

EINFLUSS DER SCHICHTBEREITUNGSWEISE AUF DIE REPRODUZIERBARKEIT DER R_F IN DER DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE

GYÖRGY PATAKI UND JÓZSEF KELEMEN

*Institut für Organische Chemie
und Institut für Farbenchemie der Universität Basel (Schweiz)*

(Eingegangen den 16. Oktober 1962)

Obwohl die Dünnschichtchromatographie (D.C.) seit längerer Zeit bekannt ist¹, wurde sie erst nach der Einführung eines brauchbaren Streichgerätes² zu einer allgemeinen analytischen Methode. Zahlreiche Veröffentlichungen auf nahezu allen Arbeitsgebieten³ haben ergeben, dass die D.C. der Papierchromatographie (P.C.) in vielen Fällen überlegen ist.

Zur Bezeichnung der Lage einer Substanz werden in der D.C., genau wie in der P.C. die R_F angegeben. Sie sind von vielen Faktoren⁴, u.a. von der Schichtdicke⁵ abhängig. Die Trägerschicht soll, einerseits von Platte zu Platte reproduzierbar, andererseits innerhalb ein und derselben Platte einheitlich sein. Beide Bedingungen werden weitgehend erfüllt, wenn man 200 × 200 mm Glasplatten* mit Hilfe des STAHL'schen Streichgerätes² bestreicht.

Es wird auch in der neuesten Zeit, in Anlehnung an frühere Arbeiten¹, gelegentlich vorgeschlagen, die Chromatoplaten manuell zu bereiten⁷⁻⁹. Solche Schichten sind unseres Erachtens nicht einheitlich und auch nicht von Platte zu Platte reproduzierbar.

Um diese Annahme zu prüfen, führten wir folgende Experimente durch:

(a) 25 g Kieselgel G wurde mit 50 ml Wasser in einem verschlossenen Erlenmeyer-Kolben (200 ml) 30 sec lang sehr kräftig geschüttelt¹⁰ und mit Hilfe des STAHL'schen Streichgerätes² auf 200 × 200 mm Glasplatten gebracht (Streichdauer: 4 sec, Schichtdicke: ca. 0.25 mm). Die Platten wurden über Nacht an der Luft getrocknet^{4, 10}.

(b) 5 g Kieselgel G und 15 ml Wasser wurden in einem verschlossenen Erlenmeyer-Kolben (100 ml) 30 sec lang sehr kräftig geschüttelt und auf eine Glasplatte (200 × 200 mm) gegossen. Die Suspension wurde durch Rütteln möglichst gleichmässig über die ganze Platte verteilt. Die bestrichenen Platten liess man über Nacht an der Luft trocknen.

Die Startpunkte lagen sowohl bei (a) als auch bei (b) 1.5 cm vom unteren Plattenrand entfernt, die Entfernung zwischen zwei Auftragstellen betrug mindestens 0.8 cm. Als Laufstrecke verwendeten wir bei allen Versuchen 10 cm. Zur Kammersättigung¹¹ wurden die Kammern mit Filterpapier vollständig ausgekleidet und vor der Einstellung der Platten mehrmals kräftig geschüttelt. Die Entwicklung erfolgte aufsteigend.

* Die Schichtdicke ist innerhalb ein und derselben Platte nicht konstant, wenn man zur Chromatographie 200 × 50 mm oder sogar kleinere Platten bestreicht⁹.

ERGEBNISSE

(1) Wir haben zunächst die Reproduzierbarkeit der R_F an *ein und derselben Platte*, welche nach (a) bzw. nach (b) bereitet wurde, untersucht. Aus diesem Grund trugen wir 1 mm^3 des Testgemisches² vierzehnmal auf Platten nach (a) und (b) auf. Fig. 1 und 2 zeigen, dass die R_F an Platten, welche nach (b) bereitet wurden viel stärker

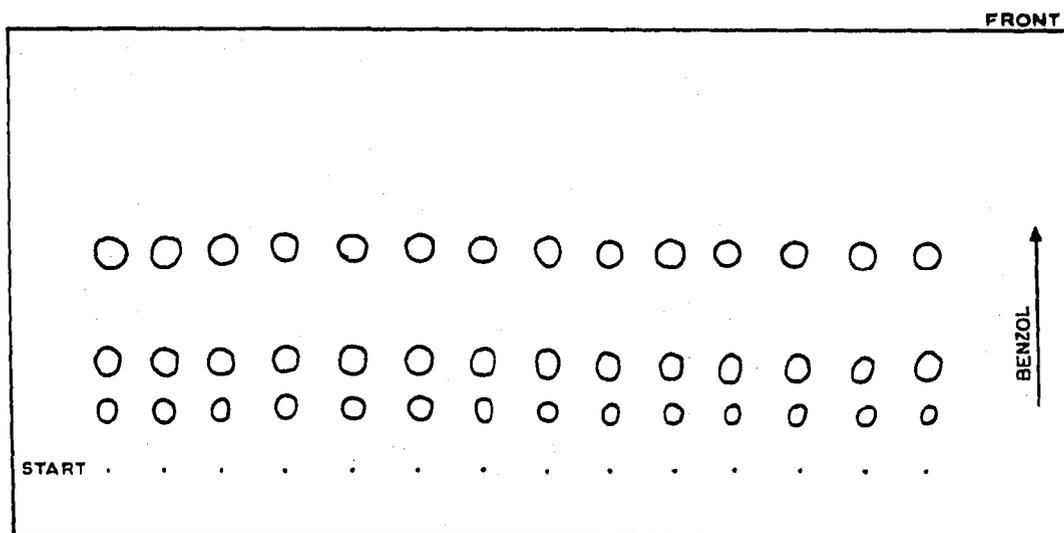


Fig. 1. Dünnschichtchromatogramm von Indophenol, Sudanrot G und Buttergelb (Testgemisch²) auf Kieselgel G nach (a) (vgl. Text).

streuen. Es sei bemerkt, dass wir bei Platten, welche nach (b) bereitet wurden, nur diejenige verwendet haben, welche bei Durchsicht einigermaßen einheitlich waren. Demgegenüber haben wir bei Platten, welche nach (a) bereitet wurden, keine Auswahl getroffen.

Tabelle I zeigt den statistischen Vergleich zwischen (a) und (b). Wir haben dort

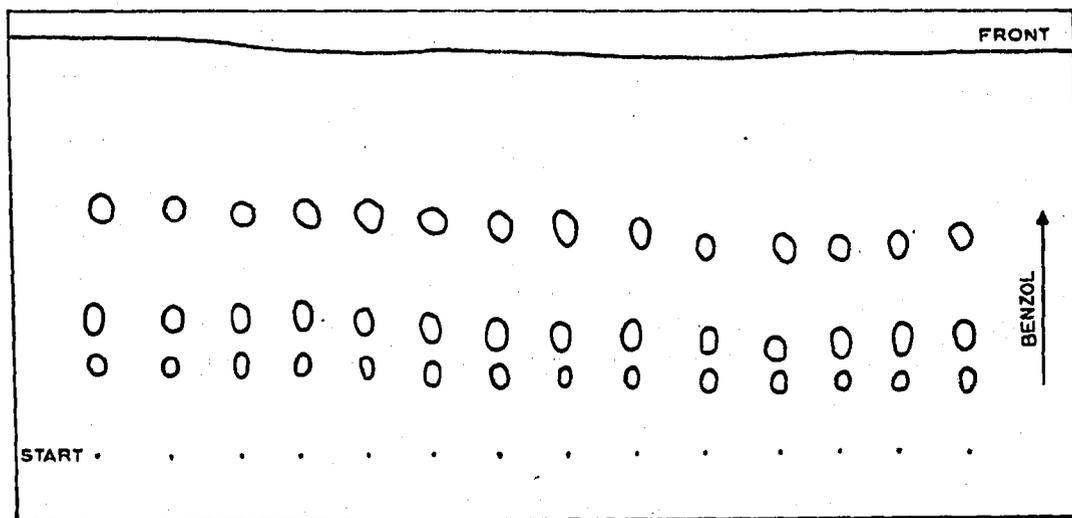


Fig. 2. Dünnschichtchromatogramm von Indophenol, Sudanrot G und Buttergelb (Testgemisch²) auf Kieselgel G nach (b) (vgl. Text).

TABELLE I

VERGLEICH DER R_F -STREUUNGEN AUF SCHICHTEN, DIE NACH (a) BZW. (b) BEREITET WURDEN AN EIN UND DERSELBEN PLATTE
(Fließmittel: Benzol²)

Verbindung	(a)				(b)			
	R_F	n	SB	s_{R_F}	R_F	n	SB	s_{R_F}
Buttergelb*	0.494	14	0.49-0.50	0.005	0.610	14	0.58-0.63	0.014
	0.504	14	0.49-0.52	0.008	0.504	14	0.46-0.56	0.033
Sudanrot G*	0.232	14	0.22-0.24	0.006	0.366	14	0.34-0.39	0.014
	0.228	14	0.21-0.25	0.010	0.265	14	0.23-0.30	0.023
Indophenol*	0.143	14	0.14-0.15	0.005	0.258	14	0.22-0.28	0.016
	0.133	14	0.12-0.16	0.012	0.178	14	0.15-0.21	0.018

* Testgemisch²; n = Anzahl Bestimmungen; \bar{R}_F = R_F -Mittelwert; SB = Schwankungsbreite der R_F ; s_{R_F} = Standardabweichung.

sowohl die Schwankungsbreiten¹² [SB] als auch die Standardabweichungen⁴ [s_{R_F}] angegeben.

Bei (a) ist: $0.01 \leq SB \leq 0.04$ und $0.005 \leq s_{R_F} \leq 0.012$,

bei (b) ist: $0.05 \leq SB \leq 0.10$ und $0.014 \leq s_{R_F} \leq 0.033$.

(2) Die Reproduzierbarkeit der R_F an mehreren Platten (nach (a) bzw. (b)) zeigt die Tabelle II.

Bei (a) ist: $0.02 \leq SB \leq 0.07$ und $0.009 \leq s_{R_F} \leq 0.020$,

bei (b) ist: $0.07 \leq SB \leq 0.11$ und $0.021 \leq s_{R_F} \leq 0.041$.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Es gelang uns zu beweisen dass die R_F an manuell bereiteten Schichten grösseren Schwankungen unterworfen sind als jene an mechanisch bereiteten Schichten.

Wir folgern daraus:

(1) Manuell bereitete Chromatoplaten eignen sich nicht für Studien zwischen Struktur und chromatographischem Verhalten¹⁷.

(2) Sie eignen sich wenig für genaue Untersuchungen, z.B. zur Bestimmung von R_F -Werten.

Wir sind auch der Ansicht, dass der Einsatz manueller Chromatoplaten zur Reinheitsprüfungen oder zu orientierenden Versuchen gewisse Gefahren in sich birgt. Dies wird besonders deutlich durch die Fig. 1 und 2 veranschaulicht.

DANK

Den Herren Proff. Dr. R. WIZINGER und Dr. M. BRENNER danken wir für die Förderung dieser Arbeit. Der eine von uns (J.K.) dankt für die Mittel zur Durchführung dieser Arbeit dem Schweizerischen Nationalfond.

TABELLE II

VERGLEICH DER R_F -STREUUNGEN AUF SCHICHTEN DIE NACH (a) BZW. (b) BEREITET WURDEN AN MEHREREN PLATTEN

Verbindung	(a)				(b)			
	\bar{R}_F	n	SB	s_{R_F}	\bar{R}_F	n	SB	s_{R_F}
Bis-[4-(2,6-diisopropylpyrilo)]- trimethincyanin-perchlorat ¹⁵	0,519 ^z	12	0,49-0,55	0,015	0,560 ^z	12	0,50-0,61	0,041
Bis-[4-(2,6-di- <i>tert.</i> -butyl-pyrilo)]- trimethincyanin-perchlorat ¹⁴	0,598 ^z	12	0,58-0,63	0,019	0,572 ^z	12	0,52-0,61	0,028
Bis-[4-(2,6-diphenylpyrilo)]- trimethincyanin-perchlorat ¹⁵	0,487 ^z	12	0,46-0,53	0,020	0,548 ^z	12	0,51-0,61	0,031
Bis-[2-(1,3,3-trimethylindol)]- trimethincyanin-perchlorat ¹⁶	0,492 ^z	12	0,48-0,52	0,012	0,562 ^z	12	0,51-0,60	0,029
Carbobenzoxy-glycin	0,652 ^y	8	0,63-0,67	0,015	0,684 ^y	8	0,64-0,72	0,034
Carbobenzoxy-alanin	0,669 ^y	8	0,65-0,68	0,011	0,702 ^y	8	0,67-0,76	0,032
Carbobenzoxy-norleucin	0,704 ^y	8	0,69-0,72	0,010	0,740 ^y	8	0,70-0,77	0,026
Carbobenzoxy-norvalin	0,693 ^y	8	0,68-0,70	0,009	0,727 ^y	8	0,69-0,76	0,021

Fließmittel: z = Nitromethan¹⁴, y = Äthanol-Wasser (7:3, v/v)¹⁵.
Bezeichnungen vgl. Tabelle I.

ZUSAMMENFASSUNG

Manuell bereitete Chromatoplaten eignen sich wenig für genaue Untersuchungen. Dies wurde durch statistischen Vergleich der R_F -Schwankungen bei der Standardmethode und bei der manuellen Methode bewiesen. Die Anwendung manuell bereiteter Chromatographierschichten empfiehlt sich auch nicht zu Reinheitsprüfungen oder zu orientierenden Untersuchungen.

SUMMARY

Chromatoplates prepared manually are not very suitable for exact determinations. This was proved by a statistical comparison of the deviations in the R_F values obtained in the standard method and in the manual method. It is also not advisable to use such chromatoplates for purposes of purity control or for informative investigations.

LITERATUR

- ¹ N. A. ISMAILOV UND M. S. SHRAIBER, *Farmatsiya*, No. 3 (1938) 1.
- J. E. MEINHARD UND N. F. HALL, *Anal. Chem.*, 21 (1949) 185.
- J. G. KIRCHNER, J. M. MILLER UND G. J. KELLER, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 420; 25 (1953) 1107; 26 (1954) 2002.
- H. R. REITSEMA, *Anal. Chem.*, 26 (1954) 960.
- ² E. STAHL, *Chemiker Ztg.*, 82 (1958) 323.
- ³ E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1962.
- ⁴ M. BRENNER, A. NIEDERWIESER, G. PATAKI UND A. R. FAHMY, *Experientia*, 18 (1962) 101.
- ⁵ E. STAHL, *Pharmazie*, 11 (1956) 633.
- ⁶ M. BRENNER, A. NIEDERWIESER UND G. PATAKI, *Experientia*, 17 (1961) 145.
- ⁷ H. J. PETROWITZ, *Materialprüfung*, 2 (1960) 309; *Angew. Chem.*, 72 (1961) 921.
- ⁸ G. PASTUSKA, *Z. Anal. Chem.*, 179 (1961) 355, 427; *Chemiker Ztg.*, 85 (1961) 535; 86 (1962) 135.
- ⁹ L. MECKEL, H. MILSTER UND U. KRAUSE, *Textil-Praxis*, 10 (1961) 1032; D. NEUBAUER UND K. MOTHES, *Planta Med.*, 9 (1961) 466.
- ¹⁰ M. BRENNER UND A. NIEDERWIESER, *Experientia*, 16 (1960) 378.
- ¹¹ E. STAHL, *Arch. Pharm.*, 292 (1959) 411.
- ¹² R. POHLOUDEK-FABINI UND H. WOLLMANN, *Pharmazie*, 15 (1960) 590.
- ¹³ J. KELEMEN, *Dissertation*, Basel, 1961.
- ¹⁴ J. KELEMEN, unveröffentlicht.
- ¹⁵ H. KLING, *Dissertation*, Basel, 1960.
- ¹⁶ H. V. HALBAN UND K. WIELAND, *Helv. Chim. Acta*, 27 (1944) 1032.
- ¹⁷ M. BRENNER, A. NIEDERWIESER, G. PATAKI UND R. WEBER, in E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1962.
- ¹⁸ G. PATAKI, unveröffentlicht.