

$$\gamma_D = \frac{c_D}{c_D + c'_D} \quad (1a)$$

die relative molare Konzentration desselben Bestandteils in dem mit der Flüssigkeit im Gleichgewicht stehenden Dampf, und setzen wir weiter

$$\frac{\gamma_D}{1 - \gamma_D} = \frac{\gamma_{11}}{1 - \gamma_{11}} e^{\delta}, \quad (2)$$