

## BEITRÄGE ZUR AUSWAHL GEEIGNETER EXPERIMENTELLER BEDINGUNGEN FÜR DIE POLYAMID-DÜNNSCICHTCHROMATOGRAPHIE

H. WAGNER UND L. HÖRHAMMER

*Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München (Deutschland)*

UND

K. MACEK

*Forschungsinstitut für Pharmazie und Biochemie, Prag (Tschechoslowakei)*

(Eingegangen den 23. Juni 1967)

Die sorptiven Eigenschaften des Polyamids als Sorbent für die Chromatographie nutzten als erste CARELLI und Mitarb.<sup>1</sup> und etwas später GRASSMANN und Mitarb.<sup>2,3</sup> zur Trennung von phenolischen Stoffen in der Säulenchromatographie aus. In der Flächenanordnung wurden Polyamide in der Papierchromatographie erstmals von WANG<sup>4</sup> angewendet, wobei das Zellulosepapier mit einer Lösung von Polyamid in Ameisensäure imprägniert wurde. Etwas später kam es zur Einführung der Dünnschichtchromatographie auf Polyamid-Schichten durch HÖRHAMMER, WAGNER UND RÖSLER<sup>5</sup>, DAVIDEK und Mitarb.<sup>6-8</sup>, EGGER<sup>9</sup> und WANG<sup>10</sup>. Eine Reihe weiterer Arbeiten war der Entwicklung mehrerer Lösungsmittelkombinationen gewidmet. Die Ergebnisse zeigten, dass es je nach der Zusammensetzung des Lösungsmittelsystems auf Polyamid zu verschiedenen Wechselwirkungen kommen kann. Nach GRASSMANN und Mitarb.<sup>2-3</sup> erfolgt die Polyamidchromatographie über eine starke Wasserstoffbrückenbindung der phenolischen Hydroxylgruppen mit der Säureamidgruppe des Polyamids. Das Studium der Sorptionsisotherme zeigte, dass es sich dabei nicht nur um eine Adsorption an der Oberfläche des Polyamids handelt, sondern dass auch eine Aufnahme des Phenols in das Innere des Polyamids stattfindet. Ausgehend von der Beobachtung, dass es oftmals zu einer Wanderungsumkehr von Verbindungen in einigen Lösungsmittelsystemen kam, wurden über die sich bei der Stofftrennung auf Polyamid abspielenden Wechselwirkungen in einigen Arbeiten auch abweichende Anschauungen vertreten. So zeigte z.B. COPIUS PEEREBOOM<sup>11,12</sup> bei phenolischen Antioxidantien, dass sich in wässrigen Systemen mit Zunahme der Alkylgruppen die  $R_F$ -Werte erniedrigen. Dieses Phänomen ist der Phasenumkehr bei der flüssig-flüssig-Chromatographie analog. In den Systemen, die aus organischen Lösungsmitteln mit Eisessigzusatz bestehen, kam es aber zu einer Wanderungsumkehr. Der Autor postuliert, dass die stationäre Phase analog dem Wasser-Zellulose-Komplex bei der Zellulosechromatographie von einem Komplex Polyamid-Eisessig gebildet wird\*. Zu ähnlichen Schlussfolgerungen kamen auch EGGER und Mitarb.<sup>13-15</sup>. In wässrigen Lösungen kommt es durch Wasserstoffbrückenbindungen primär zu einer Adsorption an das Polyamid. Daneben kann aber Polyamid

\* Anmerkung bei der Korrektur: Nach der Ablieferung des Manuskriptes erschien eine Arbeit von L. S. BARK UND R. J. T. GRAHAM (*J. Chromatog.*, 27 (1967) 109), die diese Erklärung nicht annehmen.

durch das anwesende polare organische Lösungsmittel, z.B. durch Methanol, quellen, sodass auch Verteilungsvorgänge mit eine Rolle spielen. In wässrigen Systemen soll aber nach EGGER mehr die Adsorption vorherrschen. Wurde aber zur Entwicklung Chloroform mit Methanolzusatz benutzt, kam es zur Wanderungsumkehr. Beide Vorgänge, Adsorption und auch Verteilung, befinden sich hier nach EGGER zwar im Gleichgewicht, doch tritt die Verteilung in stärkerem Masse in Erscheinung. Für die Analyse von Flavonoidverbindungen bewährte sich gut die Kombination beider Systemtypen in einer zweidimensionalen Anordnung.

Da in der Literatur bei der Vielzahl der veröffentlichten Systeme keine Klarheit über den Einfluss der einzelnen Lösungsmittelkomponenten und über die bei der Chromatographie ablaufenden physikalisch-chemischen Wechselwirkungen erzielt werden konnte, bemühten wir uns um die Lösung dieser Probleme. Als Modellsubstanzen wählten wir für diese Arbeit einfache Phenole, die sich durch Zahl und Stellung der Hydroxylgruppen sowie durch unterschiedliche Länge der Alkylsubstituenten voneinander unterscheiden.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### *Polyamid*

Für die Herstellung der Platten benutzten wir, sofern nicht anders angegeben, Polyamid der Firmen Macherey-Nagel und Merck, die vergleichbare Resultate lieferten. Das Polyamid der Firma Woelm gab in einigen Fällen abweichende Ergebnisse, was seinen mehr hydrophilen Eigenschaften zugeschrieben werden muss. Für die Trennung von Verbindungen, die im kurzwelligen Licht eine Fluoreszenzlöschung ergeben, bewährte sich Polyamid mit Leuchtstoffzusatz der Firma Macherey-Nagel.

### *Herstellung der Platten*

(a) *Ohne Bindemittel.* 12 g Polyamid wurden gründlich mit 50 ml Methanol geschüttelt und die entsprechende Suspension für das Streichen der Platten benutzt. Die Platten wurden vor der Chromatographie über Nacht bei einer Laboratoriums-temperatur von ca. 24° und bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von etwa 40 % liegen gelassen.

(b) *Mit Bindemittel.* Für manche Fälle, besonders aber für die zweidimensionale Entwicklung, war es vorteilhaft, die Polyamidschicht durch Zugabe von Zellulose<sup>13,14</sup> hafter zu gestalten. In diesem Falle wurde ein Gemisch von 12 g Polyamid mit 2.4 g Zellulose (Macherey-Nagel 300 bzw. 300G) und 40 ml Methanol bereitet und gründlich in einem Mixgerät homogenisiert. Die Herstellung der Schicht erfolgte wie unter (a) angegeben.

### *Entwicklungstechnik*

Zur Entwicklung verwendeten wir die übliche Kammertype für aufsteigende Chromatographie auf Platten 10 × 20 cm bzw. 20 × 20 cm. In einigen Fällen benutzten wir zur Entwicklung die Sandwich-Kammer CAMAG. Die Chromatographie wurde bei einer Temperatur von etwa 24° und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 40% durchgeführt.

*Lösungsmittelsysteme*

S 1 = Wasser	S 15 = <i>n</i> -Butanol-Eisessig (9:1)
S 2 = Wasser-Methanol (9:1)	S 16 = Äthylacetat
S 3 = Wasser-Methanol (1:1)	S 17 = Chloroform
S 4 = Wasser-Methanol (1:9)	S 18 = Chloroform-Eisessig (4:1)
S 5 = Methanol	S 19 = Chloroform-Methanol-Methyl- äthylketon (9:4:2)
S 6 = Wasser-Äthanol (1:1)	S 20 = Chloroform-Pyridin (4:1)
S 7 = Wasser-Aceton (1:1)	S 21 = Chloroform-Methanol (4:1)
S 8 = Wasser-Äthanol-Methyläthyl- keton-Acetylaceton (13:3:3:1)	S 22 = Benzol-Methanol (19:1)
S 9 = Wasser-Eisessig (9:1)	S 23 = Benzol-Methanol (8:1)
S 10 = Wasser-Eisessig-Chloroform (2:3:15)	S 24 = Benzol-Methanol (1:1)
S 11 = Wasser-Methanol-Chloroform (1:1:8)	S 25 = Benzol-Eisessig (4:1)
S 12 = Wasser-Methanol-Chloroform (1:15:5)	S 26 = Benzol-Äthylacetat (9:1)
S 13 = Wasser-Methanol-Chloroform (1:8:1)	S 27 = Benzol-Chloroform (9:1)
S 14 = Wasser-Methanol-Pyridin (4:5:1)	S 28 = Benzol-Äthylacetat- Chloroform (18:1:1)
	S 29 = Benzol-Methanol-Eisessig (45:8:4)
	S 30 = Petroläther-Benzol-Eisessig (2:2:17).

*Nachweis*

Den Nachweis der Phenole führten wir bei den Schichten mit Leuchtstoffzusatz im kurzwelligen UV-Licht und ausserdem durch Besprühen mit diazotiertem Sulfanilamid oder mit Eisen-III-chlorid und Kalium-ferricyanid durch<sup>16</sup>.

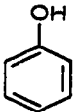
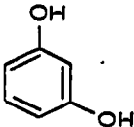
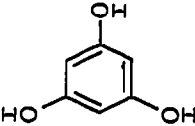
## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

*Vergleich verschiedener Sorbenten*

In der Literatur wird die Ansicht vertreten, die auf der Säule gewonnenen Resultate könnten nicht auf die Dünnschichtchromatographie übertragen werden<sup>18</sup>. Ausserdem ergaben sich Diskrepanzen zwischen einigen Ergebnissen von uns und den von ENDRES UND HÖRMANN veröffentlichten Resultaten. Diese Beobachtungen können nicht vernachlässigt werden, da hier eine Wanderungsumkehr einzelner Phenole und offensichtlich auch ein anderer Trenn-Mechanismus vorliegt. Es hat sich gezeigt, dass diese Diskrepanz nicht durch die experimentelle Anordnung (Säule und Dünnschicht) verursacht wird, sondern aus der Eigenschaft des Polyamids selbst resultiert. Diese Tatsache geht am besten aus der Tabelle I hervor. Demnach müssen das von ENDRES UND HÖRMANN<sup>19</sup> für die Säulenchromatographie benutzte Polyamid Ultramid BM 228 und ganz analog auch das Polyamid Woelm für die Dünnschichtchromatographie mehr hydrophile Eigenschaften besitzen, sodass es bei Anwendung wässriger Systeme nicht zu einer Phasenumkehr kommen kann, wie dies z.B. bei dem Polyamid der Firma Macherey-Nagel oder der Firma Merck der Fall ist. Da wir aber gerade in der Phasenumkehr eine vorteilhafte Eigenschaft des Polyamids sehen, arbeiteten wir weiterhin nur mit den Polyamiden der Firmen Macherey-Nagel oder Merck.

TABELLE I

$R_F$ -WERTE DER PHENOLE AUF POLYAMIDEN VERSCHIEDENEN URSPRUNGS  
Lösungsmittel: 50%iges Äthanol.

Phenole	Polyamid Macherey-Nagel	Polyamid Woelm	Polyamid Ultramid BM 228; Säule (nach <sup>10</sup> )
	0.35	0.46	0.66
	0.42	0.35	0.58
	0.57	0.27	0.49

Die genannten Polyamide wurden ausserdem mit acetyliertem Polyamid verglichen. Bei einfachen Phenolen zeigte sich, dass die Acetylierung keinen wesentlichen Einfluss auf die Wanderungsgeschwindigkeit der Phenole in nichtwässrigen Systemen hatte. Bei wasserhaltigen Systemen kam es dagegen zu einer teilweisen Nivellierung der  $R_F$ -Werte.

Das chromatographische Verhalten der Phenole ist in dem nichtwässrigen System Benzol-Methanol-Eisessig (S 29) auf verschiedenen Sorbenten (Polyamid, Zellulose, Kieselgel) sehr ähnlich und nur die absoluten  $R_F$ -Werte differieren voneinander (Tabelle II). Bestimmt man aber die Gruppenkonstanten für phenolische Hydroxyl- und die Alkyl-Gruppen auf den einzelnen Sorbenten, dann ergeben sich gewisse Unterschiede (Tabelle III). Die niedrigsten Werte für phenolische Hydroxyl-Gruppen erhält man auf Kieselgel, die höchsten auf Zellulose. Der Wert für die Alkyl-Gruppen war auf Zellulose wesentlich höher als auf Polyamid oder Kieselgel.

Ganz unterschiedlich verhielten sich die Phenole in wässrigen Systemen, wie z.B. Aceton-Wasser (1:1). Während die Phenole auf Kieselgel oder Zellulose praktisch mit der Lösungsmittelfront wanderten, wurden diese auf Polyamid zurückgehalten und bewegten sich etwa bis zur Mitte des Chromatogrammes. Dabei verhielten sich die Werte der Gruppenkonstanten umgekehrt wie die Konstanten in nichtwässrigen Systemen. In dieser Eigenschaft sehen wir den grössten Vorteil des Polyamids verglichen mit den anderen Sorbenten für die Dünnschichtchromatographie.

#### Herstellung der Platten

Für die Herstellung der Platten aus Polyamid Macherey-Nagel oder Merck bewährte sich am besten das Ausstreichen mit einer Polyamid-Suspension in Methanol. Die besten Eigenschaften wiesen Platten nach 24-stündiger Lagerung bei Labo-

TABELLE II

 $R_F$ -WERTE DER PHENOLE AUF VERSCHIEDENEN SORBENTEN

	Polyamid		Polyamid + Zellulose		Acetyl. Polyamid		Zellulose G		Kieselgel G	
	S 7	S 29	S 7	S 29	S 7	S 29	S 7	S 29	S 7	S 29
Phenol	0.37	0.50	0.36	0.52	0.35	0.57	0.97	0.84	0.91	0.61
Brenzcatechin	0.42	0.29	0.43	0.30	0.40	0.39	0.95	0.57	0.90	0.46
Resorcin	0.48	0.19	0.47	0.17	0.44	0.26	0.97	0.38	0.91	0.35
Hydrochinon	0.56	0.18	0.56	0.18	0.54	0.27	0.97	0.28	0.90	0.32
Pyrogallol	0.54	0.14	0.54	0.13	0.57	0.27	0.91	0.13	0.87	0.25
Phloroglucin	0.62	0.04	0.63	0.05	0.60	0.10	0.94	0.04	0.93	0.14
( $\beta$ -Naphthol)	0.16	0.49	0.15	0.49	0.13	0.52	0.95	0.94	0.93	0.62
<i>o</i> -Kresol	0.27	0.56	0.26	0.57	0.22	0.59	0.97	0.98	0.94	0.66
<i>p</i> -Kresol	0.29	0.55	0.30	0.54	0.24	0.59	0.95	0.96	0.93	0.62

TABELLE III

WERTE DER GRUPPENKONSTANTE  $\Delta R_M$  AUF VERSCHIEDENEN SORBENTEN

	Polyamid		Kieselgel	Zellulose
	S 7	S 29	S 29	S 29
Phenolisches Hydroxyl in Stellung:				
<i>para</i>	-0.34	+0.66	+0.52	+1.13
<i>meta</i>	-0.20	+0.63	+0.46	+0.93
<i>ortho</i>	-0.09	+0.39	+0.26	+0.60
Methylgruppe	+0.16	-0.09	-0.02	-0.66

ratoriumstemperatur auf. Dabei entsteht eine Polyamidschicht, die verhältnismässig gut haftet. Sie besitzt jedoch nicht die Stabilität der Zellulose- oder Kieselgelschichten. In einigen Systemen, gewöhnlich z.B. wenn chlorierte Lösungsmittel mit organischen Säuren kombiniert wurden, besonders aber bei der zweidimensionalen Chromatographie, kann es zum Abfallen der Polyamidschichten kommen. Deshalb haben wir verschiedene Bindemittel zur Befestigung der Polyamidschicht zugegeben. Da oft auch wasserhaltige Lösungsmittelsysteme zur Entwicklung benutzt werden, haben sich Bindemittel wie Stärke<sup>11</sup>, Saccharose<sup>17</sup> und andere Materialien ähnlichen Charakters nicht bewährt. Sie werden aus der Schicht mit den Lösungsmittelkomponenten ausgewaschen. Dagegen erhielten wir bei 20 % Zellulosezusatz zum Polyamid sehr gute Resultate<sup>13,14</sup>. Es hat sich gezeigt, dass die Zellulose in dieser Menge die Qualität der Trennung nicht beeinflusst. Die  $R_F$ -Werte waren grundsätzlich dieselben wie auf dem Polyamid ohne Zellulosezusatz.

#### Entwicklungstechnik

Die besten Resultate erzielten wir auf den Polyamidschichten, die in Sandwichkammern entwickelt wurden. Die  $R_F$ -Werte lagen etwas höher als bei der üblichen

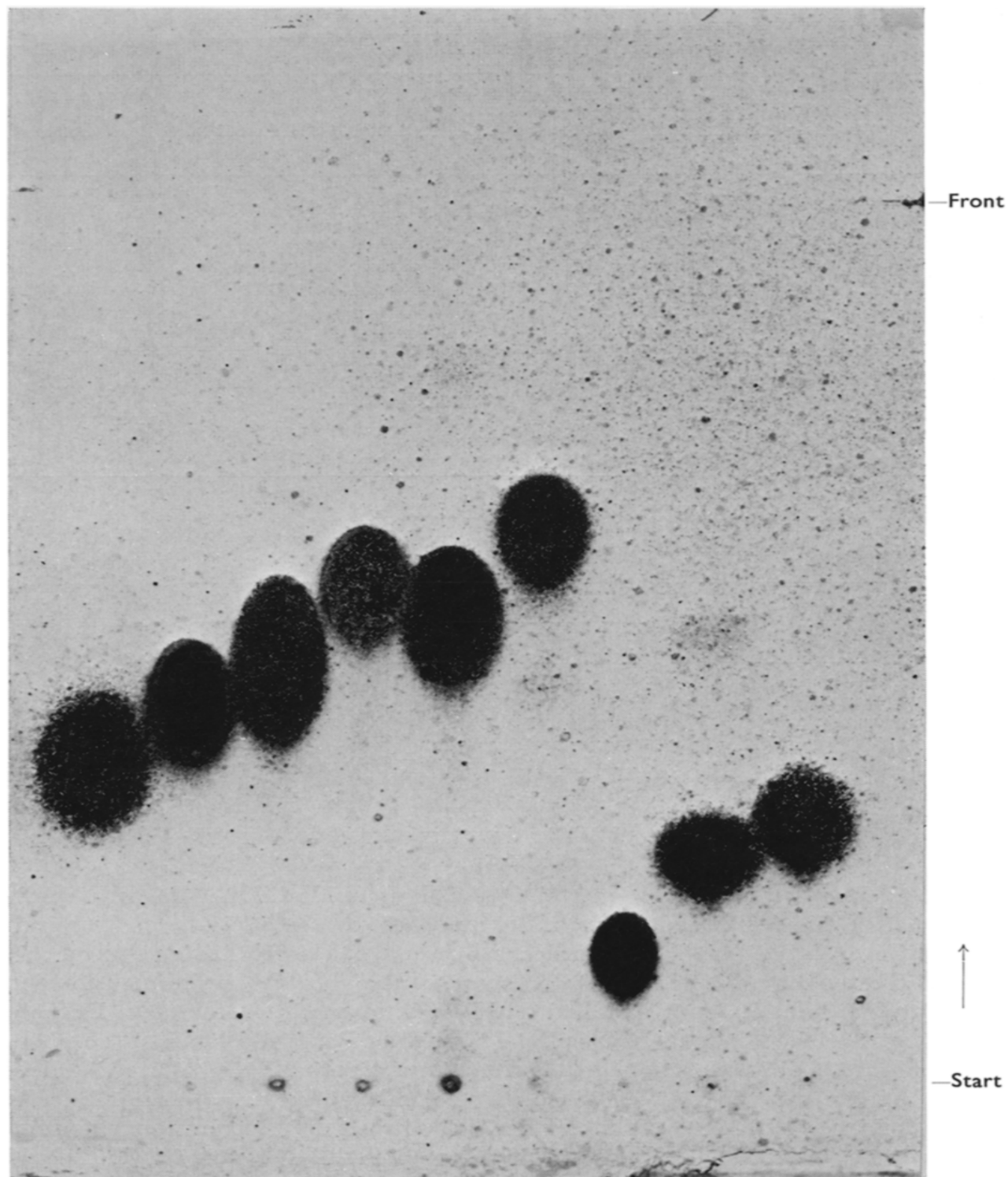


Fig. 1. Chromatographie der Phenole in wässrigem System (Aceton-Wasser, 1:1). Von links nach rechts: Phenol, Brenzcatechin, Resorcin, Hydrochinon, Pyrogallol, Phloroglucin,  $\beta$ -Naphthol, *o*-Kresol, *p*-Kresol.

Entwicklung. Dies ist für die meisten Trennaufgaben von Vorteil. Ausserdem entstanden konzentriertere Flecke. Die Überlagerung der Polyamidschicht mit einer zweiten Schicht, die mit der mobilen Phase besprüht wurde, hatte auf die Qualität der Trennung keinen wesentlichen Einfluss, sodass wir auf diese Technik verzichteten.

### *Lösungsmittelsysteme*

Die getesteten Lösungsmittelsysteme konnten wir nach den Ergebnissen in wasserhaltige und nichtwässrige unterteilen. Bei dem ersten Typ bewährten sich am besten die Zweikomponentensysteme, die neben Wasser Aceton, Methanol oder Eisessig enthielten. Von den nichtwässrigen zeigten jene Systeme die besten Eigenschaften, die ausser dem hydrophoben Lösungsmittel (Benzol, Chloroform) noch ein polares organisches Lösungsmittel (Methanol, Eisessig) enthielten. Zwischen diesen zwei Gruppen existieren noch atypische Systeme, die man durch Kombination aller angeführten Typen von Lösungsmitteln bilden kann (Wasser-Methanol-Chloroform u.a.). Durch eine solche Kombination lassen sich Trennungen erzielen, die teils auf dem hydrophilen, teils auf dem hydrophoben Charakter des Systems beruhen.

Beide angeführten Systemtypen unterscheiden sich grundsätzlich in ihrem chromatographischen Verhalten. Während bei den nichtwässrigen Systemen mit Verankerung der mehr hydrophilen Phase die Beweglichkeit der getesteten Phenole praktisch dieselbe ist wie bei der Verteilungschromatographie auf Zellulose (Fig. 1), ist die Beweglichkeit in den wässrigen Systemen völlig umgekehrt und entspricht dem Mechanismus der umgekehrten Phasen (Fig. 2).

Von den wässrigen Systemen bewährten sich die binären Gemische S 7 und S 4, von den nichtwässrigen Systemen waren die besten Kombinationen S 29 und S 18. Beide Systemtypen können vorteilhaft für die zweidimensionale Chromatographie ausgenutzt werden. Durch Anwendung beider Prinzipien kann die Trennung auch solcher Phenole erreicht werden, die bisher nach anderen Methoden nicht trennbar waren (Fig. 3).

### *Mechanismus der Trennung*

Einige Polyamide besitzen zum Unterschied von anderen Sorbenten der Dünnschichtchromatographie Eigenschaften, die bei rationeller Auswahl des Lösungsmittelsystems für eine Reihe von Trennungen sehr vorteilhaft ausgenutzt werden können. Die Eigenschaften des Polyamids liegen zwischen denen hydrophiler und lipophiler Trägermaterialien, das heisst, man kann, ohne das Polyamid entsprechend zu behandeln, Bedingungen schaffen, die die mobile Phase im Vergleich zur stationären Phase hydrophiler oder hydrophober gestaltet. Dabei ist jedoch der Charakter der stationären Phase nicht ganz eindeutig. In vielen Fällen liegt vermutlich ein Gel vor. So dürfte z.B. im System Wasser-Methanol ein Polyamidgel in Methanol vorliegen und die wässrige Phase fliesst durch. Es handelt sich also um einen Mechanismus wie bei der flüssig-flüssig-Chromatographie und eine Phasenumkehr mit mehr hydrophiler mobiler Phase. Bei den nichtwässrigen Systemen, wie z.B. Benzol-Methanol, wird die stationäre Phase wieder durch das Gel Polyamid-Methanol gebildet und die Benzol-Phase fliesst durch. Für diesen Mechanismus sprechen die  $R_F$ -Werte der gewählten Sorbenten, wie z.B. Zellulose und Kieselgel. Hier kommt man zwar in den nichtwässrigen Systemen zu denselben Resultaten wie auf dem Polyamid, doch wandern alle Stoffe in den wässrigen Systemen mit der Lösungs-

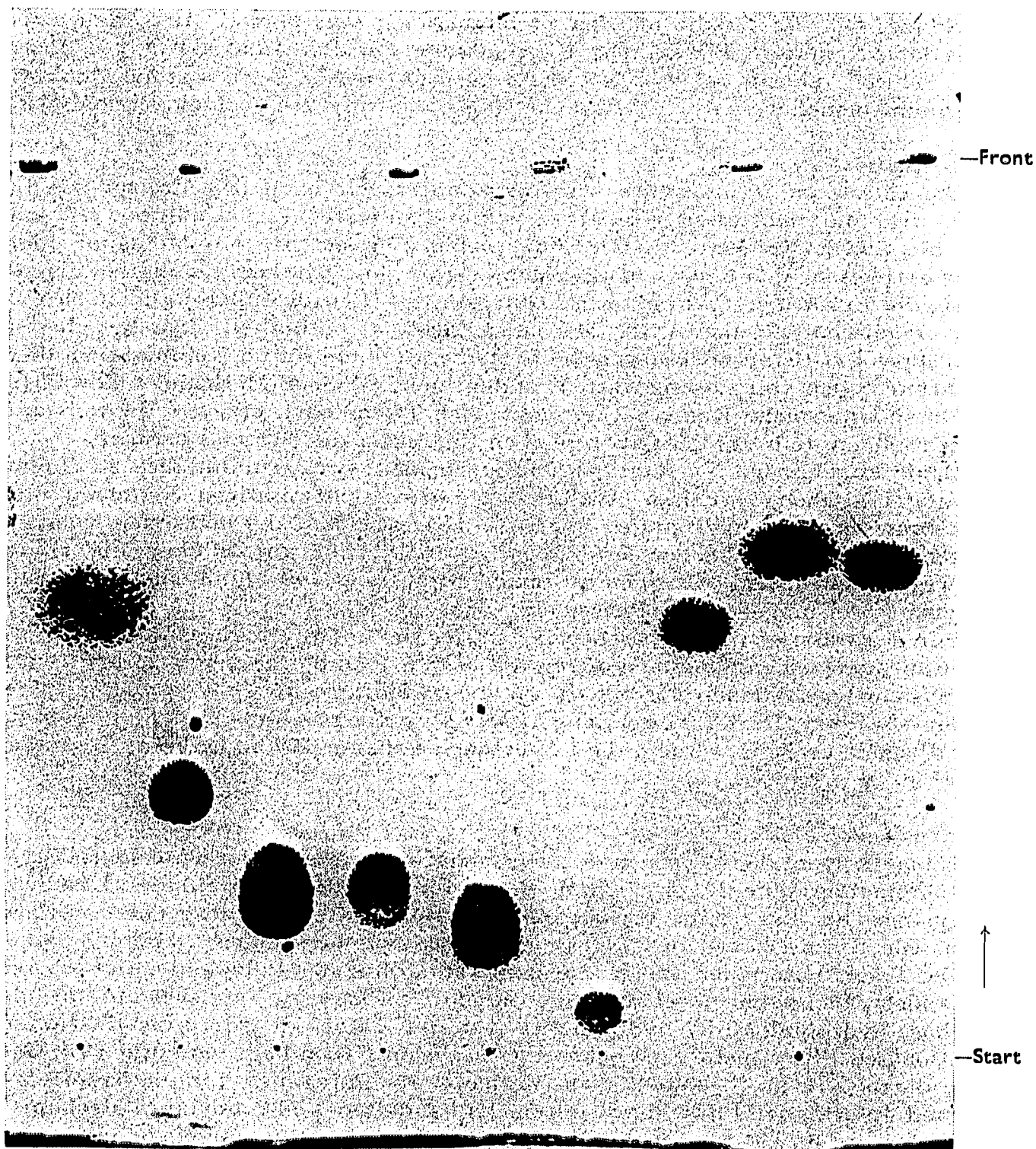
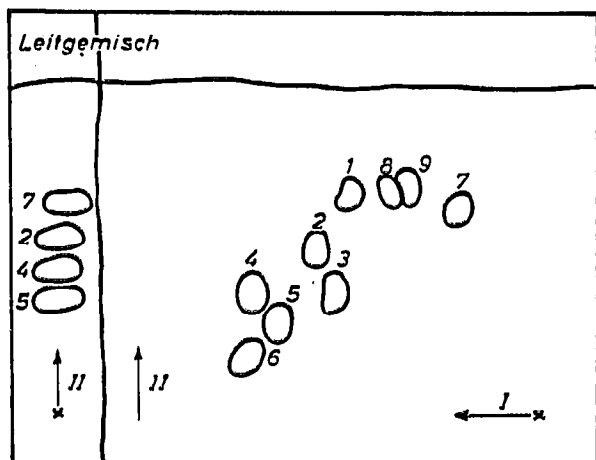


Fig. 2. Chromatographie der Phenole in nichtwässrigem System (Benzol-Methanol-Eisessig, 45:8:4). Reihenfolge der Phenole wie in Fig. 1.





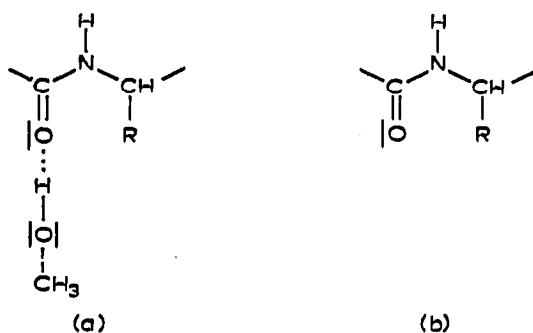
Polyamid + Cellulose 300

I Aceton-Wasser 1:1

II Benzol-MeOH-Eisessig 45:8:4

Fig. 3. Zweidimensionale Chromatographie einiger Phenole (Leitgemisch wurde nach dem 1. Lauf aufgetragen). 1 = Phenol; 2 = Brenzcatechin; 3 = Resorcin; 4 = Hydrochinon; 5 = Pyrogallol; 6 = Phloroglucin; 7 =  $\beta$ -Naphthol; 8 = *o*-Kresol; 9 = *p*-Kresol.

mittelfront. Bei wässrigen Systemen erniedrigen sich die  $R_F$ -Werte mit sinkendem Wassergehalt in der mobilen Phase ähnlich wie bei umgekehrten Phasen auf Zellulose. Für den Verteilungsprozess spricht ausserdem, dass mit steigender Konzentration an Phenolen (10–2000  $\mu\text{g}$ ) die  $R_F$ -Werte konstant bleiben, während bei Anwendung von Kieselgel die  $R_F$ -Werte erwartungsgemäss steigen. Wahrscheinlich ist der angeführte Mechanismus in Wirklichkeit nicht so eindeutig, d.h. die Trennung von Verbindungen am Polyamid durch direkte Wasserstoffbrückenbindungen dürfte nicht allein nach Typ (a) sondern auch nach (b) erfolgen.



Dafür spricht besonders das Verhalten der Phenole in Einkomponentensystemen wie Äthylacetat oder Chloroform. Die anfängliche Vermutung, dass das aus der Herstellung der Schicht stammende Methanol eine gewisse Rolle spielen könnte, hat sich als unbegründet erwiesen. In der Schicht war gaschromatographisch nach 24 Std. keine Spur von Methanol nachzuweisen und auch die Wägebilanz bei der Trocknung ergab hierfür keinerlei Anhaltspunkte. Die Ergebnisse der Phenol-Chromatographie auf einer Schicht, die einmal mit Methanol, ein andermal mit Chloroform hergestellt worden war, bei Verwendung von Äthylacetat als mobiler Phase, waren praktisch

übereinstimmend. Für eine direkte Bindung der Substanz an das Polyamid spricht auch die Tatsache, dass sich bei steigender Methanol-Konzentration im System S 23 und S 24 die  $R_F$ -Werte erhöhen. Es liegt hier offensichtlich ein Konkurrenzphänomen von Methanol mit den zu chromatographierenden Phenolen um die Bindung zum Polyamid vor. Bei einer Wechselwirkung nach Typ a hätte man dagegen, bedingt durch die Vergrößerung des Querschnitts der stationären Phase, d.h. des Gels Polyamid-Methanol, eher eine Verminderung der  $R_F$ -Werte erwarten müssen. Eine bedeutende Rolle spielen hier die Protonen-Donator- und Protonen-Akzeptor-Eigenschaften der Komponenten des Lösungsmittelsystems. Lösungsmittel mit Protonen-Donator-Eigenschaften (Alkohole, Säuren) konkurrieren mit den Phenolen um eine Bindung an Polyamid, während solche mit ausgeprägten Protonen-Akzeptor-Eigenschaften (Aceton) selbst starke Wasserstoffbrückenbindungen mit den Phenolen eingehen und eine Desorption der Phenole verursachen.

#### DANK

Einer der Autoren (K. MACEK) ist dem Deutschen Akademischen Austauschdienst für die finanzielle Unterstützung sehr verbunden, welche die Durchführung dieser Arbeit am Institut für pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München ermöglicht hat.

Frl. E. SEDLACZEK danken wir für technische Assistenz und verständnisvolle Mitarbeit.

#### ZUSAMMENFASSUNG

In der Arbeit wurde untersucht, welche experimentellen Bedingungen für die Polyamid-Dünnschichtchromatographie optimale Trenneffekte ergeben. Es hat sich gezeigt, dass zwischen Polyamiden verschiedenen Ursprungs bedeutende Unterschiede bestehen. Zur Befestigung der Schichten erwies sich ein Zusatz von Zellulose am vorteilhaftesten. Die geprüften Systeme können in wasserhaltige und in nichtwässrige eingeteilt werden. Die wasserhaltigen Systeme ergaben bei der Chromatographie der Phenole Resultate, die analog der Phasenumkehr bei der flüssig-flüssig-Chromatographie sind, während die nichtwässrigen Systeme ihre Trennwirkung wie Systeme mit stationärer mehr hydrophiler Phase ausüben. Wie am Beispiel der Phenole gezeigt werden konnte, lässt sich die Polyamidchromatographie auch in der zweidimensionalen Anordnung ausnützen. Der Mechanismus der Trennung wird eingehend diskutiert.

#### SUMMARY

An investigation was made in order to find the experimental conditions that give optimal separation in polyamide thin-layer chromatography. It appeared that considerable differences exist between polyamides of different origin. Cellulose proved most satisfactory as binder. The solvents examined can be divided into aqueous and non-aqueous systems. In the chromatography of phenols aqueous systems give results analogous to those obtained in reversed phase liquid-liquid chromatography, while non-aqueous systems operate in the same way as systems with a stationary,

more hydrophilic phase. Using phenols as an example it could be shown that on polyamide layers two-dimensional chromatography is also possible. The mechanism of the separation is discussed in detail.

## LITERATUR

- 1 V. CARELLI, A. M. LIQUORI UND A. MELE, *Nature*, 176 (1955) 70.
- 2 W. GRASSMANN, H. HÖRMANN UND A. HARTL, *Makromol. Chem.*, 21 (1956) 37.
- 3 W. GRASSMANN, H. ENDRES, M. OPPELT UND H. EL SISSI, *Das Leder*, 10 (1959) 149.
- 4 K. T. WANG, *J. Chinese Chem. Soc.*, 6 (1959) 73.
- 5 H. RÖSLER, *Dissertation*, München, 1960.
- 6 J. DAVÍDEK UND E. DAVÍDKOVÁ, *Pharmazie*, 16 (1961) 352.
- 7 J. DAVÍDEK UND J. POKORNÝ, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 115 (1961) 113.
- 8 J. DAVÍDEK UND Ž. PROCHÁZKA, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 26 (1961) 2947.
- 9 K. EGGER, *Z. Anal. Chem.*, 182 (1961) 161.
- 10 K. T. WANG, *J. Chinese Chem. Soc.*, 8 (1961) 241.
- 11 J. W. COPIUS PEEREBOOM, *Nature*, 204 (1964) 748.
- 12 J. W. COPIUS PEEREBOOM, in K. MACEK UND I. M. HAIS (Herausgeber), *Stationary Phase in Paper and Thin-Layer Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, 1965, S. 134.
- 13 K. EGGER UND M. KEIL, *Z. Anal. Chem.*, 210 (1965) 201.
- 14 K. EGGER UND H. KLEINIG, *Z. Anal. Chem.*, 211 (1965) 187.
- 15 K. EGGER, in *Chromatographie Symposium III, Brüssel, 1964*, S. 305.
- 16 I. M. HAIS UND K. MACEK (Herausgeber), *Handbuch der Papierchromatographie*, Band 1, 2. Ausg., Fischer, Jena, 1963.
- 17 H. TÖNJES UND H. POTTER, *Pharmazie*, 21 (1966) 217.
- 18 H. ENDRES, in K. MACEK UND I. M. HAIS (Herausgeber), *Stationary Phase in Paper and Thin-Layer Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, 1965.
- 19 H. ENDRES UND H. HÖRMANN, *Angew. Chem.*, 75 (1963) 288.

*J. Chromatog.*, 31 (1967) 455-465