

- [14] H. SCHINZ und Mitarbeiter, *Helv.* **33**, 130 (1950); **32**, 1967 (1949); **31**, 473, 1954 (1948); **30**, 1349 (1947).
- [15] J. SUPRIN, *Chem. Abstr.* **45**, 94477 (1951); J. WISLICENUS, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **25**, 3448 (1892); vgl. auch R. KUHN & G. BASCHANG, *Liebigs Ann. Chem.* **659**, 156 (1962).
- [16] M. S. LOSANITSCH, *Mh. Chem.* **35**, 311 (1914).
- [17] R. CRIEGEE & P. GÜNTHER, *Chem. Ber.* **96**, 1564 (1963).
- [18] W. LANGENBECK, H. LE BLANC & W. LUKOWCZYK, *Chem. Ber.* **87**, 496 (1954).
- [19] K. BOWDEN, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES & B. C. L. WEEDON, *J. chem. Soc.* **1946**, 39.
- [20] H. SCHMID, A. EBNÖTHER & TH. M. MEIJER, *Helv.* **33**, 1761 (1950).
- [21] J. THIELE, *Liebigs Ann. Chem.* **306**, 165 (1899).

85. Neuere Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit der Rf-Werte in der Dünnschichtchromatographie von György Pataki

(11. II. 64)

Dem Zusammenhang zwischen Struktur und chromatographischem Verhalten in der Papier- und Dünnschicht-Chromatographie wird in den letzten Jahren besondere Aufmerksamkeit gewidmet¹⁾. Abgesehen von den Schwierigkeiten, welche durch reelle und scheinbare Abweichungen von der Theorie [5]²⁾ verursacht werden (vgl. [3] [6]), bereitet die Reproduzierbarkeit der Rf-Werte gewisse Probleme.

In der Dünnschichtchromatographie wurden bisher folgende Einflussfaktoren auf die Rf-Werte festgestellt: Qualität des Fliessmittels und des Sorptionsmittels [7] [8] [8a], Aktivierung der Schicht [9] [10] 1, Luftfeuchtigkeit [12], Schichtdicke [11] [13], Plattenformat [14], Sättigungszustand [15] [16], Laufstrecke und Entfernung des Startpunktes vom Eintauchspiegel [7] [15], Auftragsmenge und Lösungsmittel [10] [14] [17], Temperatur [7] [11] [12] und Technik [7].

Unter Standardbedingungen [7] [10] [18]³⁾ ist die Reproduzierbarkeit der Rf-Werte in der Dünnschichtchromatographie durchaus mit jener in der Papierchromatographie vergleichbar; die durch Qualitätsschwankungen des Sorptionsmittels verursachte Störung dürfte sich rechnerisch beseitigen lassen [8]⁴⁾.

Zur Bereitung der Schicht wird das Sorptionsmittel in der Regel mit Wasser aufgeschlämmt und mit Hilfe einer geeigneten Einrichtung, z. B. des STAHL'schen Streichgerätes [18] [21], auf Glasplatten gebracht. HÖRHAMMER *et al.* [22] und später BHANDARI *et al.* [23] berichteten über eine neue Methode zur manuellen Bereitung der Chromatographieschichten, bei der eine Suspension des Sorptionsmittels in Essigester [22] oder einem Gemische von Alkohol/Wasser [23] auf die Platte gegossen wird. Gegenüber den mit einem Streichgerät hergestellten Schichten fanden sie keine Rf-Unterschiede.

¹⁾ Papierchromatographie: vgl. [1] [2]²⁾; Dünnschichtchromatographie: vgl. [3] [4].

²⁾ Die Ziffern in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 786.

³⁾ GEISS *et al.* [12] haben kürzlich gezeigt, dass der Einfluss der Luftfeuchtigkeit, der übrigens auch in der Papierchromatographie beobachtet wurde [19], ebenfalls eliminiert werden muss.

⁴⁾ Aus den mathematischen Betrachtungen von RACHINSKII [20] geht klar hervor, dass nicht nur der Rf-Wert, sondern auch der Rb-Wert (Rf bezogen auf eine Standardsubstanz) von der Qualität des Trägers abhängig sein kann.

Demnach sollte die Reproduzierbarkeit der neuen Methode derjenigen der Standardmethode entsprechen. Dies stimmt nun mit unseren früheren Befunden [24] nicht überein und wir haben deshalb Kieselgel-Schichten, welche mit dem STAHL'schen Streichgerät (Methode I) bzw. manuell nach BHANDARI *et al.* [23] bereitet wurden (Methode II), miteinander verglichen.

Zur Chromatographie verwendeten wir Kieselgel-WOELM zur Dünnschichtchromatographie (WOELM, Eschwege, Deutschland) und befolgten bei der Schichtbereitung genau die Angaben von BHANDARI *et al.* [23] (Methode II) bzw. von STAHL [18] (Methode I: Schichtestellung 0,25 mm). Für 5 Glasplatten (20 × 20 cm) haben wir eine Aufschlämmung von 30 g Kieselgel in 75 ml Alkohol/Wasser (9:1) benutzt. Die Chromatographie erfolgte aufsteigend nach früheren Angaben [7], nachdem die Platten *über Nacht an der Luft* getrocknet wurden. Sämtliche Chromatogramme wurden *zur gleichen Zeit* ausgeführt, um Störungen durch die Luftfeuchtigkeit zu eliminieren.

Tabelle 1. Vergleich der Rf-Streuungen auf ein und derselben Platte (Fließmittel: Benzol)

Verbindung	Schicht mit Streichgerät (I)			Schicht manuell gegossen (II)		
	Rf*)	Schwankungs- breite	s _{Rf}	Rf*)	Schwankungs- breite	s _{Rf}
Buttergelb	0,429	0,030	0,011	0,441	0,055	0,020
	0,401	0,015	0,004	0,390	0,045	0,014
	0,382	0,025	0,008	0,369	0,055	0,018
	0,420	0,030	0,012	0,452	0,050	0,017
	0,393	0,025	0,009	0,350	0,055	0,019
	0,400	0,025	0,008	0,380	0,045	0,014
Sudanrot	0,185	0,020	0,005	0,190	0,040	0,014
	0,149	0,010	0,003	0,152	0,035	0,009
	0,137	0,010	0,004	0,138	0,030	0,008
	0,162	0,015	0,004	0,201	0,035	0,010
	0,170	0,020	0,006	0,129	0,040	0,013
	0,145	0,010	0,004	0,173	0,035	0,010

*) Mittelwerte aus je 16 Einzelwerten der gleichen Platte.

Tabelle 2. Vergleich der Rf-Streuungen auf mehreren Platten (vgl. Text)

Verbindung	Schicht mit Streichgerät (I)			Schicht manuell gegossen (II)		
	Rf*)	Schwankungs- breite	s _{Rf}	Rf*)	Schwankungs- breite	s _{Rf}
Buttergelb	0,404	0,047	0,018	0,397	0,091	0,041
Sudanrot	0,158	0,048	0,018	0,164	0,072	0,029

*) Mittelwerte je der 6 Platten von Tabelle 1.

Tab. 1 zeigt, dass die Schwankungsbreite der Rf-Werte (SB) und die Standardabweichung (s_{Rf}) bei Schichten, die nach Methode II bereitet wurden, allgemein grösser sind als bei Verwendung des Streichgerätes (vgl. [24]).

Bei Schichten nach I ist: $0,010 \leq SB \leq 0,030$ und $0,003 \leq s_{Rf} \leq 0,012$; bei Schichten nach II hingegen: $0,030 \leq SB \leq 0,055$ und $0,008 \leq s_{Rf} \leq 0,020$. Die mittlere Standardabweichung beträgt: 0,0065 bzw. 0,0138.

Bildet man für jede Substanz aus den Rf-Mittelwerten der einzelnen Platten die Gesamtmittelwerte, so lässt sich auch die Reproduzierbarkeit der Methoden I und II an mehreren Platten beurteilen. Wie Tab. 2 zeigt sind bei II Schwankungsbreite und Standardabweichung grösser. Im Gegensatz zu dem Verfahren bei unseren früheren Untersuchungen [10] [24] lassen sich auch die Rf-Werte der Tab. 2, die nach I bzw. II gewonnen wurden, unmittelbar vergleichen, weil sämtliche Chromatogramme unter identischen Bedingungen [7] *zur gleichen Zeit* («konstante» Luftfeuchtigkeit; vgl. GEISS *et al.* [12]) ausgeführt wurden. Die Unterschiede sind ausserordentlich klein und bestätigen den Befund von HÖRHAMMER [22] und von BHANDARI [23], wonach die absoluten Rf-Werte nach I bzw. nach II kaum voneinander abweichen. Die manuelle Methode ist jedoch in bezug auf die Reproduzierbarkeit der Rf-Werte der Standardmethode unterlegen.

Der Autor möchte Frau E. PATAKI-LEHNEN für ihre Mitarbeit bei der Abfassung des Manuskriptes bestens danken.

ZUSAMMENFASSUNG

Durch Aufschlammung des Sorptionsmittels mit Alkohol/Wasser *manuell* bereitete Kieselgel-Schichten zeigen sich unter sonst gleichen Bedingungen den mit Hilfe des STAHL'schen *Streichgerätes* bereiteten Schichten in bezug auf Reproduzierbarkeit der Rf-Werte *unterlegen*.

Laboratorium der Universitäts-Frauenklinik
(Direktor: Prof. Dr. med. TH. KOLLER), Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. KÓBOR, G. BERNÁTH & K. KOCZKA, Acta. phys. chem. (Szegedin, Ungarn) 7, 121 (1961); G. BERNÁTH & K. KOCZKA, Acta chim. Sci. Hung. 37, 443 (1962); U. BEHRENS, M. RINGPFEIL & G. STRIEGLER, Monatsber. Deutsche Akad. Wiss. Berlin 3, 635 (1961); K. MACEK, Magyar Kémikusok Lapja (Budapest) 1962 (7), 297; M. LEDERER, Sci. Rep. Ist. Sup. Sanità Roma 7, 582 (1962); J. GREEN & S. MARCINKIEWITZ, J. Chromatogr. 10, 35 (1963).
- [2] I. M. HAIS & K. MACEK, Some General Problems of Paper Chromatography, Č. S. A. V. Prag 1962.
- [3] M. BRENNER, A. NIEDERWIESER, G. PATAKI & R. WEBER in E. STAHL (Herausgeber), Dünnschichtchromatographie, Springer, Berlin 1962.
- [4] O. HROMATKA & W. A. AUE, Mh. Chemie 93, 503 (1962); W. A. AUE, Diss. T. H. Wien 1962; I. HALMEKOSKI & H. HANNIHAINEN, Suomen Kemist 36B, 24 (1963).
- [5] A. J. P. MARTIN, Biochem. Soc. Symp. (Cambridge) 3, 4 (1950).
- [6] I. M. HAIS & K. MACEK, Handbuch der Papierchromatographie, Fischer Verlag, Jena 1963.
- [7] M. BRENNER, A. NIEDERWIESER, G. PATAKI & A. R. FAHMY, Experientia 18, 101 (1962).
- [8] M. BRENNER, G. PATAKI & A. NIEDERWIESER, Intern. Symp. Thin Layer Chrom. Rom 1963., [8a] B. P. LISBOD & E. DICZFALUSY, Acta endocrinol. 40, 60 (1962).
- [9] J. H. DHONT & C. DE ROY, Analyst 86, 527 (1961); H. PETSCHIK & E. STEGER, J. Chromatogr. 9, 307 (1962); B. P. KORZUN, L. DORFMAN & S. M. BRODY, Analyt. Chemistry 35, 950 (1963).
- [10] J. KELEMEN & G. PATAKI, Z. analyt. Chem. 195, 81 (1963).
- [11] C. G. HONEGGER, Helv. 46, 1772 (1963).
- [12] F. GEISS, H. SCHLIT, F. J. RITTER & W. M. WEIMAR, J. Chromatogr. 12, 469 (1963).
- [13] E. STAHL, Pharmazie 11, 633 (1956); A. SEHER, Fette Seifen 67, 345 (1959); G. PATAKI & M. KELLER, Helv. 46, 1054 (1963).
- [14] T. FURUKAWA, Nippon Kagaku Zasshi 80, 45 (1959); Chem. Abstr. 54, 4107f (1960); M. BRENNER, A. NIEDERWIESER & G. PATAKI, Experientia 17, 145 (1961).
- [15] E. STAHL, Arch. Pharm. 292, 411 (1959).

- [16] C. G. HONEGGER, *Helv.* **46**, 1730 (1963).
 [17] M. BRENNER & A. NIEDERWIESER, *Experientia* **16**, 378 (1960); V. ČERNÝ, J. JOSKA & L. LABLER, *Coll. czech. chem. Comm.* **26**, 1658 (1961); E. STAHL & U. KALTENBACH, *J. Chromatogr.* **5**, 351 (1961).
 [18] E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer, Berlin 1962.
 [19] W. A. SCHROEDER, J. R. SHELTON, J. B. SHELTON, J. CORMICK & R. T. JONES, *Biochemistry* **2**, 992 (1963).
 [20] V. V. RACHINSKII in [2], Seite 47.
 [21] E. STAHL, *Chemiker Ztg.* **82**, 323 (1958).
 [22] L. HÖRHAMMER, H. WAGNER & G. BITTNER, *Der Deutsche Apotheker* **14**, 148 (1962).
 [23] P. R. BHANDARI, B. LERCH & G. WOHLLEBEN, *Pharm. Ztg.* **107**, 1618 (1962).
 [24] G. PATAKI & J. KELEMEN, *J. Chromatogr.* **11**, 50 (1963).

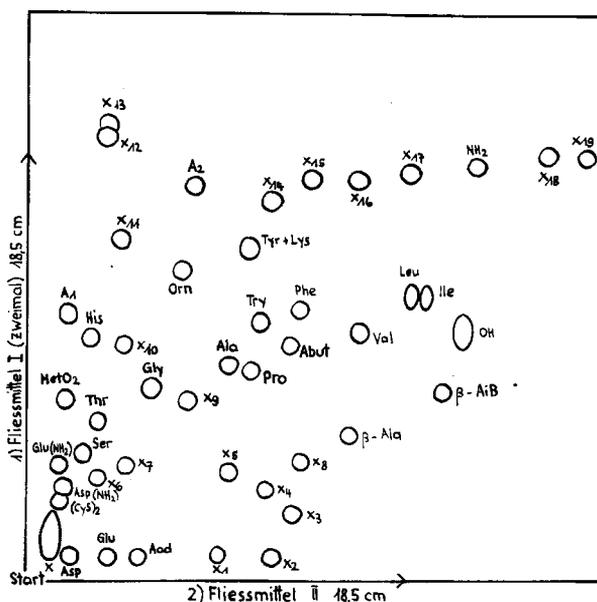
86. Aminosäuren und Peptide im Urin

1. Mitteilung

von György Pataki und Max Keller

(19. II. 64)

Die Dünnschichtchromatographie eignet sich vorzüglich zur Trennung und Charakterisierung von Aminosäuren im biologischen Material (für Zusammenfassung vgl. [1]¹). Im Rahmen unserer Untersuchungen über die Anwendung der Dünnschicht-



Übersichtschromatogramm der im Urin nachgewiesenen ätherlöslichen DNP-Verbindungen (vgl. Tab.)

I: Toluol/2-Chloräthanol/Pyridin/25-proz. Ammoniak (50:35:15:7).

II: Chloroform/Benzylalkohol/Eisessig (70:30:3), jeweils Volumenverhältnisse.

¹) Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 789.