

STANDARDISIERUNG DER DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE DURCH VERWENDUNG VON FERTIGPLATTEN

H. HALPAAP

Chemische Forschung, E. Merck AG, Darmstadt (Deutschland)

SUMMARY

Standardization of thin-layer chromatography using prefabricated layers

The use of abrasion-proof, prefabricated, standardized layers makes a rationalisation of the laboratory work possible and facilitates application, impregnation, detection of substances and quantitative determination.

Mit dem Begriff der Dünnschichtchromatographie verbindet man die Vorstellung einer Schnellmethode mit ausgezeichneten Trennungen, gleichzeitig denkt man aber auch an den Umfang der Vorbereitungen:

- das Abwiegen und Abmessen von Sorptionsmittel und Wasser,
- das Suspendieren im Kolben oder Mixgerät,
- das Auslegen der gereinigten Glasplatten auf die Schablone,
- das Einfüllen und Ausstreichen der Suspension,
- das Ablegen der Platten in das Gestell zum Vortrocknen an der Luft und zum Aktivieren im Trockenschrank.

Es ist erstaunlich, wie bereitwillig der Verbraucher es viele Jahre lang auf sich genommen hat, die Platten im eigenen Labor selbst zu beschichten, womit er von der technischen Seite her im Vergleich zur Papierchromatographie einen Schritt zurückgetan hat. Doch spricht diese Tatsache für die Überlegenheit der DC-Methode. Schon die Anwendbarkeit verschiedener Sorptionsmittel, vorwiegend anorganischer Natur, im Vergleich zu dem einen Trägermaterial Papier bedeutet, dass man sich keiner Beschränkung infolge der stofflichen Eigenart unterwerfen muss. So können Trennungen durch Adsorption, Verteilung und Ionenaustausch durchgeführt werden. Ausserdem bewegt sich in einem pulverförmigen Sorptionsmittel die Substanz gleichmässig, meist als runder Fleck nur infolge der Kapillarkräfte, eine zusätzliche Entwicklung entlang der Faser wie beim Papier ist ausgeschlossen. Das ergibt geringe Diffusion, also kleinere Fleckengrösse, also erhöhte Trennschärfe und erhöhte Empfindlichkeit, die noch gesteigert wird durch die Verträglichkeit der anorganischen Schicht gegen aggressive Reagenzien. Der geringe apparative Aufwand bei der Trennung selbst, die Variationsmöglichkeit des Verfahrens sowie die Zuverlässigkeit der Ergebnisse haben zu der grossen Verbreitung der Dünnschichtchromatographie innerhalb weniger Jahre geführt.

Ein Hindernis für eine noch häufigere und umfassendere Verwendung der DC-

Methode ist sicherlich der Aufwand und die Unbequemlichkeit bei der manuellen Beschichtung. Zwar bereitet diese in einem vorausplanenden Labor oder Betrieb keine Schwierigkeiten, man kennt den täglichen Bedarf an den verschiedenen DC-Beschichtungen und wird im voraus, etwa für eine Woche, die gewünschten Platten bestreichen, damit sie jederzeit einsatzbereit sind. In grösseren Betrieben sind dafür zentrale Streichstellen eingerichtet, von denen die einzelnen Labors ihre beschichteten Platten beziehen.

Seit kurzem sind auch einige Sorptionsmittel-, Folien- und Gerätehersteller um eine Vereinfachung der DC-Technik für den Verbraucher bemüht und bieten fertige Beschichtungen zum einmaligen Gebrauch an. Dabei werden drei unterschiedliche Wege begangen, die ich an dem vereinfachten Beispiel einer Celluloseschicht erklären will. Die Chromatographieverfahren an Papier und an der Cellulosebeschichtung stimmen darin überein, dass nach beiden Methoden an einer Fläche mit ihren Vorteilen des Trennvermögens und vor allem des einfachen Substanznachweises chromatographiert wird. Das Chromatographiepapier ist als selbsttragende Schicht von seiner Art her ideal, weil es in hohem Masse stabil ist und sich für alle Entwicklungsmethoden verwenden lässt. Demgegenüber setzt jede Beschichtung mindestens zwei Materialien voraus, die Unterlage und das Sorptionsmittel. Beide Unterlagen, Folie und Glas, lassen sich ohne Bindemittel mit Cellulosepulver beschichten, das hinsichtlich des Trennvermögens dem faserförmigen Papier überlegen ist. Dem Vorteil der Folie, dass man sie evtl. auch für absteigende Chromatographietechnik verwenden kann, steht der Nachteil einer geringeren Stabilität der Schicht gegenüber, die in der Flexibilität der Folie begründet ist. Die in ihren stofflichen Eigenschaften meist stark voneinander abweichenden Materialien, Unterlage und Sorptionsmittel, haften nur dann optimal, wenn sie starr miteinander verbunden sind.

Bei den selbsttragenden Schichten handelt es sich um Einlagerungen anorganischer Sorptionsmittel in faserförmiges Material, wie Papier- oder Glasfasern. Beide Produkte sind jedoch spröde und müssen daher vorsichtig gehandhabt werden. Bei Papieren beträgt der Anteil an Kieselgel oder Aluminiumoxid bis zu 40%, bei Glasfasern ist der Kieselgelanteil wesentlich geringer. Die Chromatographie erfolgt in beiden Fällen an je zwei in ihren spezifischen Oberflächen konträren Sorptionsmitteln Kieselgel und Cellulosefaser bzw. Kieselgel und Glasfaser. Diese Kombinationen sind wohl zur verteilungschromatographischen Trennung polarer Substanzen geeignet, doch wird das Adsorptionsvermögen durch die faserförmige Komponente geschwächt.

Die mit Kieselgel oder Aluminiumoxid beschichtete Folie stellt insofern einen Fortschritt dar, als die Folienunterlage das Trennvermögen des anorganischen Sorptionsmittels nicht beeinflusst. Eine Beeinflussung wäre nur von dem zur Haftung erforderlichen Bindemittel zu erwarten, wobei der Zusatz für die Trennung nicht einmal ungünstig zu sein braucht. Bedeutsamer ist der Einfluss des Bindemittels auf das Verhalten gegen universelle Sprühreagenzien und auf die Fließmittelbeständigkeit. Ungünstig wirkt sich die geringe Stärke der anorganischen Beschichtung aus; denn dadurch wird die Kapazität vermindert und die Trennung verschlechtert. Man erkennt das aus den beiden Chromatogrammen von Fig. 1, bei denen gleiche Substanzmengen aufgetragen wurden. Da die Stärke der Schicht auf dem linken Chromatogramm nur 100 μ beträgt, breiten sich die Substanzen darauf zwangsläufig weiter aus als auf der 250 μ -Beschichtung. Daher sind im rechten Chromatogramm Hydrocortison und Prednisolon gerade getrennt, im linken Chromatogramm jedoch nicht.

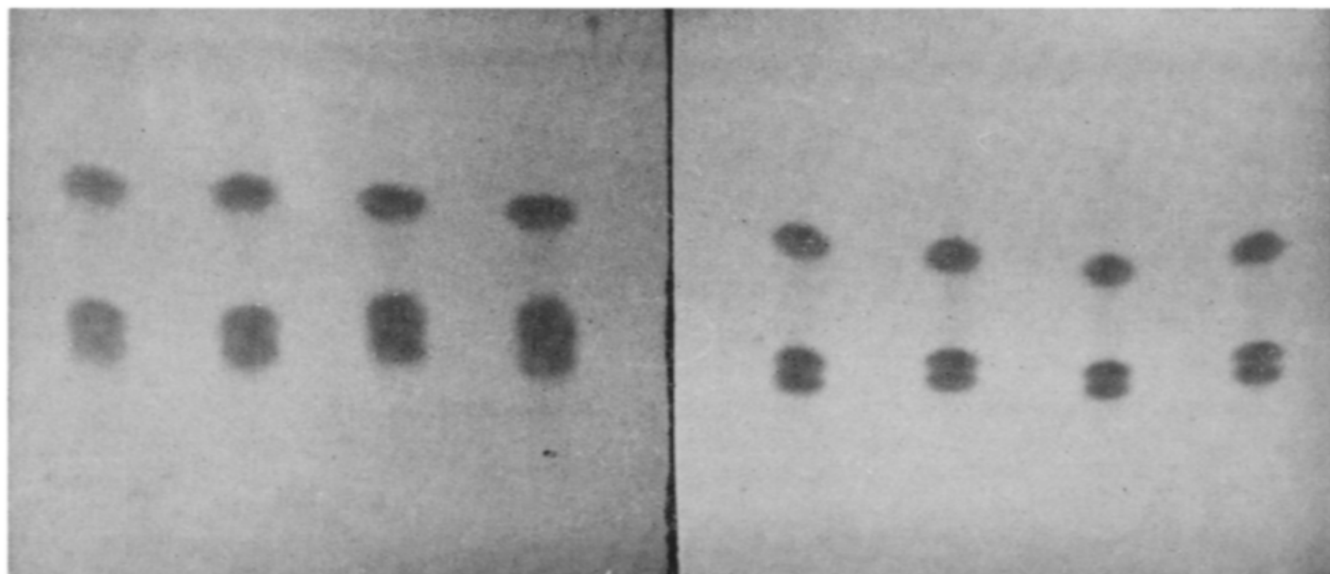


Fig. 1. Steroidtrennung an Schichten verschiedener Stärke. Sorptionsmittel: Kieselgel GF₂₅₄; linke Seite, Schichtdicke 100 μ ; rechte Seite, Schichtdicke 250 μ . Aufgetragene Substanzmengen: 20 μ g Reichsteins Substanz S, 20 μ g Hydrocortison, 20 μ g Prednisolon. Fließmittel: Chloroform-Methanol (90:10).

Man erkennt ferner, dass auch der U.V.-Nachweis auf dem rechten Chromatogramm schärfer, also auf der dickeren Schicht empfindlicher ist als auf der dünneren. Die Flexibilität bringt also keinen Vorteil, wenn gleichzeitig die Beschichtungsstärke zurückgeht. Um anorganische Beschichtungen normaler Stärke von 250 μ oder sogar bis 2 mm herstellen zu können, bedarf es einer starren Unterlage, wobei sich Glas als das chemisch widerstandsfähigste Material erweist.

Das eine Hauptproblem bei der Herstellung von versandfähigen DC-Fertigplatten ist die Wahl eines geeigneten Bindemittels zur Erzielung abriebfester Schichten. So einfach wie bei Cellulose, die in dünner Schicht ohne weiteren Zusatz auf Glas haftet, liegen die Verhältnisse bei den anorganischen Sorptionsmitteln nicht. Häufig wird vergessen, dass auch die bisherigen Sorptionsmittel zum Selbstaustreichen fast ausnahmslos mit einem Bindemittel, meist Gips oder Stärke, versetzt sind, wodurch die Trenneigenschaften des ursprünglichen Sorptionsmittels verändert werden. Gips, das dem Kieselgel meist in Mengen von 5–15 % zugesetzt ist, ist keinesfalls immer inert, lassen sich doch auf reinen Gipsschichten interessante adsorptionschromatographische Trennungen durchführen. Bei der Auswahl geeigneter Bindemittel sollten einem folgende Forderungen klar sein:

(a) Der Binder soll mit dem Sorptionsmittel eine möglichst abriebfeste Schicht bilden, die sich in für den jeweiligen Verwendungszweck optimaler Stärke herstellen lässt.

(b) Die Trenneigenschaften des Sorptionsmittels sollten durch den Binder möglichst wenig beeinflusst werden, der Zusatz sollte also möglichst klein gehalten werden.

(c) Die Laufzeiten in dem mit Binder versehenen Sorptionsmittel sollten nicht zu stark verändert werden.

(d) Die abriebfesten Schichten sollten nach wie vor möglichst universell, besonders auch mit aggressiven Reagenzien besprühbar und erhitzbar sein.

(e) Das Bindemittel, falls organischer Natur, sollte sich mit gebräuchlichen Fließmitteln nicht eluieren lassen.

Ganz allgemein sollte man fordern, dass die Dünnschichtchromatographie auf Fertigplatten alle Vorzüge der selbstgestrichenen Schichten behält. Es gibt nur wenige rein anorganische Bindemittel, wie das Maddrellsche Salz, ein Natriumpolyphosphat, das 1966 von HESSE, ENGELHARDT UND KLOTZ³ zur Trennung von Aminosäuren beschrieben worden ist. Solche Substanzen wären hinsichtlich der Unempfindlichkeit gegen Sprühreagenzien ideal, wenn ihr chromatographisches Verhalten mit dem des eigentlichen Sorptionsmittels übereinstimmte. Bei den organischen Bindemitteln besteht die Gefahr der Eluierbarkeit, ausserdem verfärben sie sich meist beim Besprühen mit aggressiven Reagenzien. Verwendet man Stärke- oder Polyvinylalkoholzusätze, so ist man in der Wahl der Sprühreagenzien beschränkt. Die abriebfesten DC-Fertigplatten sind mit speziellen Sorptionsmitteln beschichtet, die jeweils unterschiedlich, in aufwendiger Vorproduktion hergestellt sind; dabei handelt es sich um eine nach strengen Massstäben standardisierte Beschichtung mit optimalen DC-Eigenschaften.

Neben der Wahl des Beschichtungsmittels ist das zweite Hauptproblem bei der Herstellung von DC-Fertigplatten eine Verbesserung des Beschichtungsvorganges. Optimale Resultate sind nur mit einer völlig homogenen, fehlerlosen Beschichtung zu erzielen. Es bedarf schon einiger Fertigkeit, um homogen beschichtete Platten herzustellen. Die Hauptschwierigkeit ist in der Methode begründet. Das Streichgerät gleitet mit seinen zwei äusseren Auflagestücken über die äusseren Ränder der in eine Schablone hintereinandergelegten Glasplatten. Dabei können bereits geringe Dickenunterschiede von 20 μ zu Streichabsätzen führen oder, wenn man den Übergang beachtet und das Streichgerät an diesen Stellen schwach anhebt, unterschiedliche Schichtdicken resultieren. Beschichtungsgeräte, bei denen die Oberflächen der Platten durch Luft- oder Schaumstoffpolster nivelliert werden, geben nur in geringem Masse Querrillen. Weit günstiger in dieser Hinsicht sind Geräte, bei denen der Streichkopf überhaupt keine Verbindung mehr mit den Glasplatten aufweist, sondern nach Vorschlägen von WOOD UND SNYDER⁴ und VON ARX UND NEHER¹ in einer staubdichten Führung oder auf Stahlschienen an den Seiten entlangläuft. Wenn auch hierbei selbst bei kleinen Plattenformaten keine Querrillen auftreten, so ist die Schichtdicke doch nur dann völlig gleich, wenn die Plattenoberflächen auf der ganzen Länge den gleichen Abstand zum Auslauf aufweisen. Diese Geräte müssen also mit höchster Präzision gefertigt sein.

Die maschinelle Beschichtung, das einzige rationelle Verfahren für eine Grossproduktion erscheint zunächst einfach, ist aber in der Praxis kompliziert. Am Beispiel der Herstellung von DC-Fertigplatten Kieselgel F₂₆₄* soll der Beschichtungsprozess erläutert werden. Das in einer Vorproduktion hergestellte Spezialkieselgel wird dem Fertigungsbetrieb in Mengen zur Herstellung von etwa 100 000 Platten 20 × 20 cm angeliefert. Durch derartige Grossansätze, die aus ausgewählten Rohmaterialien nach festgelegten Vorschriften bereitet sind, wird ein homogenes, auf seine physikalischen, chemischen und chromatographischen Eigenschaften überprüftes Material eingesetzt, was eine der Voraussetzungen für eine standardisierte

* Lieferanten für abriebfeste vorbeschichtete Platten: Anderman and Company Ltd., Tooley Street, London SE 1, England; Brinckmann Instruments Inc., Westbury, N.Y. 11590, U.S.A.; E. Merck AG, 61 Darmstadt, Deutschland.



Fig. 2. Maschinelle Beschichtung von DC-Fertigplatten (Fotografie E. Merck AG, Darmstadt).



Fig. 3. Überprüfung der DC-Fertigplatten nach Austritt aus dem Trockenkanal (Fotografie E. Merck AG, Darmstadt).

Schicht bildet. Auch von Charge zu Charge dürfen die Schwankungen hinsichtlich der spezifischen Oberfläche, des Porenvolumens, der Teilchengrösse und des chromatographischen Verhaltens nur eng begrenzt sein. Die jeweilige Suspension wird in kleineren Ansätzen hergestellt. Rührertyp, Rührgeschwindigkeit, Rührdauer, Temperatur und Zeitpunkt des Ansatzes im Verhältnis zur Streichzeit sind wichtige Faktoren, die die Viskosität der Suspension und damit den Streichvorgang beeinflussen. Als weiterer entscheidender Faktor ist die Wahl und Überprüfung der etwa 1 mm dicken Glasplatten zu nennen, wobei die Forderungen an die Glashütte auf Dickentoleranzen, Planparallelität und Reinheit hoch sind. Nächstwichtig ist der Streichvorgang selbst. Die Schwierigkeiten beginnen bei dem Bau des Streichkopfes und gehen weiter zur Festlegung einer präzisen optimalen Höheneinstellung, zur Regelung des Suspensionsflusses und der günstigen Geschwindigkeitseinstellung der sich bewegenden Platten. Schliesslich ist die Festlegung des optimalen Trocknungsprozesses unter Berücksichtigung der variierenden Temperatur- und Ventilations-einstellungen und der Zeit von Bedeutung. Qualitätsüberprüfung, Schichtdicken-



Fig. 4 Schichtdickenprüfung der DC-Fertigplatten (Fotografie E. Merck AG, Darmstadt).



Fig. 5. Einschweissen der DC-Fertigplatten in Folien (Fotografie E. Merck AG, Darmstadt).

kontrolle, evtl. Zerschneiden in Kleinformat und Verpacken schliessen sich an.

Die Fig. 2-5 sollen die Fertigplattenproduktion veranschaulichen. Die Glasplatten werden in die Spülanlage eingelegt (Fig. 2 Hintergrund), wo sie sich über Rollen fortbewegen. Die Spülung erfolgt intensiv mit Bürsten und Wasserstrahl. Die Platten durchlaufen Trockenwalzen. Dann gelangen sie auf die Zubringerbahn zur Streichstation und werden unter den Streichkopf (Fig. 2) geführt. Die beschichteten Platten werden dann in den Trockenkanal überführt. Am Kanalende (Fig. 3) werden die Platten sofort überprüft und sortiert. Mit einem Spezialdickenmesser, der auf 2μ empfindlich anzeigt, werden die Schichtdicken regelmässig überwacht (Fig. 4). Nach der Reinigung der Plattenränder werden die Platten evtl. noch in kleinere Formate zerschnitten, dann werden die Bündel in eine Folie eingeschweisst (Fig. 5), in Styroporbehälter gelegt und schliesslich in bruchsicherer Wellpappverpackung zum Versand gegeben.

Nur eine Plattenproduktion der beschriebenen Art gewährleistet dem Verbraucher eine standardisierte Chromatographieschicht. Seine Ergebnisse müssten also unter Einhaltung eigener gleicher Bedingungen jederzeit und jedenorts reproduzierbar sein. Obwohl man absolute R_F -Wert-Angaben nicht überbewerten soll, werden bei der DC auf Fertigplatten die anzustrebenden vergleichbaren R_F -Werte in weit höherem Masse erzielt als bisher. Wenn man voraussetzt, dass fast alle Bindemittel auch selbst als Sorptionsmittel wirken, müsste man folgern, dass eine Kieselgel F₂₅₄-Beschichtung einer DC-Fertigplatte andere chromatographische Eigenschaften aufweist als eine Kieselgel G-Beschichtung einer selbst hergestellten Platte. Dennoch stimmen, wenn auch bei speziellen Trennungen gewisse graduelle Unterschiede auftreten können, im allgemeinen die erzielten R_F -Werte auf beiden Beschichtungen gut überein, sofern Platten des gleichen Aktivitätsgrades verwendet werden.

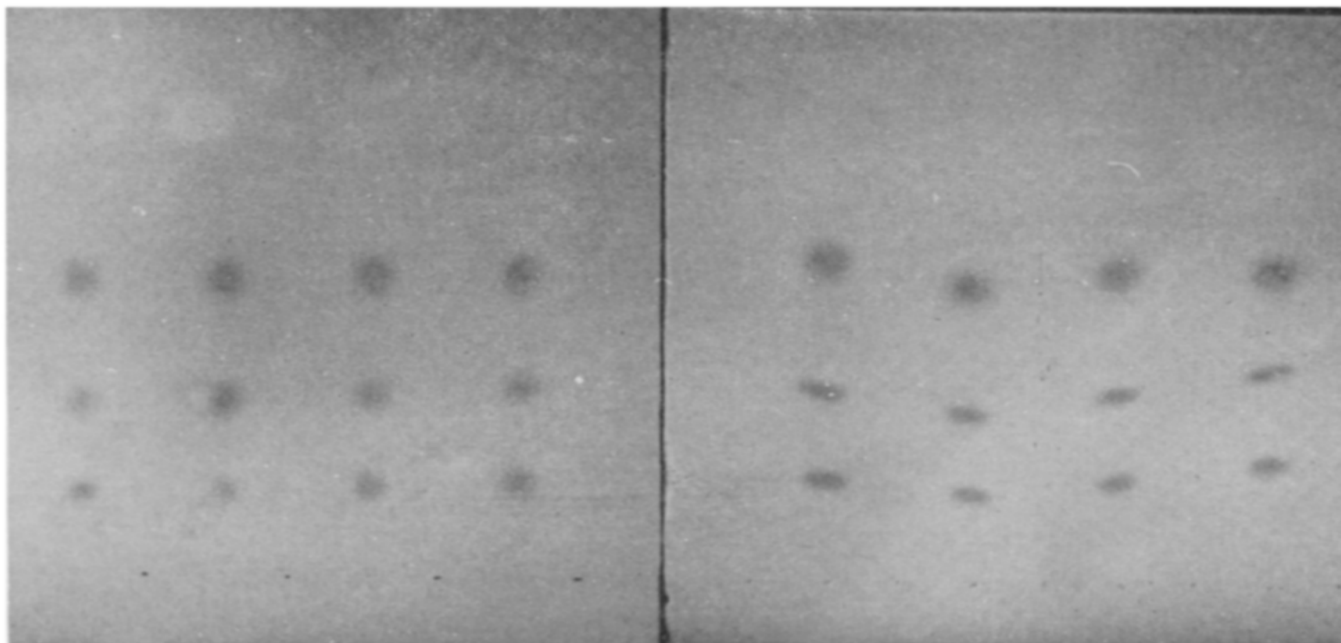


Fig. 6. Steroidtrennung an verschiedenen Schichten. Fließmittel: Chloroform-Methanol (95:5); Laufstrecke 10 cm. Linke Seite: DC-Fertigplatte Kieselgel F₂₅₄; Laufzeit 25 Min.; Rechte Seite: mit Kieselgel GF₂₅₄ beschichtete Platte; Laufzeit 15 Min.

TABELLE I

VERGLEICH DER LAUFZEITEN ZWISCHEN KIESELGEL G-PLATTEN UND DC-FERTIGPLATTEN KIESELGEL F₂₅₄

Fließmittel	Laufhöhen (cm)	Laufzeiten (Min.)		Verlängerungs- faktoren
		Kieselgel G Platten	DC-Fertigplatten Kieselgel F ₂₅₄	
Benzol	2	0.8	2.0	2.7
	4	2.4	5.5	2.3
	6	5.0	9.8	2.0
	8	8.3	15.0	1.8
	10	12.4	21.3	1.7
Chloroform	2	0.8	2.0	2.4
	4	2.7	5.8	2.2
	6	5.5	10.5	1.9
	8	9.2	16.0	1.8
	10	14.8	22.7	1.5
Methanol	2	1.2	3.1	2.6
	4	3.0	7.5	2.5
	6	6.6	15.0	2.3
	8	10.7	23.0	2.2
	10	16.2	32.0	2.0
Methanol- Wasser (50:50)	2	2.5	10.0	4.0
	4	8.0	30.0	3.8
	6	15.8	55.0	3.5
	8	25.3	85.0	3.4
	10	38.0	120.0	3.2

Fig. 6 zeigt eine Steroidtrennung bei einer Laufstrecke von 10 cm, rechts auf einer Schicht mit Kieselgel GF₂₅₄, links auf einer DC-Fertigplatte Kieselgel F₂₅₄. Ausserdem sieht man, dass bei gleichem Fliessmittel die Laufzeit auf der Fertigplatte 25 Min. auf der mit Kieselgel G beschichteten Platte jedoch nur 15 Min. beträgt. Die Laufzeiten werden einerseits von dem Fliessmittel, andererseits von charakteristischen Stoffkonstanten der Sorptionsmittelschicht, also des Sorptionsmittels einschliesslich des Bindemittels bestimmt, wie Porendurchmesser, Porenvolumen, Dichte und Teilchengrösse. Tabelle I vergleicht die Laufzeiten zwischen Kieselgel G-Platten und DC-Fertigplatten Kieselgel F₂₅₄ an verschiedenen Fliessmitteln bei unterschiedlichen Laufhöhen. Bei Benzol beträgt der Verlängerungsfaktor der einen Beschichtung zur anderen nach 2 cm Laufhöhe 2.7, nach 6 cm 2.0 und bei 10 cm nur noch 1.7; bei dieser Laufhöhe sind die absoluten Laufzeiten 12 Min. bzw. 21 Min. Bei Chloroform liegen die absoluten Laufzeiten auf beiden Schichten ähnlich wie bei Benzol, bei Laufhöhen zwischen 2 cm und 10 cm nehmen die Verlängerungsfaktoren von 2.4 auf 1.5 ab. Im Vergleich zu diesen beiden Fliessmitteln läuft Methanol in beiden Schichten langsamer, dabei fällt auf, dass die Verlängerungsfaktoren wohl wieder mit der Laufhöhe abnehmen, aber absolut genommen, höher liegen. Ein Gemisch aus gleichen Teilen Methanol und Wasser läuft auch auf einer Kieselgel G-Schicht langsam, auf der Fertigplatte allerdings noch langsamer, wie man aus den Verlängerungsfaktoren sieht.

Man erkennt, dass mit zunehmender Polarität der Fliessmittel die absoluten Laufzeiten ansteigen, aber auch die Laufzeitunterschiede zwischen den beiden Beschichtungstypen grösser werden. Mit der Höhe der Laufstrecken hingegen verringern sich die Unterschiede. Bei den üblichen Laufhöhen von 10 cm sind bei Verwendung der für die Adsorptionschromatographie gebräuchlichen Fliessmittel die Laufzeiten auf der DC-Fertigplatte 1.5–2 mal so lang wie bei der Kieselgel G-Beschichtung.

Tabelle II zeigt, dass mit einer Fertigplatten-Beschichtung nicht in jedem Fall eine Verlängerung der Laufzeiten im Vergleich zu den selbstgestrichenen Platten einhergeht. Im Beispiel der DC-Fertigplatte Aluminiumoxid F₂₅₄ (Typ E) betragen die Laufzeiten im Durchschnitt nur 80% von denen auf Aluminiumoxid H, während bei der DC-Fertigplatte Aluminiumoxid F₂₅₄ (Typ T) die Laufzeiten wieder verlängert sind. Beide Aluminiumoxidtypen unterscheiden sich in ihrer Herstellung und damit in ihrer Trennwirkung. Auch auf DC-Fertigplatten Cellulose mit ihrer Beschichtung von mikrokristalliner Cellulose des Typs Avicel sind die Laufzeiten im Vergleich zu den mit nativem Cellulosepulver belegten Platten um das 1.6 fache verlängert (Tabelle II). Da in beiden Fällen kein Bindemittel angewandt wurde, ist der Unterschied in den beiden Cellulosesorten selbst begründet. Da mit einer Verlängerung der Laufzeiten die Zahl der theoretischen Trennstufen zunimmt und bis zu einem gewissen Grade auch die Trennwirkung, ist dieser Effekt demnach nicht nachteilig.

Die Trennung auf einer DC-Fertigplatte ist häufig schon befriedigend, ohne dass man die bisher übliche Laufhöhe von 10 cm einzuhalten braucht. Auf Fig. 7 sieht man 2 Chromatogramme, die nach jeweils 18 Min. Laufzeit aus der gleichen Trennkammer genommen wurden. Auf der mit Kieselgel GF₂₅₄ beschichteten Platte ist das Fliessmittel 10 cm, auf der DC-Fertigplatte Kieselgel F₂₅₄ jedoch nur 8 cm hoch gelaufen. Auf beiden Chromatogrammen ist die gleiche Zahl aufgetrennter Substanzen zu erkennen.

TABELLE II

VERGLEICH DER LAUFZEITEN ZWISCHEN ALUMINIUMOXID H-PLATTEN UND DC-FERTIGPLATTEN ALUMINIUMOXID F_{254} (TYP E) UND DC-FERTIGPLATTEN ALUMINIUMOXID F_{254} (TYP T)

Fließmittel	Laufhöhen (cm)	Laufzeiten (Min.)				Verlängerungsfaktoren	
		Aluminium- oxid H Platten	DC-Fertig- platten Alu- miniumoxid F_{254} (Typ E)	DC-Fertig- platten Alu- miniumoxid F_{254} (Typ T)	DC-Fertig- platten Alu- miniumoxid F_{254} (Typ E)	DC-Fertig- platten Alu- miniumoxid F_{254} (Typ T)	
Chloroform	2	1.3	1.0	2.7	0.80	2.1	
	4	3.7	3.2	7.3	0.86	2.0	
	6	7.3	6.0	13.3	0.83	1.8	
	8	12.0	9.9	21.3	0.83	1.8	
	10	18.1	14.8	31.3	0.82	1.7	
Methanol	2	1.9	1.3	4.0	0.69	2.1	
	4	5.0	4.0	10.1	0.80	2.0	
	6	9.4	7.4	18.2	0.79	1.9	
	8	15.0	11.8	29.5	0.79	2.0	
	10	21.5	16.3	45.8	0.76	2.1	

VERGLEICH DER LAUFZEITEN ZWISCHEN PLATTEN MIT NATIVEM CELLULOSEPULVER UND DC-FERTIG-PLATTEN CELLULOSE

Fließmittel	Laufhöhen (cm)	Laufzeiten (Min.)		Verlängerungsfaktoren
		Platten mit nativem Cel- lulosepulver	DC-Fertig- platten Cel- lulose	
Aceton- Essigsäure- Wasser (70:10:20)	2	1.6	3.5	2.2
	4	5.0	9.5	1.9
	6	10.3	17.3	1.7
	8	16.8	26.3	1.6
	10	23.8	38.0	1.6

Als sehr wesentlichen Vorteil einer Fertigplatte hinsichtlich ihres Trennvermögens bietet sich die Möglichkeit an, das Substanzgemisch nicht, wie bisher üblich, nur punktförmig, sondern als Strich auftragen zu können. Man streicht mit einem an beiden Seiten offenen Schmelzpunktröhrchen oder mit einer Mikropipette an einem aufgelegten Lineal entlang und lässt die Flüssigkeit zügig 1–2 cm lang austreten. Eine Verletzung der abriebfesten Schicht an der Startlinie tritt dabei nicht auf. Welcher Trenneffekt mit dieser Technik erzielt werden kann, mag Fig. 8 mit einer Trennung von 10 Aminosäuren auf einer DC-Fertigplatte Cellulose verdeutlichen. Es wurde hierbei eine Platte von nur 10 cm Gesamthöhe benutzt, die eigentliche Laufhöhe betrug 7 cm, wobei sich die Aminosäuren schon innerhalb einer Höhe von nur 3.5 cm trennten. Bei der strichförmigen Auftrageweise wird die Diffusion der Substanzen in das Sorptionsmittel, die bei punktförmigem Auftragen nach allen Seiten erfolgt, deutlich zurückgedrängt und damit der Trenneffekt verbessert.

Besonders vorteilhaft ist es, dass die hohe Festigkeit der Kieselgelbeschichtung der Fertigplatte die Anwendung von wasserhaltigen Fließmitteln erlaubt. Während sich die Kieselgel G-Schicht gerade noch mit 50%igem Methanol entwickeln lässt,

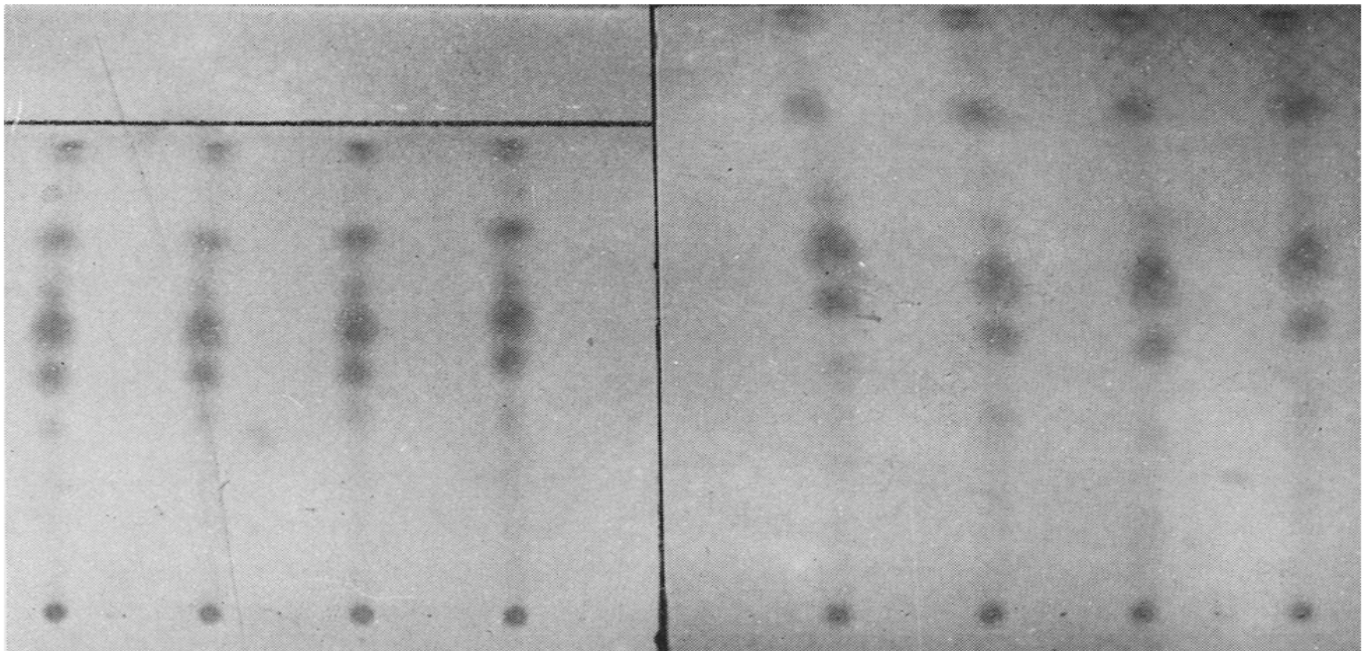


Fig. 7. Trennung eines Rückstandes der Codeinproduktion an verschiedenen Schichten. Lösungsmittel: Chloroform-Methanol (90:10) + NH_3 gasförmig; Laufzeit 18 Min. Linke Seite: DC-Fertigplatte Kieselgel F_{254} ; Laufstrecke 8 cm. Rechte Seite: Mit Kieselgel GF_{254} beschichtete Platte; Laufstrecke 10 cm.

kann man bei einer Fertigplatte Kieselgel F_{254} sogar 10%iges Methanol als Fließmittel verwenden, ohne dass die Schicht beim Einstellen in die Flüssigkeit abblättert. Auch gegen mehrfaches Entwickeln zur Erhöhung der Trennleistung oder für gewisse quantitative Bestimmungen zur Vorreinigung der Schichten sind die Fertigplatten widerstandsfähiger als selbstbeschichtete Platten.

Nur auf abriebfesten DC-Fertigplatten lassen sich die Schichten durch einfaches Tauchen imprägnieren. Man kann diese Imprägnierungen mit Lösungen durch-

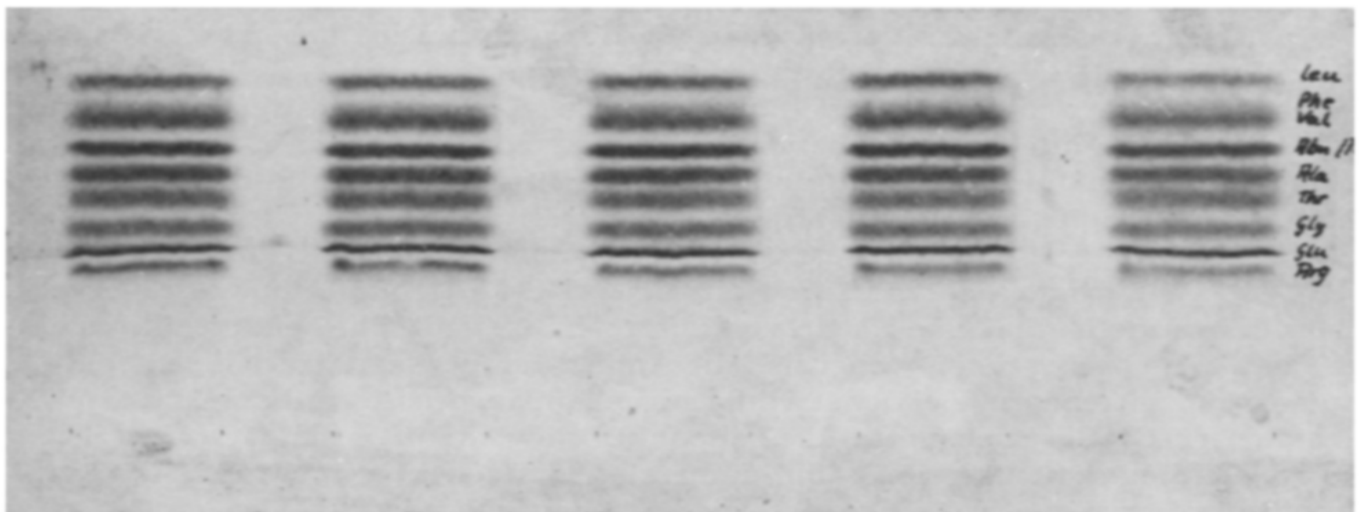


Fig. 8. Trennung von Aminosäuren an einer DC-Fertigplatte Cellulose 10×20 cm; Fließmittel: Aceton-Wasser-Eisessig (70:20:10), zweimalige Entwicklung. Von oben nach unten: Leu, Phe, Val, Abu/Trp, Ala, Thr, Gly, Glu, Arg.

führen, die bis zu 90% Wasser enthalten. Diese einfache Handhabung, die eine stets frische, also voll wirksame Imprägnierung gewährleistet, erweitert die Anwendungsmöglichkeit der DC erheblich, da schwierige Trennungen meist an verteilungschromatographischen Systemen durchgeführt werden.

Durch Imprägnierungen von DC-Fertigplatten, meist mit Kieselgel-Beschichtung, mit Lösungen von Formamid, Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid, Äthylenglykol, 2-Phenoxyäthanol oder diversen Puffern lassen sich hydrophile stationäre Phasen bilden, während Lösungen von flüssigem Paraffin, Undecan, Tetradecan, Mineralölen, Siliconölen oder Äthyloleat zur Erzeugung von lipophilen stationären Phasen dienen. Von besonderer Bedeutung sind Imprägnierungen mit Reagenzien, die Komplex- oder Additionsverbindungen bilden, wie Silbernitrat (Bindung von Silberionen mit den π -Elektronen der Doppelbindung), Borsäure, Natriumborat, Natriumarsenit (Chelatbildung zur Trennung von vicinalen Dihydroxy-Isomeren), Natriumbisulfit (Additionsverbindung mit carbonylgruppenhaltigen Substanzen), Trinitrobenzol und Pikrinsäure (Komplexbildung zur Trennung mehrkerniger Aromaten). Diese Aufzählung lässt sich fast beliebig erweitern. Auch Kombinationen zweier verschiedener Imprägnierungen auf der gleichen Platte, wie sie MANGOLD² z.B. zur zweidimensionalen Fettsäuretrennung beschreibt, sind mit DC-Fertigplatten durch einfaches Tauchen möglich. Dabei wird in einer ersten Chromatographie zunächst auf einem mit Silbernitrat imprägnierten Streifen entwickelt, anschliessend in einer zweiten Chromatographie im rechten Winkel dazu auf einer mit Undecan imprägnierten Schicht. Zum Ausstreichen von Silbernitratschichten sind sonst korrosionsfreie Spezialstreichgeräte erforderlich. An zwei Beispielen soll die Trennwirkung auf imprägnierten Platten im Vergleich zu Normalplatten erklärt werden. Im 1. Beispiel (Fig. 9) geht es um die Trennung der beiden Opiumalkaloide Papaverin und Noscapin, die auf reinem Kieselgel unter den angegebenen Bedingungen nicht durchführbar ist. Auf der durch Äthylenglykol-Imprägnierung hydrophilen stationären Phase ist die Trennung deutlich, wobei sich das Papaverin als stärker hydrophil erweist. Ebenfalls durchführbar ist die Trennung auf der durch Paraffin-Imprägnierung lipophilen stationären Phase, auch hierbei ist Noscapin stärker lipophil. Das folgende

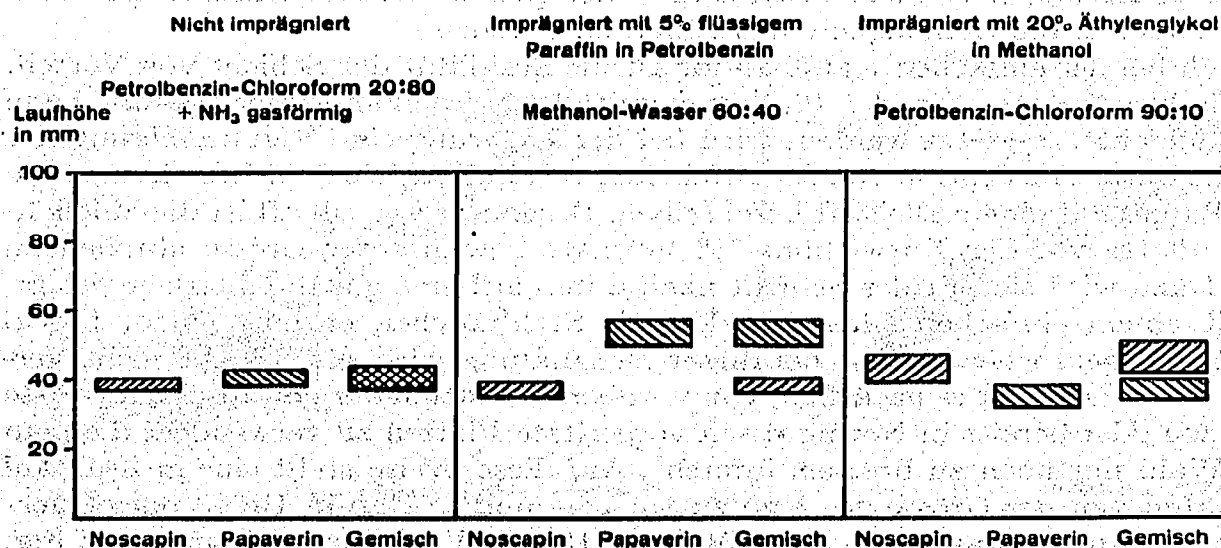


Fig. 9. Trennung von Papaverin und Noscapin an DC-Fertigplatten Kieselgel F₂₅₄.

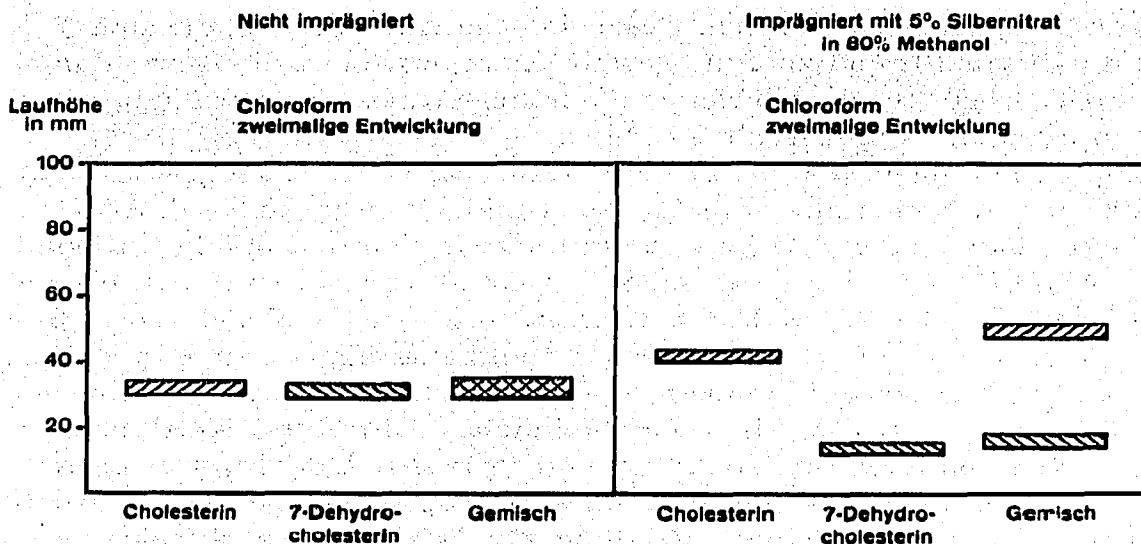


Fig. 10. Trennung von Cholesterin und 7-Dehydrocholesterin an DC-Fertigplatten Kieselgel F₂₅₄.

Beispiel (Fig. 10) zeigt die Wirkung einer Silbernitrat-imprägnierung, sie führt im Gegensatz zur unbehandelten Kieselgelschicht zu einer einwandfreien Trennung von Cholesterin und 7-Dehydrocholesterin.

Auch beim Anfärben der Substanzen bietet eine abriebfeste Schicht Vorteile, einmal durch ihre hohe Widerstandsfähigkeit beim Ansprühen, zum anderen lassen sich die Platten viel bequemer und dabei gleichmässiger im einfachen Tauchverfahren mit der Reagenzlösung versetzen. Dabei erübrigt sich das Besprühen, das wegen der notwendigen feinen Verstäubung unangenehm ist, bei Verwendung toxischer Sprühmittel eine Sprühkammer und einen guten Abzug erfordert und nicht immer zu gleichmässiger Benetzung und damit Anfärbung führt. Die abriebfesten Kieselgelplatten lassen sich zum Substanznachweis selbst in konz. Schwefelsäure tauchen, ohne dass die Schicht abgelöst wird. Selbstverständlich sollte man wie beim Besprühen ein Lösungsmittel wählen, das die getrennten Substanzen nicht herauswäscht, und rein wässrige Lösungen vermeiden. Besonders bei quantitativen Bestimmungen vermag das Tauchen die Genauigkeit wesentlich zu erhöhen.

Auch bei der einfachen Handhabung ist die Stabilität der Schicht von Vorteil. Bereits dadurch, dass man die Platten unmittelbar aufeinanderlegen kann, ohne dass die Schichten verletzt werden, wird bei der Lagerung eine Verunreinigung der Oberfläche durch Adsorption von Staubteilchen verhindert. Die Schichten lassen sich fast wie Papier mit einem Bleistift beschreiben. Besonders vorteilhaft ist die Möglichkeit, die Platte vor der Entwicklung in Formate gewünschter Grösse abteilen zu können. Dazu wird sie mit der Schicht nach unten auf eine glatte Unterlage gelegt, dann mit einem einfachen Glasschneider mit Stahlrädchen entlang einem Lineal angeritzt und gebrochen. Selbst bei dieser Behandlung wird die Schicht nicht verletzt. Noch einfacher ist es natürlich, von vornherein Platten der gewünschten Grösse zu benutzen oder bereits in Normgrössen vorgeritzte Platten zu verwenden, die man je nach Wahl nur noch zu brechen braucht. Auf diese Weise steht eine grosse Zahl an Formaten von der Grösse 20 × 20 zu 10 × 20 und 5 × 20 in Hoch- oder Querformat bis zu 10 × 10 und 5 × 10 als Mikroplatte zur Verfügung, wie man aus Fig. 11 erkennt. Die gute Trennleistung selbst auf kleineren Formaten, in diesem Falle



Fig. 11. Chromatographie an DC-Fertigplatten verschiedener Grösse (Fotografie E. Merck AG, Darmstadt).

zweidimensionale Trennungen von 10 Aminosäuren auf DC-Fertigplatten Cellulose des Formats 10×10 cm, sieht man auf Fig. 12. Auch andere gebräuchliche Techniken lassen sich auf einer abriebfesten Schicht vereinfacht durchführen, die absteigende Methode mit dem Vorteil ihrer längeren Laufstrecke und die Rundfilterchromatographie, bei der man die Platte mit der Schicht nach unten, auf Glasstopfen gestützt, in eine Glaswanne legt und die Verbindung zum Fliessmittel durch einen Filzdocht herstellt. Auch für dünnschichtelektrophoretische Trennungen ist die hohe Stabilität der DC-Fertigplatten günstig. Sie erlaubt ein festes Aufpressen der Stromübertra-

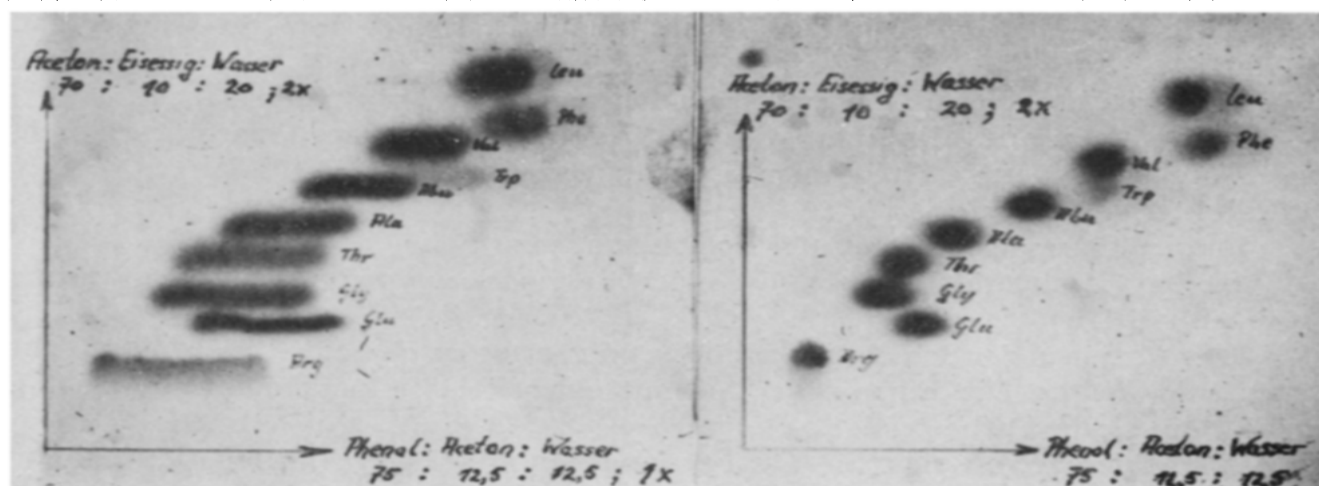


Fig. 12. Zweidimensionale Trennungen von Aminosäuren an DC-Fertigplatten Cellulose 10×10 cm. Von oben nach unten: Leu, Phe, Val, Try, Abu, Ala, Thr, Gly, Glu, Arg.

gungsstreifen auf die Schicht. Die Pufferlösung wird vorher durch Besprühen, Tauchen oder Aufsaugen auf die Kieselgel- oder Celluloseplatten aufgebracht.

Ebenso lassen sich quantitative Bestimmungen auf DC-Fertigplatten vorzüglich durchführen. Zur Verbesserung von Trennung und Nachweis empfiehlt sich auch hier das strichförmige Auftragen, bei dem weniger Fehlermöglichkeiten auftreten. Bei der indirekten Auswertung, der Bestimmung nach Extraktion, lassen sich die getrennten Substanzbänder trotz der härteren Schicht mit einem stabilen Metallspatel durch mehrfaches Entlangschaben scharf abheben, ohne dass Begleitstoffe mit erfasst werden. Voraussetzung für gute Ergebnisse aller direkten Methoden, wie

visuelle Auswertung im Bereich der Grenzkonzentration,

Messung angefärbter Substanzen in Transmission, evtl. nach Dazwischenschalten eines Kontaktfilms,

Messung angefärbter Substanzen in Remission,

Messung U.V.-absorbierender Substanzen in Remission,

Messung fluoreszierender Substanzen,

Auswertung von radioaktiv markierten Verbindungen,

sind einheitlich beschichtete Platten. Transmissions- und Fluoreszenzmessungen in beiden Plattenrichtungen bei $\lambda = 600$ nm bzw. bei $\lambda = 525$ nm nach Anregung mit der Quecksilberlampe bei $\lambda = 255$ nm beweisen die Überlegenheit von DC-Fertigplatten Kieselgel F₂₅₄ zu selbstgestrichenen Platten. Leistungsfähige Geräte, wie Chromatogramm-Spektralphotometer und Chromatogramm-Scanner stehen für Auswertungen zur Verfügung, durch sie wird der Wert der DC-Methode noch erheblich gesteigert. Die Vorzüge der Fertigplatten bei der Messung markierter Verbindungen ergeben sich besonders aus der glatten Oberfläche der Schicht, wodurch der Abstand des Zählrohrs zur Schicht auf ein Minimum gesenkt und damit das Auflösungsvermögen erhöht werden kann. Selbst geringste Tritium-Aktivitäten können auf diese Weise gemessen werden. Auch besteht bei der abriebfesten, glatten Oberfläche keine Gefahr, dass Kieselgelpartikel elektrostatisch an den Zähldraht angezogen werden.

Wie bei einem Papierchromatogramm, so wird man auch bei einem Chromatogramm auf einer beschichteten Platte bemüht sein, wichtige Ergebnisse festzuhalten. Dazu stehen indirekte Methoden zur Verfügung, wie

schriftliches Niederlegen der Resultate durch Angabe von R_F -Werten und Färbungen,

Kopieren des Chromatogramms auf Normal- oder Transparentpapier,

Fotografieren des Chromatogramms, bevorzugt nach dem Polaroidverfahren,

Fotokopie, Xerographie- oder Lichtpausverfahren,

und direkte Methoden, wie

unmittelbares Übertragen der Schicht auf eine Folie,

Konservierung der Schicht mit einer Polymerlösung und evtl. Verstärkung mit einer Folie.

Das Abziehen der Schicht ist zeitaufwendig, erfordert Geschick und führt nicht immer zum Erfolg. Die Einzelaufnahme mit einer Polaroidkamera ist nicht billig, zumal wenn sie in Farbe erfolgt.

Auch hier zeigen sich die DC-Fertigplatten überlegen, können sie doch im Original in dem mitgelieferten Styroporkasten aufbewahrt werden. Platten, die mit aggressiven Reagenzien besprüht worden sind, kann man mit einer leeren Glasplatte

abdecken und evtl. an den Seiten verkleben. Die auf diese Weise dicht aufeinanderliegenden Chromatogramme sind gegen Luft- und selbstverständlich gegen Lichtwirkung geschützt und lassen sich so über lange Zeiträume aufbewahren. Zweckmässig ist es, die Chromatogramme nach Sachgebieten zu ordnen. Etwa 1000 Originalchromatogramme finden in einem Schrankfach von etwa 45 cm Seitenlänge übersichtlich in Styroporkästen geordnet Platz.

Eine wichtige Frage für den Verbraucher ist der Kostenvergleich zwischen selbstgestrichenen und DC-Fertigplatten. Dabei stellt sich heraus, dass die Verwendung von DC-Fertigplatten nicht nur für ein einzelnes Labor bei kleinem Bedarf, sondern auch für ein grosses chemisches Werk bei grossem Gesamtbedarf lohnend ist.

Noch günstiger gestalten sich die Berechnungen für die Fertigplatte, wenn man in Betracht zieht, dass infolge von Streichfehlern bei der Selbsterstellung nicht alle Platten voll verwendbar sind, ausserdem die Fertigplatten sich besser ausnutzen lassen und zusätzliche Kosten bei der Dokumentation ersparen. Es sollten auch weitere indirekte Vorteile der Benutzung von Fertigplatten nicht übersehen werden, wie

Platzersparnis im Labor

(die üblichen Beschichtungsschablonen sind über einen Meter lang),
kein Verschmutzen des Labors und keine Belästigung durch Sorptionsmittelstaub beim Abwiegen und durch Suspensionsreste auf dem Arbeitstisch,

Zeitersparnis bei der Chromatographie

(die Fertigplatten sind sofort einsatzbereit und die Fachkraft wird für wertvollere Arbeit frei).

Als Fertigplatten für analytische Zwecke stehen bisher an anorganischen Beschichtungen neben Kieselgel zwei verschiedene mit Typ E und Typ T bezeichnete Aluminiumoxide in jeweils 250μ starker Beschichtung zur Verfügung. Beide Typen unterscheiden sich in ihrem Herstellungsverfahren und damit auch in ihren Trenneigenschaften. Der Typ E ist z.B. für den Nachweis von Insektiziden gut geeignet, während der Typ T zur Trennung gewisser isomerer Verbindungen bevorzugt wird. An organischen Beschichtungen ist neben Cellulose als Anionenaustauscher eine Polyäthylenimin-Cellulose z.B. zur Trennung von Nucleotiden erwähnenswert.

Auch für präparative Trennungen sind Beschichtungen von Kieselgel mit 2 mm Schichtdicke und von Aluminiumoxid des Typs T mit 1.5 mm Schichtdicke im Format 20×20 cm eingeführt. Diese lassen sich auch für die Plattenformate von 40, 60, 80 und 100 cm verwenden, wenn man sie mit ihrer Rückseite auf einer Glas- oder Aluminiumplatte entsprechender Länge befestigt. Um ein ungleichmässiges Entwickeln der Substanzbänder zu verhindern, muss man zuvor an jeder der Stossstellen 0.5 cm der Schicht in der ganzen Höhe mit einem Spatel entfernen.

Einige wenige charakteristische Trennbeispiele sollen die Anwendungsmöglichkeiten der verschiedenen Beschichtungen andeuten. Zunächst zwei Beispiele aus der klinischen Diagnostik mit einer Lipidtrennung aus Serumextrakt auf einer DC-Fertigplatte Kieselgel F₂₅₄:

Fliessmittel: (1) Entwicklung mit Hexan-Chloroform (25:75) 12 cm hoch

(2) Entwicklung mit Chloroform-Methanol (95:5) 5 cm hoch

Nachweis: Besprühen mit 20%iger Lösung von Molybdätdiphosphorsäure in Äthanol, dann 2 Min. auf 120° erhitzen

Steighöhen: Cholesterinester	etwa 7 cm
Triglyceride	etwa 5 cm
Cholesterin	3-4 cm
freie Fettsäuren	1-2 cm

und der Auftrennung der verschiedenen Cholesterinester aus Serumextrakt auf einer DC-Fertigplatte Kieselgel F₂₅₄:

Fließmittel: viermalige Entwicklung mit Petroleumbenzin-Chloroform (90:10) je 10 cm hoch

Nachweis: Besprühen mit 20%iger Lösung von Molybdätophosphorsäure in Äthanol, dann 2 Min. auf 120° erhitzen

Steighöhen: Cholesterinester	
der gesättigten Fettsäuren	3-4 cm
Cholesterinester	
der einfach ungesättigten Fettsäuren	etwa 3 cm
Cholesterinester	
der zweifach ungesättigten Fettsäuren	2-3 cm
Cholesterinester	
der dreifach ungesättigten Fettsäuren	1-2 cm

Auf Fig. 13 sieht man die Trennung einiger Nucleotide auf DC-Fertigplatten PEI-Cellulose F, und zwar von Adenosinmonophosphat, -diphosphat und -triphosphat. Fig. 14 demonstriert die analytische Trennung zweier strukturell ähnlicher Steroidpaare auf DC-Fertigplatten Aluminiumoxid F₂₅₄ (Typ T), nämlich von Dehydroepiandrosteron und Androsteron sowie von Testosteron und 17-epi-Testosteron, eine Trennung, die sich weder auf Aluminiumoxid F₂₅₄ (Typ E) noch auf Kieselgel durchführen lässt. Fig. 15 zeigt die entsprechende Trennung auf einer PSC-Fertigplatte Aluminiumoxid F₂₅₄ (Typ T) mit einer Schichtdicke von 1.5 mm. Auf Fig. 16 sind einige Trenngesäße für die präparative Schichtchromatographie auf PSC-Fertigplatten zu sehen, rechts Einsätze zur Aufnahme von 5 Platten für die normalen Glasgefäße bestimmt, daneben eine Spezialekammer zur Aufnahme von 10 Platten 20 × 20 cm, daneben Gefäße für 40 cm und 100 cm Plattenlänge.

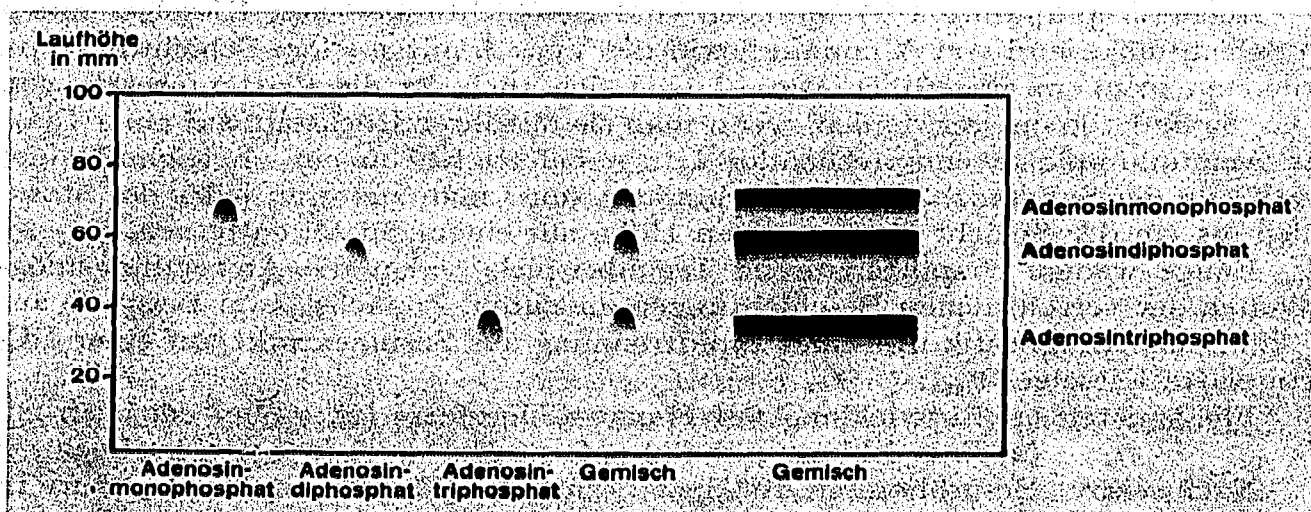


Fig. 13. Trennung einiger Nucleotide an einer DC-Fertigplatte PEI-Cellulose F. Fließmittel: 1.5 M NaCl.

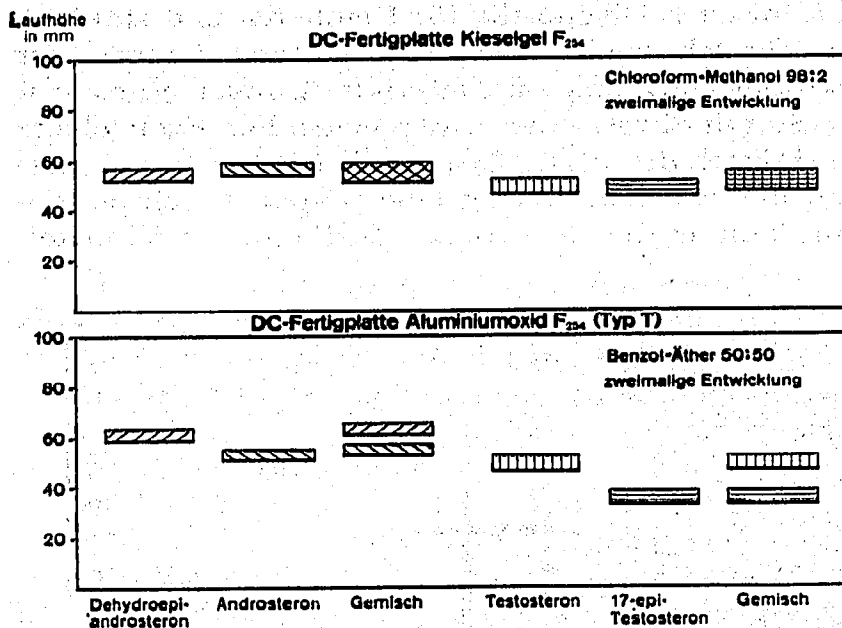


Fig. 14. Trennung einiger Steroide an DC-Fertigplatten.

Durch die Benutzung von DC-Fertigplatten findet die Dünnschichtchromatographie noch breitere Anwendung vor allem für die Grenzgebiete der Chemie zur Biologie, Medizin, Pharmazie und Lebensmittelchemie. Die Normung der Platten und ihre Bequemlichkeit in der Handhabung lassen erwarten, dass für medizinisch-

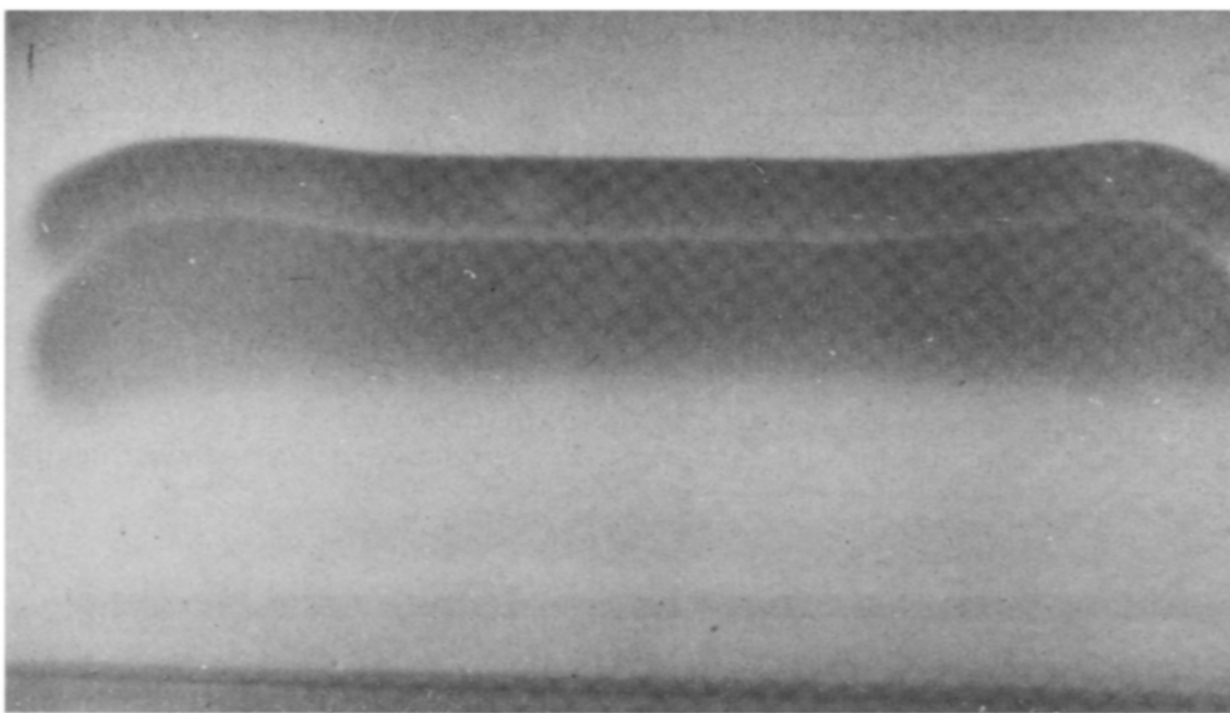


Fig. 15. Präparative Trennung einer Steroidmischung an einer PSC-Fertigplatte Aluminiumoxid F₂₅₄ (Typ T). Aufgetragene Substanzen: 100 mg einer Mischung von Testosteron und 17-epi-Testosteron; Fließmittel: Benzol-Äther (50:50), viermalige Entwicklung.

chemische Untersuchungen in der klinischen Diagnostik, für Reinheits- und Haltbarkeitsprüfungen von Arzneimitteln, für lebensmittelchemische Untersuchungen, für Rückstandsbestimmungen im Pflanzenschutz und für Materialprüfungen Vorschriften erstellt werden und diese in Standardwerke der entsprechenden Fachgebiete Eingang finden. Der Organiker wird durch die Fertigplatte noch leichter in die Lage versetzt, seine Reaktionen selbst zu überwachen. Falls er eine präparativ-chromatographische Aufarbeitung vornimmt, kann er die analytischen Bedingungen unmittel-

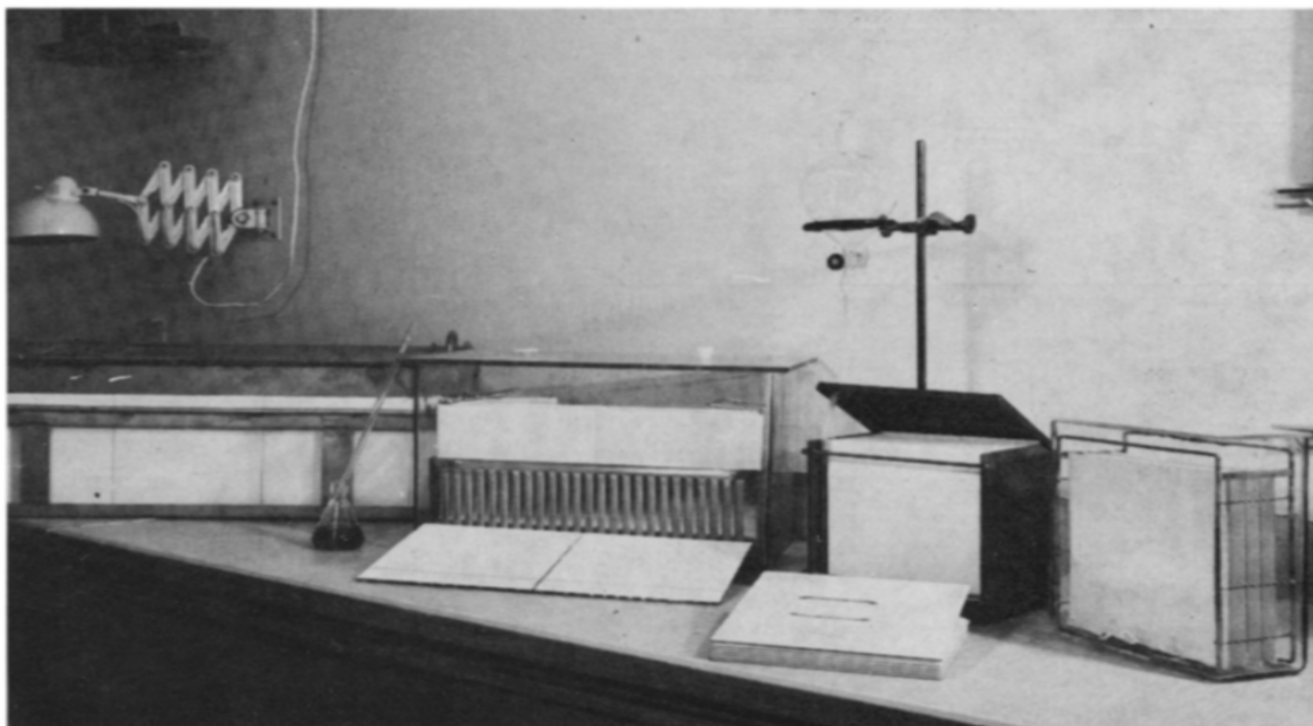


Fig. 16. Trenngefäße für die präparative Schichtchromatographie auf PSC-Fertigplatten.

bar von der Fertigplatte auf die Schicht oder die Säule übertragen, wofür entsprechende Sorptionsmitteltypen zur Verfügung stehen. Auch der Analytiker, der sich seit langem dünn-schichtchromatographischer Methoden bedient, benutzt gern DC-Fertigplatten, um durch die verfeinerten Methoden der Imprägnierung und durch grössere Auswahl neuer Sorptionsmittel seine Probleme flexibler lösen zu können. Auch wird er durch die Fertigplatten zur Durchführung quantitativer Bestimmungen evtl. in Verbindung mit anderen Methoden, wie I.R.-Spektroskopie, Massenspektrometrie und Gaschromatographie angeregt werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verwendung abriebfester, maschinell hergestellter, standardisierter Schichten ermöglicht eine Rationalisierung der Laborarbeit und bietet Vorteile bei der Auftragechnik, der Imprägnierung, dem Substanznachweis und der quantitativen Auswertung.

LITERATUR

- 1 E. VON ARX UND R. NEHER, *J. Chromatog.*, 25 (1966) 109.
- 2 J. M. CUBERO UND H. K. MANGOLD, *Microchem. J.*, 9 (1965) 227.
- 3 G. HESSE, H. ENGELHARDT UND D. KLOTZ, *Z. Anal. Chem.*, 215 (1966) 182.
- 4 R. WOOD UND F. SNYDER, *J. Chromatog.*, 21 (1966) 318.

DISCUSSION

JORK: If I am going to make some remarks concerning reproducibility of R_F values, layer, duration of run etc. in prefabricated TLC plates or foils, they may perhaps sound negative, but let me state beforehand that I am fully aware of the advantages and convenience of their manipulation and that I am not going to deny them. Deliberately do I emphasize this fact, but all the same, I should like to pose the question of reproducibility of layer thickness.

If I address myself primarily to you, Dr. HALPAAP, it is because I should like to link up with your paper. Basically, however, my question concerns the representatives of all the houses supplying prefabricated TLC plates or foils. What are the differences in layer thickness of the individual plates?

HALPAAP: Normally $\pm 5\%$, referring to a mean thickness of $250 \mu\text{m}$. Initially the random errors were admittedly greater.

JORK: What are then the variations of the layer thickness within the same TLC plate?

KLAUS: These range about $\pm 5 \mu\text{m}$, as we could establish by transmission measurement.

JORK: Thank you for the information. But I am afraid, it does not quite agree with the results of our investigation. At the moment I am unable to explain it. Three to four months ago, in more than 1000 measurements, we found greater differences. These investigations were made within the frame of a special search into direct quantitative evaluation of thin-layer chromatograms. Perhaps I have the opportunity to go into the matter in more detail the day after tomorrow.

PROCHÁZKA: We have to keep in mind that the sharpness of the spots depends on several factors. Diffusion was already mentioned. In adsorption chromatography it is somewhat less important than in partition chromatography. The second factor is the size and shape of the particles, *i.e.* their surface area. The third factor in the dynamic process of chromatography is the adsorption equilibrium. When the mobile phase is running through the chromatogram at too great a rate, there is not sufficient time for the chromatographed substance to adsorb on and desorb from the adsorbent surface and therefore the spots become elongated. It is possible that this adsorption equilibrium effect is the cause of the sharper spots on commercial thin-layer plates, because the solvent moves more slowly on them. It is evident that the particle size and shape and the flow rate are interdependent.

PETROWITZ: Better separations on prefabricated layers are achieved on account of prolonged running times, at least in the separations of the samples which we have examined. Whether this can be generalized remains to be solved by further experiments.

DE LIGNY: I agree with Dr. PETROWITZ that the sharper spots obtained on "Fertigplatten" are caused by the lower flow rates obtained on these plates as compared to normal thin-layer plates.

According to the Van Deemter equation an optimal flow rate exists at which HETP is minimal. This is the flow rate at which the contributions to peak broadening of longitudinal diffusion and of resistance to mass transfer are equal. This occurs in thin-layer chromatography when the eluent travels at a rate of approximately 10 cm/h which is about the case on "Fertigplatten".

GEISS: I should like to remark that the main topic of the Symposium has been reproducibility. I think it can be concluded that better reproducibility of R_F values can undoubtedly be achieved on prefabricated plates.

BRENNER: The discussion all turns round "Fertigplatten". Has anyone tried "unfertige Platten"?

J. Chromatog., 33 (1968) 144-164