

TABLE I
IMPURITY CONCENTRATION IN HELIUM (v.p.m.)

	H ₂	N ₂	O ₂	A	CO ₂	Ne
Purified	< 0.5	0.3	0.1	0.1	< 0.1	4
Specpure	0.8	0.3	0.1	< 0.1	0.2	0.5

based upon this effect will cover a very limited range. Experiments are being carried out in which it is hoped to develop methods for each of the gases capable of giving negative peaks.

We would like to acknowledge the cooperation of Mr. J. A. J. WALKER (U.K.A. E.A. Culcheth), who was able to confirm that negative peaks could be obtained using his gas chromatograph and our purifier.

*Chemical Inspectorate, Headquarters Building, Royal Arsenal,
Woolwich, London S.E. 18 (Great Britain)*

R. T. PARKINSON
R. E. WILSON

- 1 R. LANDOWNE AND S. LIPSKY, *Nature*, 198 (1961) 571.
2 J. F. ELLIS AND C. W. FORREST, *Anal. Chim. Acta*, 24 (1961) 329.
3 R. BERRY, *Intern. Conf. Gas Chromatog., 2nd, Hamburg, 1962.*

Received March 30th, 1966

J. Chromatog., 24 (1966) 412-414

Säulenchromatographie von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen an lipophilem Sephadex LH-20*

Hydrophobisierte Adsorbentien eignen sich gut zur Trennung polycyclischer Aromaten (1-4). Vor Kurzem hatten wir auf anderem Weg festgestellt, dass Sephadex (G-10 und LH-20) ein starkes Adsorptionsvermögen für Kohlenwasserstoffe höherer Ringzahlen besitzt⁵. Es war daher interessant zu prüfen, in welchem Mass sich die Adsorption bei der Säulenchromatographie bemerkbar macht. Zu diesem Zweck wurden an einer Säule von in Isopropanol gequollenem Sephadex ein Gemisch mehrerer Kohlenwasserstoffe chromatographiert. Das Ergebnis (Fig. 1) war eine mit steigendem Molekulargewicht abnehmende Eluierbarkeit und stand somit im Gegensatz zur normalen Sephadex-Chromatographie. Wie der Fig. 1 zu entnehmen ist, lassen sich sehr gute Trennungen durchführen, z.B. von 1,2-Benzofluoren-Chrysen, Chrysen-Benzpyrene etc. Ja selbst die isomeren 1,2- und 3,4-Benzpyrene sind hinreichend gut trennbar. Die Reproduzierbarkeit der Versuche ist ausgezeichnet.

* Vgl. Firmenschrift: *Sephadex LH-20 zur Gelfiltration in organischen Lösungsmitteln*, Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden.

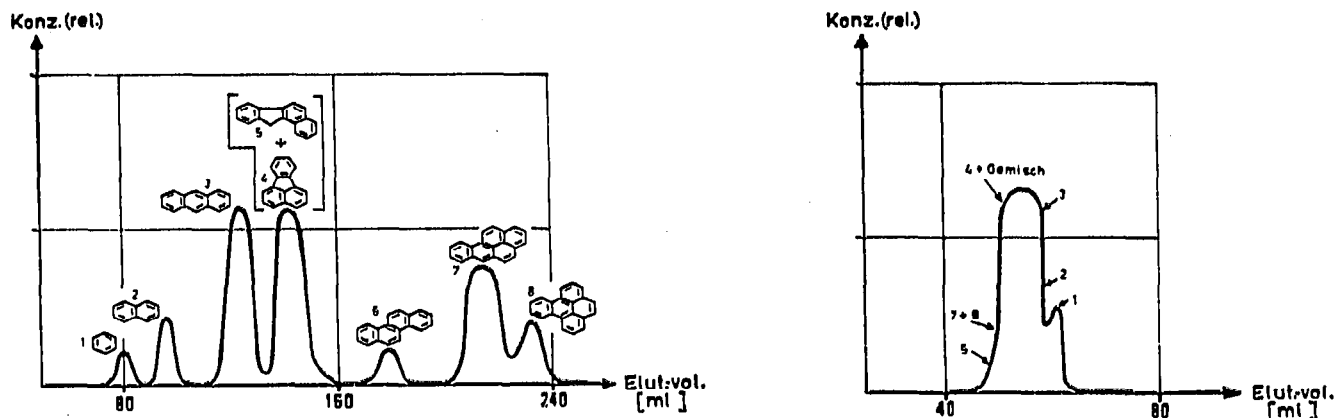


Fig. 1. Trennung eines Kohlenwasserstoff-Gemisches an einer Sephadex-LH-20-Säule in Propanol-2. Säule: 1.1 × 112.0 cm (28 g Sephadex LH-20); 96 ml. Probelösung: 0.25 ml (Konz.: gesättigte Lösungen der Benzpyrene). Elutionsgeschwindigkeit: 2.5 ml/h.

Fig. 2. Trennung des gleichen Gemisches (Fig. 1) in Chloroform. Säule: 1.1 × 117.5 cm (28 g Sephadex LH-20); 102 ml. Probevolumen: 0.2 ml (Konz.: 0.4 mg Kohlenwasserstoff/ml). Elutionsgeschwindigkeit: 6.4 ml/h (vgl. Text).

Bei der Säulenchromatographie des gleichen Kohlenwasserstoff-Gemisches in Chloroform konnte selbst bei der kleinstmöglichen Eluiergeschwindigkeit (6.4 ml/h) keinerlei Trennung der Komponenten erzielt werden. Jedoch zeigte sich bei einem Fraktionsvolumen von 1.1 ml absorptionsspektroskopisch deutlich, dass in den ersten Fraktionen Benzofluoren und die Benzpyrene eluiert wurden. Dagegen waren die Aromaten mit kleinerem Molekulargewicht in der Reihenfolge Fluoranthren, Anthracen, Naphthalin und Benzol in den letzten Fraktionen des gemeinsamen Peaks zu finden (Fig. 2).

In dem stärker hydrophoben Chloroform findet also eine normale Molekularsiebtrennung statt. Man muss annehmen, dass auch in diesem Lösungsmittel die Adsorptionskräfte des Sephadex wirksam werden, jedoch nicht unterstützt von Sol-

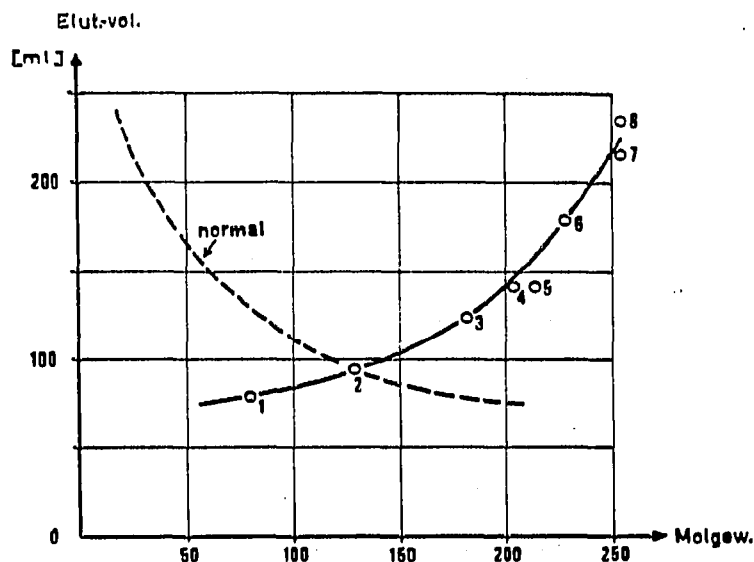


Fig. 3. Inverse Abhängigkeit des Molekulargewichts vom Elutionsvolumen bei Anwendung von Sephadex LH-20 in Propanol-2 (vgl. Fig. 1).

vatationskräften des Lösungsmittels. Wegen der geringeren Löslichkeit der Kohlenwasserstoffe in Isopropanol ist anzunehmen, dass die Solvatationskräfte in diesem Lösungsmittel geringer sind als in Chloroform. So kommt zwischen den Sephadex-Strukturen und den polycyclischen Kohlenwasserstoffen eine hydrophobe Wechselwirkung zustande, ganz ähnlich wie sie bei aromatischen Kohlenwasserstoffen und Desoxycholsäure^{6,7}, Detergentien^{7,8} und Proteinen⁹⁻¹² gefunden wurde. Die Fig. 3 zeigt die hieraus resultierende inverse Abhängigkeit des Elutionsvolumens vom Molekulargewicht der Komponenten.

Experimentelles

Sephadex LH-20 wurde nach dreistündigem Quellen in Propanol-2 bzw. Chloroform p.a. (Merck) in dünner Suspension auf einmal in die senkrecht eingespannte Säule eingegossen und die Säule bei geöffnetem Auslauf gepackt. Als Auslauffilter diente ein abgeflammter Bausch Glaswatte. Da das Gel in Chloroform schwimmt, muss unter hoher Strömungsgeschwindigkeit gepackt werden. Setzt man jedoch der Chloroformsuspension 20 Vol.-% Cyclohexan zu, dann lässt sich die Säule auch in normaler Weise füllen. Das Gel schrumpft dabei nur geringfügig; seine Trenneigenschaften sind nach Auswaschen des Cyclohexans unverändert.

Bei der in Chloroform gepackten Säule ist es notwendig, das Gelbett in seiner Lage zu fixieren. Dazu wurde die Geloberfläche mit einer Glasfrittenscheibe abgedeckt, die in einer seitlichen Einkerbung mit einem Teflonband als Dichtungsring versehen war und sich so im Rohr verschieben liess.

Während des Trennungsvorgangs wurde die Säule sorgfältig vor Lichteinfall geschützt, weil die Komponenten stark zur Photooxydation neigen. Die Niveaudifferenz betrug bei Propanol-2 75 cm, bei Chloroform 50 cm. Die Registrierung erfolgte durch Absorption bei 254 nm (Uvicord LKB).

Institut für Organische Chemie
der Universität Frankfurt am Main
(Deutschland)

M. WILK*
J. ROCHLITZ*
H. BENDE**

- 1 TH. WIELAND UND W. KRACHT, *Angew. Chem.*, 69 (1957) 172.
- 2 TH. WIELAND, G. LÜBEN UND H. DETERMANN, *Experientia*, 18, (1962) 430.
- 3 E. NYSTRÖM, *J. Chromatog.*, 17 (1965) 574.
- 4 A. BERG UND J. LAM, *J. Chromatog.*, 16 (1964) 157.
- 5 M. WILK UND J. ROCHLITZ, eingereicht bei *Z. Naturforsch.*, (1966).
- 6 P. EKWALL, K. SETÄLÄ UND L. SJÖBLUM, *Acta Chem. Scand.*, 5 (1951) 175.
- 7 P. EKWALL, *Acta Unio Intern. Contra Cancrum*, 10 (1954) 44.
- 8 M. L. BONACCI, D. GUERITORE UND L. BELLINI, *Giorn. Biochim.*, 13 (1964) 231.
- 9 P. DAUDEL, *Compt. Rend.*, 258 (1964) 5775.
- 10 C. HEIDELBERGER, *J. Cellular Comp. Physiol.*, 64 Pt. II, Suppl. 1 (1964) 129.
- 11 G. RESKE UND J. STAUFF, *Z. Naturforsch.*, 15 b (1960) 578.
- 12 M. WILK, *Biochem. Z.*, 333 (1960) 166.

Eingegangen den 30. März 1966

* Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt am Main, Robert-Mayer-Str. 7-9, Frankfurt am Main.

** Deutsche Pharmacia G.m.b.H., Inckusstrasse 11, Frankfurt am Main.