

DOKUMENTATION UND KONSERVIERUNG VON DÜNNSCHICHT- CHROMATOGRAMMEN

TH. ABEND UND O. A. STAMM

Technisch-chemisches Laboratorium, Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich (Schweiz)

(Eingegangen den 24. Juni 1966)

EINLEITUNG

Die Dünnschichtchromatographie, die sich in den letzten Jahren gewaltig entwickelt hat, weist gegenüber der Papierchromatographie gewisse Vorteile auf. Da sich die verschiedensten Sorptionsmittel verwenden lassen, können im Prinzip mit einer einzigen Technik sämtliche fest-flüssig Chromatographieverfahren in den Mikromasstab übertragen werden. Dadurch wird in einfacher Weise die Trennung von hydrophilen *und* lipophilen Verbindungen möglich. Trotz wesentlich kürzeren Laufzeiten ist dabei die Trennschärfe im allgemeinen besser. Besonders bei Verwendung sehr feinkörniger, dünner Sorbensschichten ist, verglichen mit Filtrierpapier, die Nachweisempfindlichkeit für die getrennten Verbindungen grösser, und anorganische Sorbensschichten erlauben zur Sichtbarmachung der Substanzen den Einsatz aggressiver Sprühreagenzien. Als Nachteil der Dünnschichtchromatographie ist die relativ teure Ausrüstung zu nennen. Vor allem aber ist das entwickelte Dünnschichtchromatogramm als solches noch kein archivierbares Dokument. Es ist erstaunlich, dass das wichtige Problem der Dokumentation bzw. der Konservierung von Dünnschichtchromatogrammen in der Literatur so wenig Beachtung gefunden hat. Im folgenden seien deshalb die bis jetzt beschriebenen Verfahren zusammengestellt und kurz deren Vor- und Nachteile beleuchtet. Besonders wird auf die Konservierung der Sorbensschicht durch filmbildende Polymere eingegangen und dabei auf eine Verbesserung und Ergänzung bestehender Verfahren hingewiesen.

INDIREKTE VERFAHREN DER DOKUMENTATION

Schriftliches Festhalten der Resultate^{1,2}

Angabe von R_F - bzw. R_X -Werten und Farbe, verbunden mit halbquantitativer Charakterisierung genügt in vielen Fällen, etwa bei der chromatographischen Verfolgung eines Reaktionsverlaufes. Diese Methode hat jedoch keinerlei Dokumentationscharakter.

Graphisches Kopieren auf Papier oder Transparentfolie³⁻⁷

Diese Methode hat, wie das schriftliche Festhalten, den Vorteil, dass sie einfach und billig ist. Darüber hinaus gibt sie aber ein visuelles Bild der Trennung. Nachteilig ist jedoch, dass Farbe und Intensitätsunterschiede verloren gehen und das Kopieren selbst etwas mühsam ist.

Intensitätsverteilungen lassen sich durch densitometrische Auswertung von Chromatogrammen erhalten, doch ist es dazu für Verfahren, die nach dem Durchstrahlungsprinzip arbeiten, notwendig, die Trägerschicht zuerst transparent zu machen. Man erhält so eine graphische Aufzeichnung der Substanzkonzentrationen und damit die Möglichkeit der quantitativen Auswertung. Das gleiche gilt auch für die Bestimmung der Aktivitätsverteilung mittels entsprechender Nachweisgeräte bei Radiochromatogrammen⁸⁻¹².

*Photographieren der Chromatogramme*¹³⁻¹⁹

Dieses Verfahren ist objektiver als die vorgenannten und hält Intensitätsunterschiede fest. Zudem lassen sich von einem Negativ beliebig viele Kopien anfertigen. Der Nachteil der fehlenden Farbe bei schwarz-weiß Aufnahmen fällt bei der, allerdings bedeutend teureren, Farbphotographie weg. In beiden Fällen erfordert das Entwickeln und Kopieren einen gewissen Aufwand an Apparaturen und Zeit. Beim Polaroid-Verfahren^{20,21} ist Umständlichkeit und Zeitaufwand in eleganter Weise auf ein Minimum reduziert; allerdings liefert es im Gegensatz zu den konventionellen Negativ-Positiv-Verfahren nur Unikate. Gemeinsam ist allen photographischen Verfahren, dass sich brauchbare Reproduktionen nur von kontrastreichen Chromatogrammen herstellen lassen; bei farbphotographischen Aufnahmen müssen zudem die Farbunterschiede zwischen Untergrund und Substanzfleck deutlich sein.

Die photographischen Verfahren bewähren sich vor allem bei der Dokumentation von Substanzen, die im ultravioletten Licht fluoreszieren oder Absorption auf fluoreszierendem Grund zeigen^{17,20,22}, sowie beim Substanznachweis mit nicht beständigen Farbreaktionen. Als Routinemethoden im normalen Labor wird sich die photographische Aufnahme der Dünnschichtchromatogramme aber nicht durchsetzen können, da, besonders für die Farbphotographie, Aufwand und Preis zu hoch sind.

Die Autoradiographie als Spezialfall der photographischen Methoden wird meist als Nachweismethode eingesetzt, liefert dabei jedoch gleichzeitig ein haltbares Dokument²³⁻²⁶.

*Photokopie- und Lichtpausverfahren*²⁷⁻³⁴

Diese Verfahren arbeiten rasch und sind relativ einfach in der Durchführung. Sie benötigen aber auch kontrastreiche Chromatogramme, geben nur schwarz-weiß Reproduktionen und sind immer noch verhältnismässig teuer. Für Lichtpausverfahren muss zudem die Sorbensschicht im allgemeinen vorerst transparent gemacht und etwas verfestigt werden³².

Xerographie^{30,35-37}

Mit Hilfe der Xerographie lassen sich sehr rasch und mit geringem Arbeitsaufwand schwarz-weiß Reproduktionen von Chromatogrammen erhalten. Die Methode ist jedoch relativ teuer, die Kopierapparatur zudem nicht allgemein zugänglich, und wie bei Photokopie- und Lichtpausverfahren können keine Halbtöne wiedergegeben werden.

DIREKTE METHODEN ZUR DOKUMENTATION

Alle die bisher betrachteten indirekten Methoden sind auch bei Papierchromatogrammen möglich, dort aber nur notwendig, wenn die Methoden für die Sichtbar-

machung der getrennten Verbindungen zur Zerstörung des Papiers führen oder unstabile Färbungen ergeben. In allen anderen Fällen ist jedoch das Papierchromatogramm als solches ein dauerhafter Beleg für den betreffenden Versuch. Anders bei der Dünnschichtchromatographie. Hier muss, soll das Chromatogramm selbst als Dokument verwendet werden können, die auf die Glasplatte gebrachte Sorbensschicht in irgend einer Weise stabilisiert werden, so dass sie mit der Platte zusammen, oder besser, von der Platte gelöst, aufbewahrt werden kann. Für eine solche Konservierung wurden bereits verschiedene Verfahren vorgeschlagen.

Verfestigung oder Kaschierung der Sorbensschicht zur Aufbewahrung des Chromatogramms mit der Trägerplatte

Imprägnierung der Sorbensschicht mit Paraffin oder Kollodium liefert unbefriedigende Resultate^{39, 38-41}. Die Kaschierung mit einer Kontaktfolie in einer Presse ist teuer⁴². Ganz allgemein kommen diese Verfahren nur dann in Frage, wenn als Trägerplatten sehr billiges, leichtes und wenig Platz beanspruchendes Material verwendet wird. Mit Glasplatten ist diese Methode ungeeignet. Gut dokumentierbar sind Trennungen an Kieselgelschichten auf Kunststoff-Material als Träger⁴³. Neuerdings befinden sich solche vorbeschichtete Kunststoff-Folien im Handel^{44, *}. Da die Schicht im einen Fall ein wasserlösliches Bindemittel enthält, ist die Verwendung der entsprechenden Folien auf Trennungen mit Fließmittelsystemen beschränkt, welche diesen Binder nicht herauslösen. Ganz allgemein ist bei dieser Methode eine Sichtbarmachung der getrennten Substanzen mit Universalreagenzien, die auf der Verkohlung der Verbindungen beruht, nicht möglich. Schliesslich sind auch glasfaserverstärkte Kieselgelschichten auf dem Markt^{**}, bei denen diese letztere Einschränkung natürlich wegfällt. Die Preise für alle diese Folien bzw. für die Glasfaserschichten sind leider sehr hoch.

Konservierung der Sorbensschicht

Kontaktfolien. Nach Aufpressen einer Kontaktfolie lässt sich bei vorsichtigem Arbeiten die oberste Schicht des Chromatogramms von der Trägerplatte abziehen^{45, 46}. Man erhält so aber ein mechanisch empfindliches Dokument und die sehr dünne an der Folie haftende Sorbensschicht lässt nur Substanzen erkennen, die in grossen Konzentrationen vorliegen.

Aufgiessen einer Polymerlösung^{47, 48}. Bei sehr sorgfältiger Ausführung können auf diese Weise brauchbare Resultate erzielt werden. Eigene Versuche zeigten aber, dass meist zahlreiche Luftblasen im Polymerfilm eingeschlossen werden, was das einheitliche Bild des Chromatogramms stört.

Aufsprühen einer Polymerlösung bzw. Polymerdispersion^{24, 40-52}. Nur niederviskose Polymerlösungen vermögen die Sorbensschicht vollständig zu durchdringen. Man erhält so nach den bisherigen Verfahren jedoch keine stabilen Filme und meist ist eine mehrfache Applikation notwendig, um eine Schicht zu bekommen, die überhaupt von der Platte abgezogen werden kann. Bei höheren Polymerkonzentrationen bietet das Versprühen Schwierigkeiten. Die Verschmutzung des Arbeits-

* Eastman-Chromagram-Sheet der Eastman Kodak Company, Distillation Products Industries, Rochester, N.Y., U.S.A., bzw. MN-Polygram Folien der Macherey, Nagel & Co., Düren, Westdeutschland.

** Gelman DC-Schichten der Firma Gelman Instrument Co., Ann Arbor, Mich., U.S.A.

platzes oder der Spritzkapelle ist unangenehm. Das Gleiche gilt auch für Polymerdispersionen.

*Eintauchen der beschichteten Platte in die Lösung eines Polymeren*⁵⁰. Zur Vermeidung der Luftblasenbildung ist es wichtig, dass die Platte langsam in die Lösung eingetaucht wird. Nach guter Durchnetzung der Schicht nimmt man die Platte aus der Polymerlösung heraus und trocknet in horizontaler Lage. Sobald sich das Lösungsmittel verflüchtigt hat, lässt sich die in das Polymere eingebettete Schicht von der Platte abziehen.

Diskussion und eigene Resultate

Die direkten Methoden zur Dokumentation haben gegenüber den indirekten den grossen Vorteil, dass mit einfachen Mitteln das Chromatogramm im Originalzustand konserviert wird; es kommen also Intensitätsunterschiede und Farbeffekte voll zur Geltung. Natürlich müssen an ein brauchbares Verfahren gewisse Anforderungen gestellt werden. Dazu gehören insbesondere, dass die Sorbensschicht selbst, ohne Trägerplatte, konserviert werden kann und zwar als mechanisch stabiler, leicht ablösbarer Film. Dazu muss die ganze Sorbensschicht vom filmbildenden Material gleichmässig durchdrungen werden. Weder Fleckenfarbe noch Fluoreszenzeigenschaften der betreffenden Verbindungen dürfen verändert werden und Fleckengrösse und -scharfe müssen erhalten bleiben. Das Verfahren soll einfach und sauber in der Durchführung und möglichst universell in der Anwendung sein.

Von den direkten Methoden zur Konservierung von Dünnschichtchromatogrammen haben vor allem das Sprüh- und das Tauchverfahren eine grössere Verbreitung gefunden. Das Tauchverfahren hat gegenüber dem Sprühverfahren den Vorteil der Einfachheit. Man benötigt weder spezielle Spritzgeräte bzw. Aerosoldosen, noch geeignete Spritzkapellen. Das Tauchgefäss ist zugleich das Aufbewahrungsgefäss für das Konservierungsmittel. Beim Sprühverfahren dagegen ist bei Verwendung organischer Polymerlösungen bzw. -dispersionen eine sofortige Reinigung der Sprühvorrichtung nach Gebrauch unerlässlich; zudem ist die Verunreinigung der Kapellen mit der organischen Polymerlösung höchst unangenehm.

Bei den bisher bekannt gewordenen Verfahren, welche organische Lösungsmittel verwenden, um eine Polymerlösung herzustellen^{49, 50}, hat man zwangsläufig die Schwierigkeit, dass lipophile Verbindungen beim Konservierungsvorgang dazu neigen, sich in der betreffenden organischen Phase zu lösen. Dadurch erhält man unscharfe, verschmierte Flecken, wodurch die für eine quantitative Auswertung u.U. wichtige Fleckengrösse verändert wird; getrennte Zonen laufen ineinander und eine potentielle Trennung wird durch das Konservierungsverfahren verschleiert. Da die Dünnschichtchromatographie gerade auf dem Gebiet der lipophilen Substanzen die Papierchromatographie weitgehend verdrängt hat, scheint uns dieser Nachteil organischer Lösungsmittel in Konservierungsmittelkombinationen ausserordentlich schwerwiegend. Zwar lässt sich das Verlaufen der Flecken zum Teil umgehen, aber nur, indem das bei den bisherigen Rezepturen unangenehmere Sprühverfahren anstelle des Tauchverfahrens eingesetzt wird.

Wir haben deshalb versucht, ob es nicht gelingt, die organischen Polymerlösungen durch wässrige zu ersetzen. Im Polyvinylalkohol bot sich ein Polymeres an, das genügend wasserlöslich ist, geeignete Viskositäten der Lösungen zulässt und ausgezeichnete Filme liefert. Wir verwendeten ein vollständig verseiftes niedermole-

kulares Produkt, weil höhermolekulare Derivate sehr spröde Filme gaben und infolge zunehmender Viskosität schlecht applizierbar waren. Da diese wässrige Polymerlösung sich nicht nur für das Tauchverfahren, sondern bei saugkräftigen Schichten ebensogut für das Spritzverfahren eignet, ist damit ein weitgehend universell anwendbares Konservierungsmittel — ausgenommen sind grobkörnige oder hydrophobe Sorptionsmittel — gefunden. Kritisch für diese allgemeine Verwendbarkeit scheint der beigemischte Weichmacher zu sein. Von zahlreichen untersuchten Produkten bewährte sich Tris-tetrahydrofurfuryl-phosphat* bei weitem am besten. Ein sehr grosser Vorteil gegenüber den bisher im Handel befindlichen Produkten besteht darin, dass die mit der Polymerlösung verunreinigten Gefässe und Platten spielend leicht mit Wasser gereinigt werden können.

Mit den bisher bekannten Polymerlösungen bzw. -dispersionen gelang es nicht, durch blosses Besprühen mechanisch stabile, ohne weiteres von der Platte ablösbare Filme zu erhalten. Für die so konservierten Schichten ist eine Stabilisierung mittels Klarsichtfolie unumgänglich. Beim Tauchverfahren wurde der glasnahe Teil der Schicht vom Konservierungsmittel ungenügend benetzt, was dazu führt, dass bei den getauchten Platten die unterste Lage der abgezogenen Schicht leicht abblättert. Da die Polyvinylalkohollösungen für die meisten gebräuchlichen Sorptionsmittel ein sehr hohes Durchdringungsvermögen zeigen und sie, mit Ausnahme der erwähnten grobkörnigen oder hydrophoben Produkte, vollständig benetzen, erhalten wir damit gleichmässige, flexible und mechanisch genügend stabile Filme. Sie können nach kurzem Trocknen und Abtrennung der Randzonen leicht von der Glasplatte abgezogen werden und bedürfen keiner weiteren Stabilisierung. Da das Polymere im Wasser gelöst ist, begünstigt eine hohe Saugfähigkeit und Hydrophilie von Sorptionsmitteln die gute Durchnetzung mit dem Konservierungsmittel. Daher gelingt es beispielsweise bei Schichten auf Zellulosebasis extrem dünne und doch stabile Filme herzustellen**.

Bei der Konservierung von Kieselgelschichten nach der Sprühtechnik findet man gelegentlich, dass die Filme sich schlecht ablösen lassen oder brüchig sind. Dieser Effekt ist darauf zurückzuführen, dass beim Besprühen infolge Esterbildung zwischen dem Kieselgel und dem Alkohol des Sprühlacks eine hohe Reaktionswärme frei wird, was sofort zur Koagulation der aufgetragenen Polymerlösung führt. Auf der anderen Seite wird dem Sprühlack durch das aktive Kieselgel Wasser entzogen, wodurch die Viskosität der Polymerlösung ansteigt. Beide Effekte wirken in derselben Richtung: sie erschweren ein gutes Durchdringen der Schicht mit der Sprühlösung. Durch Absättigung der aktiven Zentren des Kieselgels vor der eigentlichen Konservierung, beispielsweise durch kurzes Besprühen mit einer Methanol-Wasser-Lösung (1:1), erhält man jedoch auch hier gute Resultate. Einfacher ist es aber, in diesen Fällen anstelle des Sprühverfahrens nur das universell anwendbare Tauchverfahren einzusetzen. Auch hier empfiehlt sich bei Kieselgel und Aluminiumoxid vor der Konservierung die Schicht mit Methanol-Wasser abzusättigen; dadurch wird ihre rasche Benetzung beim Tauchen gewährleistet. Mit dieser Technik erhält man mit allen heute gebräuchlichen Sorbensschichten gut ablösbare Filme.

* Im Handel unter dem Namen Kroniflex THFP der FMC Corporation, New York.

** Eine speziell für Zelluloseschichten geeignete Konservierungslösung wird unter dem Namen "Docufilm" als Sprüh- bzw. als Tauchlack von der Firma Macherey, Nagel & Co., Düren, Westdeutschland, in den Handel gebracht.

Beim Tauchverfahren besteht die Gefahr des Ausblutens wasserlöslicher Verbindungen. Diese Erscheinung kann durch sorgfältiges horizontales Eintauchen der Platten in die Lösung des Konservierungsmittels vermieden werden. Da aber wasserlösliche Verbindungen meist an Zellosoeschichten getrennt und diese ausgezeichnet durch Aufsprühen des Polymeren konserviert werden können, lassen sich Dünnschichtchromatogramme auch von wasserlöslichen Verbindungen ohne Verlaufen der getrennten Zonen als Film stabilisieren.

Die gute Durchnetzung der Schichten mit dem Konservierungsmittel führt zu hoher Transparenz der Dünnschichtfilme, so dass ohne weitere Behandlung in vielen Fällen eine densitometrische Auswertung direkt auf dem konservierten Chromatogramm möglich wird. Farbe oder Farbintensität der getrennten Substanzen werden nicht verändert und, im Gegensatz zu den im Handel befindlichen Produkten, löscht das hier beschriebene Konservierungsmittel die Eigenfluoreszenz der Verbindungen im gesamten U.V.-Bereich nicht.

Bei der Verwendung von stark sauren, stark basischen bzw. stark oxydierenden Reagenzien zur Sichtbarmachung der getrennten Verbindungen können sowohl mit den bekannten Konservierungsmitteln als auch mit Polyvinylalkohollösungen Schwierigkeiten auftreten. Ganz besonders empfindlich auf pH-Effekte sind Konservierungsmittel auf Dispersionsbasis^{24, 51, 52}, da durch die pH-abhängige Koagulation der Dispersion ein Eindringen in die Sorbensschicht und damit Filmbildung verhindert wird. Die Verwendung stark alkalischer Reagenzien (z.B. alkalische Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung^{54, 55}) führt bei allen untersuchten Konservierungsmitteln zu einem stark erschwerten Ablösen der Schichten, wobei mit Polyvinylalkohol immer noch die besten Resultate erzielt werden. In allen Fällen führt die Konservierung von Platten, die mit Chromschwefelsäure⁵⁷ besprüht worden sind, zu einem Vergrünen der ganzen Schicht, so dass die getrennten Verbindungen vorher markiert werden müssen. Falls man für die Substanzlokalisierung konzentrierte Schwefelsäure verwendet, sollte anstelle des Sprühverfahrens das Tauchverfahren eingesetzt werden, weil die Stabilität der Filme sonst nicht ausreichend ist. Beim Nachweis von Aminosäuren mit gewöhnlicher Ninhydrin-Lösung sind die Fleckenfarben bekanntlich nicht stabil⁵⁸. Es wird daher die Anwendung eines modifizierten Ninhydrin-Reagens, das einen Zusatz von Kupferniträt enthält, empfohlen⁵⁹, bzw. eine nachträgliche Behandlung mit einer Kupferniträt-Lösung⁶⁰, um die Färbungen haltbar zu machen. Auch bei der Konservierung mit Polyvinylalkohol muss das modifizierte Ninhydrinreagens verwendet werden, da sich sonst der Untergrund — besonders beim Tauchverfahren — nach einiger Zeit stark verfärbt und die Flecken dadurch ihre ursprüngliche Farbe verlieren und schwer sichtbar werden. Eine vorherige Markierung der Flecken empfiehlt sich in jedem Fall. Durch das Konservierungsmittel kann aber auch eine unbeständige Färbung stabilisiert werden. So bleibt die Farbe des Eisenhydroxamsäurekomplexes bei der entsprechenden Nachweisreaktion für Ester und Lactone⁶³, die normalerweise innerhalb einiger Stunden wieder verschwindet, nach Konservierung mit Polyvinylalkohol bestehen.

Zur Archivierung kann man die Polyvinylalkoholfilme mit einem Kugelschreiber oder mit der Schreibmaschine beschriften. Zudem lassen sie sich nach *leichtem* Befeuchten der Unterlage dauerhaft auf Papier aufkleben.

Eines der Hauptprobleme der Dünnschichtchromatographie, für das es bis jetzt noch keine zufriedenstellende Lösung gab, war eine dauerhafte, billige Dokumen-

tationsmöglichkeit. Wir glauben, dass durch die beschriebene, neue, ausserordentlich einfache, saubere und fast universell anwendbare Konservierungsmethode eine optimale Lösung gefunden worden ist.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeines

Die Glasplatten wurden mit folgenden Sorbentien beschichtet (Schichtdicke 200 μ):

Kieselgel H. Merck*, Kieselgur G Merck, Aluminiumoxyd Fluka**, Zellulosepulver MN 300 bzw. GF***, Zellulosepulver MN 400, Zellulosepulver MN 300 P bzw. GP, Zellulosepulver MN 300 DEAE, Zellulosepulver MN 300 ECTEOLA, Zellulosepulver MN 300 Poly P, Zellulosepulver MN 300 PEI, Zellulosepulver MN 300 CMC, Zelluloseacetat MN 300 AC bzw. G/AC, MN-Polyamidpulver MN.

TABELLE I

SUBSTANZGEMISCHE

Lipophile Farbstoffe

Buttergelb	C.I. ^a	11 020
Sudanrot G	C.I.	12 150
Indophenol	C.I.	49 700

Hydrophile Farbstoffe

Tartrazin	C.I.	19 140	
Ponceau	C.I.	16 150	
Remazolbrillantblau R			C.I., Ergänzungsband, S. 515
Remazolgoldgelb G			C.I., Ergänzungsband, S. 490
Bromaminsäure			

Reduzierende Zucker

Glukose
Zellobiose
D-Glucuronsäure- γ -lacton

Aromatische Sulfonsäuren

Naphtionsäure
1,6-Clevesäure
Amino-G-Säure

Aminosäuren

Glycin
Arginin
Tryptophan

^a Colour Index, 2. Auflage, Bradford, 1956.

Für die vergleichenden Versuche wurden die in den Tabellen I und II zusammengestellten Fliessmittel und Substanzgemische eingesetzt. Die Substanzlösungen wurden bandenförmig aufgetragen und aufsteigend entwickelt. Die getrennten Zucker wurden auf den anorganischen Schichten mit Anisaldehyd-Schwefelsäure⁵³, Bichromat-Schwefelsäure⁵⁷ oder mit Triphenyltetrazoliumchlorid in alkalischer Lösung^{54, 55},

* E. Merck AG., Darmstadt, Westdeutschland.

** Fluka AG., Buchs, Schweiz.

*** Macherey, Nagel & Co., Düren, Westdeutschland.

TABELLE II

FLIESSMITTEL

Angegeben sind Volumenteile.

<i>Substanzgemisch</i>	<i>Kieselgel H</i>	<i>Kieselgur G</i>	<i>Alox</i>	<i>Zellulose</i>
Lipophile Farbstoffe	Benzol	Hexan	Benzol	—
Hydrophile Farbstoffe	80 <i>n</i> -Butanol 13 Isopropanol 7 Wasser	10 <i>n</i> -Butanol 1 Wasser	2 <i>n</i> -Butanol 1 Äthanol 1 Wasser	4 <i>n</i> -Butanol 3 Äthanol 3 Wasser
Reduzierende Zucker	2 <i>n</i> -Butanol 1 Äthanol 1 Wasser	80 <i>n</i> -Butanol 13 Isopropanol 7 Wasser	2 <i>n</i> -Butanol 1 Wasser	5 <i>n</i> -Butanol 5 Äthanol 3 Wasser
Aromat. Sulfonsäuren	—	10 <i>n</i> -Butanol 1 Wasser	—	4 <i>n</i> -Butanol 3 Äthanol 3 Wasser
Aminosäuren	6 <i>n</i> -Butanol 2 Eisessig 2 Wasser	—	—	6 <i>n</i> -Butanol 2 Eisessig 2 Wasser

auf Zellosoeschichten mit Anilinhydrogenphthalat⁵⁰ nachgewiesen. Die Naphthol-sulfonsäuren wurden auf Grund ihrer Eigenfluoreszenz in langwelligem (350 m μ) und kurzwelligem (254 m μ) U.V.-Licht lokalisiert. Die Aminosäuren wurden mit Ninhydrin-Kupfernitratreagens^{50, 60} nachgewiesen.

Konservierung

Polymerdispersion. Eine als Konservierungsmittel käufliche Polyvinylesterdispersion zur Konservierung von Dünnschichtchromatogrammen (ca. 10 % Feststoffgehalt) wurde nach Angaben der Lieferfirma bis zur guten Durchnetzung der Sorbensschicht aufgesprüht. Anschliessend wurde die verfestigte Schicht gewässert und ohne Verstärkung durch eine Kontaktfolie von der Trägerplatte getrennt. Die konservierten Schichten liessen sich nur bei Zellulose befriedigend ablösen, doch war auch hier die Stabilität der Filme ungenügend.

Polymerlösung in organischem Lösungsmittel. Zur Konservierung nach dem Tauchverfahren wurde eine Weichmacher-haltige, ca. 25 %ige Lösung von Polyvinylchlorid verwendet, die als Konservierungslack für Dünnschichtchromatogramme im Handel ist.

Die Platte mit dem entwickelten Chromatogramm wurde langsam vertikal in die Lösung getaucht, nach vollständiger Durchnetzung der Sorbensschicht herausgezogen und horizontal an der Luft getrocknet. Die Filme wurden bis zur leichten Ablösbarkeit gewässert und ohne Verstärkung durch eine Kontaktfolie abgezogen. Dazu wurde der Film parallel zu den Kanten der Glasplatte eingeschnitten, von einer Ecke her angehoben und durch gleichmässigen Zug von der Platte getrennt. Bei der Konservierung von Kieselgur, Kieselgel und Alox-Schichten splitterten die unteren Teile der konservierten Schicht leicht ab.

Zur Applikation durch Besprühen verdünnte man 2 Volumenteile der Lieferform mit 3 Teilen Butylacetat. Durch Besprühen liessen sich die unteren Teile der

Schichten nicht genügend verfestigen und wurden beim Wässern weggewaschen. Die konservierten Filme mussten mit Kontaktfolie verstärkt werden.

Wässrige Polymerlösung. Für die Konservierung nach dem oben beschriebenen Tauchverfahren verwendeten wir eine 25-gewichtsprozentige, Weichmacher-haltige, wässrige Lösung von Polyvinylalkohol (Viskosität *ca.* 300 cP). Die Viskosität dieser Lösung entsprach etwa derjenigen des käuflichen PVC-Tauchlackes. Je nach Plattenformat erfolgte das Tauchen parallel oder senkrecht zur Laufrichtung (vertikal bzw. horizontal). Falls eine Desaktivierung der Schichten nötig war, wurde mit einem Wasser-Alkohol-Gemisch (1:1) so lange besprüht, bis die Schicht eben angeätzt war. Dann erst wurde das Chromatogramm mit dem Konservierungsmittel behandelt.

Nach dem Trocknen wurden die Filme ohne weitere Nachbehandlung oder Verstärkung von der Platte abgezogen, wobei vorher mit einem Messer rings um die Platte herum eine schmale Randzone weggelöst wurde.

Durch das Verdünnen mit Wasser-Äthanol (1:1) auf das doppelte Volumen erhielt man eine Lösung, die leicht mit einer nicht zu feinen Düse aufgesprüht werden konnte. Mit dieser Sprühlösung liessen sich alle Sorbentien mit Ausnahme von Acetylzellulose und Polyamidpulver so verfestigen, dass man sie ohne Verstärkung von den Glasplatten lösen konnte.

Um diese Filme auf Papier aufzukleben genügte ein leichtes Befeuchten der betreffenden Unterlage.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine Übersicht über die bekannten Dokumentationsmöglichkeiten in der Dünnschichtchromatographie gegeben. Da bisher kein Verfahren wirklich befriedigen konnte, wurde eine neue Methode zur Konservierung von Dünnschichtchromatogrammen entwickelt. Bemerkenswert an dieser Methode ist ihre Einfachheit und ihre relativ universelle Anwendbarkeit.

SUMMARY

A review is given of existing methods for documentation in thin-layer chromatography. Since no method, up to date, proved really satisfactory a new method for the conservation of thin-layer chromatograms was developed. This new method is remarkable for its simplicity and universal application.

LITERATUR

- 1 E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer, Berlin, 1962, S. 43.
- 2 E. V. TRUTER, *Thin Film Chromatography*, Cleaver Hume, London, 1963, S. 50.
- 3 J. S. AMENTA, *J. Chromatog.*, 11 (1963) 263.
- 4 E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer, Berlin, 1962, S. 45.
- 5 H. J. PETROWITZ, *Materialprüfung*, 2 (1960) 309.
- 6 E. STAHL, *Chemiker Ztg.*, 82 (1958) 323.
- 7 H. D. WULFF UND E. STAHL, *Naturwiss.*, 47 (1960) 114.
- 8 J. M. BOBBITT, *Thin Layer Chromatography*, Academic Press, New York, 1963, S. 104.
- 9 F. CRAMER, *Papierchromatographie*, 5. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim, 1962, S. 64, 71.
- 10 K. RANDEKATH, *Dünnschichtchromatographie*, Verlag Chemie, Weinheim, 1962, S. 60, 63.
- 11 P. E. SCHULZE UND M. WENZEL, *Angew. Chem.*, 74 (1962) 777.
- 12 E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer, Berlin, 1962, S. 53, 74.

- 13 J. M. BOBBITT, *Thin Layer Chromatography*, Academic Press, New York, 1963, S. 106.
- 14 K. RANDEKATH, *Dünnschichtchromatographie*, Verlag Chemie, Weinheim, 1962, S. 68.
- 15 E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer, Berlin, 1962, S. 46.
- 16 E. V. TRUTER, *Thin Film Chromatography*, Cleaver Hume, London, 1963, S. 51.
- 17 J. C. BROWN, *J. Soc. Dyers Colourists*, 80 (1964) 185.
- 18 E. DEMOLE, *J. Chromatog.*, 6 (1961) 2.
- 19 J. EGGERS, *Phot. Wiss.*, 10 (1961) 40.
- 20 E. HANSBURY, J. LANGHAM UND D. G. OTT, *J. Chromatog.*, 9 (1962) 393.
- 21 G. URBACH, *J. Chromatog.*, 12 (1963) 196.
- 22 D. ABELSON, *Nature*, 188 (1960) 850.
- 23 F. CRAMER, *Papierchromatographie*, 5. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim, 1962, S. 69.
- 24 T. W. GOODWIN, *Lab. Pract.*, 13 (1964) 297.
- 25 K. RANDEKATH, *Dünnschichtchromatographie*, Verlag Chemie, Weinheim, 1962, S. 63, 146.
- 26 E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer, Berlin, 1962, S. 64.
- 27 M. BRENNER, A. NIEDERWIESER UND G. PATAKI, *Experientia*, 17 (1961) 145.
- 28 F. EISENBERG, JR., *J. Chromatog.*, 9 (1962) 390.
- 29 H. R. GETZ UND D. D. LAWSON, *J. Chromatog.*, 7 (1962) 266.
- 30 J. HILTON UND W. B. HALL, *J. Chromatog.*, 7 (1962) 266.
- 31 A. SEHER, *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 61 (1959) 345.
- 32 F. W. HEFENDEHL, *Planta Med.*, 8 (1960) 65.
- 33 H. E. SPRENGER, *Z. Anal. Chem.*, 199 (1964) 241.
- 34 B. B. ZEITMAN, *J. Lipid Res.*, 5 (1964) 628.
- 35 E. F. L. J. ANET, *J. Chromatog.*, 9 (1962) 291.
- 36 L. L. SMITH UND T. FOELL, *J. Chromatog.*, 9 (1962) 339.
- 37 H. E. SPRENGER, *Z. Anal. Chem.*, 199 (1964) 338.
- 38 G. MACHATA, *Mikrochim. Acta*, (1960) 79.
- 39 M. MOTTIER UND M. POTTERAT, *Anal. Chim. Acta*, 13 (1955) 46.
- 40 M. MOTTIER, *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.*, 47 (1956) 372.
- 41 M. MOTTIER, *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.*, 49 (1958) 454.
- 42 J. C. BROWN, *J. Soc. Dyers Colourists*, 81 (1965) 161.
- 43 R. L. SQUIBB, *Nature*, 198 (1963) 317.
- 44 E. P. PRZYBYLOWICZ, W. J. STAUDENMAYER, E. S. PERRY, A. D. BAITSHOLTS UND T. N. TISCHER, *Pittsburgh Conf. Anal. Chem. Appl. Spectroscopy, Pittsburgh, März, 1965; Franz. Pat.*, No. 1,370,780 (Kodak-Pathé).
- 45 J. E. MEINHARD UND N. F. HALL, *Anal. Chem.*, 21 (1949) 185.
- 46 C. S. KNIGHT, *Nature*, 199 (1963) 1288.
- 47 J. BAROLLIER, *Naturwiss.*, 48 (1961) 404.
- 48 A. MOGHISSI, *J. Chromatog.*, 13 (1964) 542.
- 49 P. R. BHANDARI, B. LERCH UND G. WOHLLEBEN, *Pharm. Ztg., Ver. Apotheker-Ztg.*, 107 (1962) 1618.
- 50 *Konservierungslack für Dünnschichtchromatogramme*, Firmenschrift der Fluka AG., Buchs, Schweiz.
- 51 W. LICHTENBERGER, *Z. Anal. Chem.*, 185 (1962) III.
- 52 F. KORTE UND H. SIEPER, *J. Chromatog.*, 13 (1964) 90.
- 53 E. STAHL UND U. KALTENBACH, *J. Chromatog.*, 5 (1961) 351.
- 54 R. A. FAIRBRIDGE, K. J. WILLIS UND R. G. BOOTH, *Biochem. J.*, 49 (1951) 423.
- 55 K. WALLENFELS, *Naturwiss.*, 37 (1950) 491.
- 56 S. M. PARTRIDGE, *Nature*, 164 (1949) 443.
- 57 H. ERTEL UND L. HORNER, *J. Chromatog.*, 7 (1962) 268.
- 58 F. CRAMER, *Papierchromatographie*, 5. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim, 1962, S. 93.
- 59 E. D. MOFFAT UND R. I. LYTLE, *Anal. Chem.*, 31 (1959) 926.
- 60 E. KAWERAN UND TH. WIELAND, *Nature*, 168 (1951) 77.
- 61 F. CRAMER, *Papierchromatographie*, 5. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim, 1962, S. 120.