

Zur Berechnung optimaler Trennungsbedingungen für zwei Stoffe mit bekannten R_F -Werten bei mehrfach wiederholter Papierchromatographie

Bei der papierchromatographischen (bzw. Dünnschicht-) Trennung von zwei Stoffen mit wenig unterschiedlichen R_F -Werten ist es häufig von Vorteil, ein Lösungsmittel-System, in dem beide Stoffe relativ kleine R_F -Werte besitzen, anzuwenden, und das Lösungsmittelgemisch mehrere Male über die Substanzen auf- oder absteigen zu lassen¹: auf diese Weise steigt die Zahl der Verteilungsvorgänge.

Für die Ermittlung günstiger Trennungsbedingungen haben LENK² ein Diagramm und THOMA³ Tabellen angegeben. Die Zahl der "Läufe", die zu einer optimalen Trennung führt, lässt sich jedoch einfacher allgemein berechnen, wenn man die R_F -Werte beider Stoffe kennt. Ein Stoff A mit dem R_F -Wert a hat nach n Läufen die relative Strecke:

$$S_a = 1 - (1 - a)^n \quad (1)$$

zurückgelegt. Soll der Stoff A vom Stoff B mit dem R_F -Wert b getrennt werden, so sind beide nach n Läufen um:

$$D = S_a - S_b = (1 - b)^n - (1 - a)^n$$

auseinandergewandert. Bei $dD/dn = 0$ erreicht D ein Maximum; n ist hier optimal. Die Differentiation der Funktion:

$$D = (1 - b)^n - (1 - a)^n = e^{n \cdot \log(1 - b)} - e^{n \cdot \log(1 - a)}$$

ergibt:

$$\frac{dD}{dn} = e^{n \cdot \log(1 - b)} \cdot \log(1 - b) - e^{n \cdot \log(1 - a)} \cdot \log(1 - a)$$

$$n_{\text{opt.}} = \frac{\log \frac{\log(1 - a)}{\log(1 - b)}}{\log \frac{(1 - b)}{(1 - a)}} \quad (2)$$

Als Beispiel sei nachstehend die Trennung der Zucker D-Glucose und D-Galactose angeführt. Beide Zucker wurden nebeneinander streifenförmig aufgetragen und nach zwölfstündigem Äquilibrieren im Chromatographiegefäß mit *n*-Butylacetat-Essigsäure-*n*-Butanol-Methanol-Wasser (3:2:2:1:1)⁴ absteigend chromatographiert. Nach jedem Lauf wurde ein Streifen des Chromatogramms abgeschnitten und mit AgNO_3 -NaOH⁵ entwickelt. Fig. 1 zeigt einen Vergleich der experimentell ermittelten und der nach Gl. (1) berechneten Laufstrecken.

Die relativ geringen Abweichungen der experimentell ermittelten Laufstrecken von den berechneten sind durch Temperaturschwankungen und zunehmende chemische und mechanische Beanspruchung des Chromatographiepapiers bedingt. Sie machen sich bei der Bildung der Differenz naturgemäss stärker bemerkbar. Die berechnete Funktion der Laufstreckendifferenzen besitzt nach Gl. (2) bei 8 Läufen

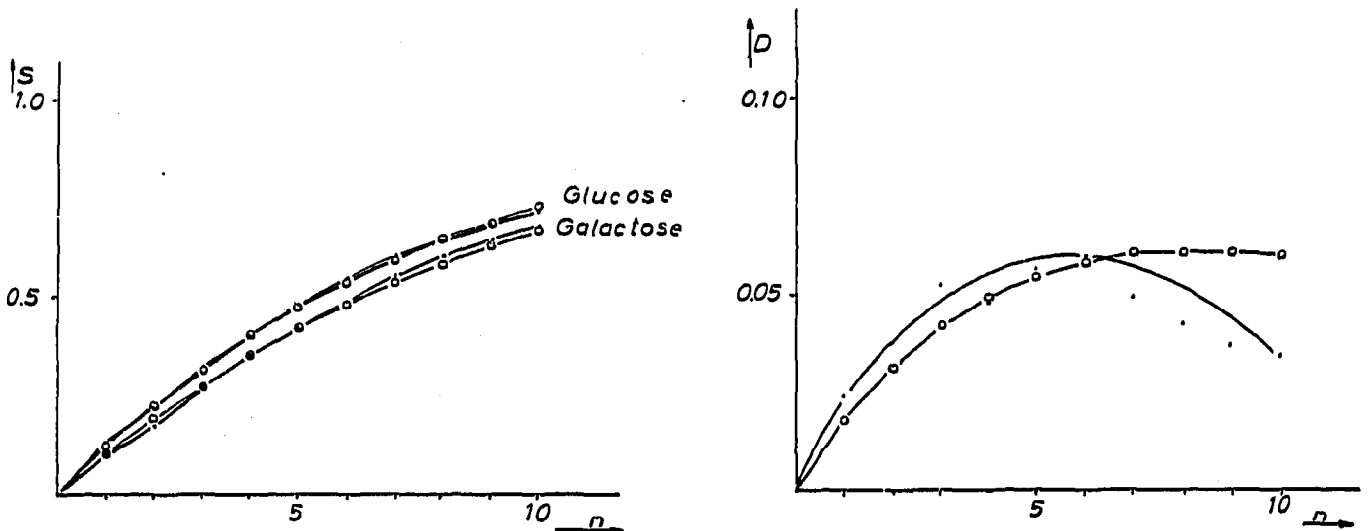


Fig. 1. Vergleich der berechneten und der gefundenen Wanderungstrecken für die papierchromatographische Trennung von Glucose und Galactose. Abszisse: Zahl der chromatographischen Läufe des Lösungsmittels (n); Ordinate: relative Wanderungstrecken (S). —○—○— berechnete, —·—·— gefundene Werte.

Fig. 2. Vergleich der berechneten und der gefundenen Differenzen der Wanderungstrecken von Glucose und Galactose. Abszisse: Zahl der chromatographischen Läufe des Lösungsmittels (n); Ordinate: Differenzen der Wanderungstrecken (D). —○—○— berechnete, —·—·— gefundene Werte.

ein sehr flaches Maximum, der experimentell bestimmte Wert liegt mit 6 Läufen etwas darunter (Fig. 2). Trotzdem dürfte die Gl. (2) ein nützliches Hilfsmittel sein, um die optimalen Trennungsbedingungen abzuschätzen.

Physiologisches Chemisches Institut der Universität
Würzburg* (Deutschland)

R. RÜDIGER
H. RÜDIGER

- 1 Vgl. F. TURBA, *Chromatographische Methoden in der Proteinchemie*, Springer-Verlag, Heidelberg, 1954, S. 175.
- 2 H. P. LENK, *Z. Anal. Chem.*, 184 (1961) 107.
- 3 J. A. THOMA, *J. Chromatog.*, 12 (1963) 441.
- 4 H. MASAMUNE UND M. MAKI, *Tohoku J. Exptl. Med.*, 55 (1952) 299.
- 5 E. PASCU, T. P. MORA UND P. W. KENT, *Science*, 110 (1949) 446.

Eingegangen den 15. Mai 1964

* Direktor: Prof. Dr. F. TURBA.