

## ZIRKULAR- UND RADIALTECHNIK IN DER DÜNNSCICHT-CHROMATOGRAPHIE

PAUL WOLLENWEBER

*Macherey, Nagel & Co., D-516 Düren, Postfach 307 (Deutschland)*

## SUMMARY

*Circular and radial techniques in thin-layer chromatography*

The efficiency of radial and circular chromatography on POLYGRAM sheet<sup>s</sup> ready-for-use was demonstrated by the separation of food colours, phenolic compounds, catecholamine and serotonin metabolites, hypnotics and condensed phosphates. Sheets coated with native fibrous cellulose, acetylated cellulose, polyamide and silica gel were used. The ready-for-use sheets can be used without any preliminary treatment, such as activation.

It was shown that differences in development techniques do not cause any fundamental difference in the separation. Circular and radial chromatography give bands that are more sharply separated than those obtained in ascending chromatography. With radial chromatography 5–10 times more material can be applied to the layer than for the ascending procedure, with circular chromatography it is up to 100 times more. The use of radial and circular techniques is particularly advantageous for the separation of large amounts of a substance A in the presence of small amounts of a substance B. The technique described in this paper merits particular attention because of its simplicity and sharpness of separation.

In der Papier-Chromatographie (PC) wurde neben der auf- und absteigenden Entwicklungsmethodik vor allem die Rundfilter-Chromatographie in ihren verschiedensten Formen eingesetzt. Es handelt sich bei letzterer um eine horizontale\* Technik, die sowohl in Form der Zirkular- als auch der Radial-Chromatographie Anwendung fand. Wenn auch in der Literatur die Anwendung der Zirkular- und Radial-Entwicklung in der Dünnschicht-Chromatographie (DC) schon früh<sup>2-5</sup> erwähnt wird, so hat sie bisher kaum Beachtung gefunden, weil die apparative Anordnung entweder zu einfach oder aber zu aufwendig war.

Mit fortschreitender Entwicklung der dc-Technik, insbesondere im Zuge der

\* Neben der horizontalen Zirkulartechnik hat in der DC eine von BRENNER UND NIEDERWIESER<sup>1</sup> entwickelte horizontale Technik breitere Anwendung gefunden. Diese Methodik entspricht im wesentlichen der aufsteigenden Chromatographie, d.h. man trägt die Substanzflecken punkt- oder strichförmig nebeneinander auf einer Geraden auf und führt das Laufmittel mittels einer Filtrierpapierzunge, deren Länge der Schichtbreite entspricht, der horizontal gelagerten Platte zu.

maschinellen Herstellung von Schichten in Form von Fertigfolien, sollte man sich der guten Dienste der Zirkular- und Radialtechnik in der Papier-Chromatographie wieder erinnern, und diese Technik in grösserem Masse auch in der DC einsetzen. Gerade die Fertigfolien gestatten mit geringstem Aufwand und ohne grosses Geschick die Anfertigung von Zirkular- und Radial-Chromatogrammen.

Mit Zirkulartechnik möchte ich diejenige Methode bezeichnen, bei der das zu trennende Substanzgemisch und das Laufmittel in der Mitte einer kreisrunden oder quadratischen Fertigfolie aufgetragen bzw. zugeführt werden. Die Substanzen verteilen sich bei der Trennung ringförmig um den zentral angebrachten Punkt der Laufmittelzufuhr (Vgl. Fig. 1).

Unter Radialtechnik sei diejenige Methodik verstanden, bei der die Laufmittel-

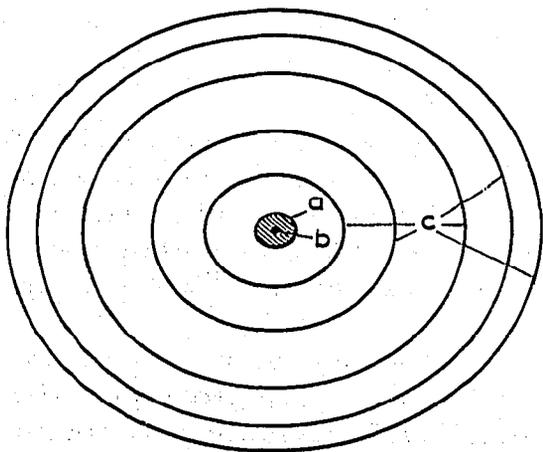


Fig. 1. Schematische Darstellung der Zirkulartechnik. a = Substanzfleck; b = Laufmittelzufuhr; c = konzentrische Substanzausbreitung.

zufuhr wie bei der Zirkulartechnik in der Mitte erfolgt, die Substanzproben—es können im Gegensatz zur Zirkulartechnik mehrere sein—jedoch auf einem Kreis von etwa 2–3 cm Durchmesser um den Laufmittelzufuhrpunkt strichförmig aufgetragen werden. Die Substanzen verteilen sich bei der Trennung in radial um den Mittelpunkt angeordnete Banden (Vgl. Fig. 2).

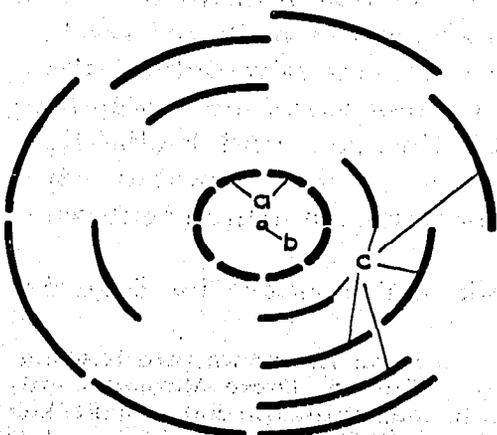


Fig. 2. Schematische Darstellung der Radialtechnik. a = Substanzflecken, strichförmig; b = Laufmittelzufuhr; c = radiale Substanzausbreitung.

Bei der Zirkular- und Radialtechnik fließt das Laufmittel nicht nur in der Bewegungsrichtung der zu trennenden Verbindungen über das Chromatogramm, sondern breitet sich gleichzeitig senkrecht dazu aus. Hierdurch werden die Substanzen quer zur Laufrichtung auseinandergezogen und überlagern sich selbst bei geringen Unterschieden ihrer Wanderungsgeschwindigkeit nicht. Spuren von Beimischungen, die in üblichen Chromatogrammen von der Hauptsubstanz meistens zugedeckt werden, sind im Radial- und Zirkular-Chromatogramm nachweisbar. Eine mit der Radialtechnik vergleichbare Methode ist die Keilstreifen-Chromatographie.

In der einfachsten Form, nämlich ohne Kammer, wurde die Zirkulartechnik bereits 1938 von IZMAILOV UND SCHRAIBER<sup>2</sup> angewendet. Ebenfalls ohne Kammer arbeiten MEINHARD UND HALL<sup>3</sup>. In der Mitte des punktförmig aufgetragenen Substanzfleckes erfolgt die Laufmittelzufuhr mit Hilfe einer Pipette, die auf der horizontal gelagerten Platte – Schicht nach oben – aufsteht. STAHL<sup>5</sup> schlug vor, diese einfachste Technik der Zirkular-Chromatographie zur Ermittlung des geeignetsten Laufmittels auszunutzen. Dazu trägt man das zu trennende Substanzgemisch punktförmig im Abstand von einigen Zentimetern nebeneinander auf. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels setzt man jeweils auf die Fleckmitte eine mit Elutionsflüssigkeit gefüllte Kapillare. Die austretende Flüssigkeit breitet sich kreisförmig aus und trennt gegebenenfalls das Substanzgemisch auf. Bei der Zirkular-Chromatographie ohne Kammer dampft das Laufmittel schnell ab und man erhält Rundchromatogramme von nur wenigen cm Durchmesser. Diese Methode ist für orientierende Versuche zu empfehlen.

Bei der eigentlichen Zirkular- und Radialtechnik muss man in geschlossenen Systemen arbeiten. Für fest haftende Sorptionsschichten schlägt STAHL<sup>5,6</sup> zwei Systeme gemäss Fig. 3 vor. Bei Verfahren A liegt die zentral durchbohrte Glasplatte

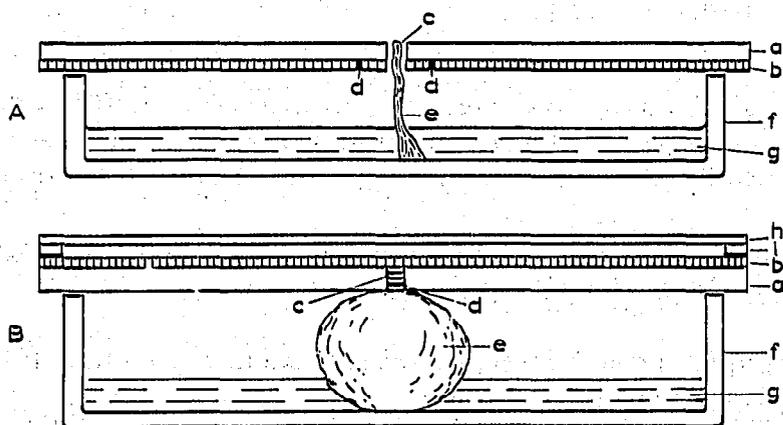


Fig. 3. Schematische Darstellung von zwei Geräteanordnungen zur Zirkular- und Radialtechnik nach STAHL. a = Glasplatte; b = Schicht; c = Bohrung; d = Substanz; e = Watte; f = Trog; g = Laufmittel; h = Deckplatte; i = Glasleiste.

mit der Schichtseite auf einer mit Fließmittel beschichteten flachen Schale von entsprechendem Durchmesser. Die Verbindung zwischen Fließmittel und Schicht wird durch einen Docht aus Watte hergestellt. Bei Verfahren B benutzt man eine sogenannte Vortrennsäule. Die zentral durchbohrte Glasplatte liegt diesmal mit der Schichtseite nach oben. Die Lochbohrung ist mit Sorptionsmittel ausgefüllt. Das zu

trennende Substanzgemisch wird auf der nicht beschichteten Seite auf die Vortrennsäule aufgegeben. Die Laufmittelzufuhr erfolgt durch einen Wattebausch, dem zwischen Vortrennsäule und Boden der Schale eingeklemmt ist. Zur Vermeidung von Laufmittelverlusten wird die Schicht mittels einer Glasplatte, die auf Glasleisten ruht, abgedeckt.

In der Literatur werden noch einige Vorrichtungen zur Zirkular- und Radialtechnik in der DC beschrieben, doch weichen diese nur unerheblich von den besprochenen Vorrichtungen ab. Alle diese Verfahren weisen Nachteile auf gegenüber dem in dieser Arbeit beschriebenen Verfahren zur Zirkular- und Radialtechnik mit Fertigfolien, z.B.

durchbohrte Platten müssen in grösserer Anzahl vorhanden sein,  
 durchbohrte Platten müssen beschichtet werden,  
 eine 2 mm-Bohrung in Glasplatten lässt sich technisch schwierig anbringen und ist daher teuer,

es ist eine grosse Laufmittelkammer und damit viel Laufmittel erforderlich.

Die für die Zirkular- und Radial-Chromatographie mit Fertigfolien erforderliche Vorrichtung (Vgl. Fig. 4) besteht aus 5 Bauelementen, und zwar aus:

(1) Einem Laufmitteltrog mit einer plan geschliffenen Auflagefläche. Solche

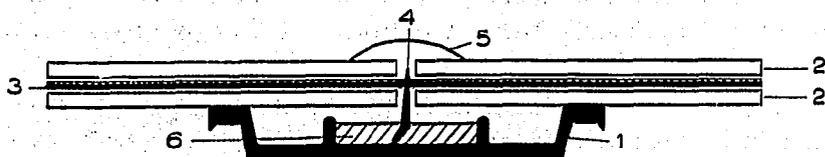


Fig. 4. Schematische Darstellung einer Vorrichtung zur Radial- und Zirkular-Chromatographie mit Fertigfolien. 1 = Laufmitteltrog; 2 = Glasplatten mit Bohrung; 3 = Fertigfolie; 4 = Docht; 5 = Uhrglas; 6 = Laufmittel.

Gefässe sind sehr preiswert im Handel\* zu haben. Der mit Laufmittel zu füllende Trog hat ein Fassungsvermögen von etwa 5 ml. Darüber hinaus besitzt er ein Leervolumen von etwa 25 ml. Die ringförmige Auflagefläche von 13 mm Breite hat einen max. Durchmesser von 11 cm.

(2) Zwei Glasplatten rund oder quadratisch von etwa 20 bis 22 cm Durchmesser mit zentralen Bohrungen von 5 mm. Dicke der Glasplatten: 4–5 mm.

(3) Einer Fertigfolie.

(4) Einem Docht aus Filtrierpapier oder besser aus einem dicken weichen Filtrierkarton, z.B. Karton MN 866, von etwa 2 cm Länge.

(5) Einer Kappe zum Abdecken der Bohrung der oberen Platte (kleines Uhrglas, Objektträger u.ä.).

Nachdem man die Substanzen entweder zentral oder radial – bei ersterer Methodik als runden Fleck, bei letzterer strichförmig, nicht punktförmig – aufgebracht hat, durchsticht man die Folie mit einer Nadel genau in der Mitte – und zwar von der beschichteten zur unbeschichteten Seite –, und zieht durch das entstandene Loch einen Docht. Die Folie mit Docht – Schicht nach oben – legt man so zwischen

\* z.B. bei Macherey, Nagel & Co., D-516 Düren.

die durchbohrten Glasplatten, dass der Docht frei hängt. Das Glasplattenpaar mit der dazwischen liegenden Folie legt man so auf den Laufmitteltrog, dass der Docht in das Laufmittel eintaucht. Die Bohrung der Abdeckplatte wird durch ein Uhrglas abgedeckt, damit kein Laufmittel verdunsten kann. Das Laufmittel steigt durch den Docht hoch und die chromatographische Entwicklung beginnt.

Vorteile der Zirkular- und Radialtechnik nach der beschriebenen Anordnung:

(1) Kammersättigung und die mit ihr bedingten Schwierigkeiten bezüglich Reproduzierbarkeit entfallen.

(2) Randeffekte entfallen.

(3) Die getrennten Substanzen verteilen sich vollkommen zentrisch um den Mittelpunkt und gestatten dadurch eine sichere Zuordnung der Vergleichssubstanzen (mit dem Zirkel können Kreise geschlagen werden).

(4) Die Dauer der Entwicklung—abhängig vom Dochtmaterial und der Dochtstärke—kann je nach Problem variiert werden. Die Entwicklungszeiten liegen je nach Dochtgrösse und Laufmittel in der Grössenordnung von 30–90 Minuten.

(5) Mehrfach-Entwicklung ist möglich.

(6) Durchlauf-Chromatographie ist möglich. Am Plattenrand kann durch die Laufmittelverdunstung eine Anreicherung der Substanzen erfolgen.

(7) Durch Abdecken oder Ausschneiden einzelner Segmente können Zirkular- und Radial-Chromatogramme wie bei jeder anderen Entwicklungstechnik mit verschiedenen Nachweisreagenzien besprüht werden.

#### TRENNBEISPIELE

##### (1) Trennung von Lebensmittelfarbstoffen auf Cellulose-Schichten

*Testlösung.* 0.1 %ige Lösung je Farbstoff in Wasser. Das Gemisch besteht aus den Farbstoffen: Erythrosin J; Brillantschwarz BN; Echtrot E; Naphtholrot S; Gelborange S; Brillantponceau 4 RC; Tartrazin; Scharlach GN.

*Auftragsmenge.* Aufsteigende Chromatographie 0.5–1.0–1.5–2.0  $\mu$ l; Radial-Chromatographie 0.5–1.0  $\mu$ l; Zirkular-Chromatographie 2.0  $\mu$ l.

*Schicht.* Cellulose MN 300 oder MN 300 UV<sub>254</sub> als Fertigfolien POLYGRAM CEL 300 bzw. CEL 300 UV<sub>254</sub>.

*Laufmittel.* 2.5 %ige Natriumcitratlösung–25 %iges Ammoniak–Methanol (20:5:3, v/v).

*Laufzeit.* 30 Minuten bei aufsteigender Methodik, 60–90 Minuten bei Radial- und Zirkulartechnik.

*Nachweis.* Kein besonderer Nachweis erforderlich. Die einzelnen Farbstoffe erscheinen in der Reihenfolge wie oben angegeben von unten nach oben bzw. von innen nach aussen.

#### Diskussion

Die Trennungen bei der aufsteigenden Methodik sind bei Auftragsmengen von 0.5–2  $\gamma$  je Farbstoff scharf getrennt. Halbquantitative Aussagen sind durch Abschätzung der Fleckengrösse möglich. Die Radial-Chromatogramme zeichnen sich durch scharfe Banden mit weiten Abständen aus. Bei Einteilung des Radial-Chromatogramms in 16 Segmente ist eine Auftragung von 1  $\gamma$  je Farbstoff als optimal anzusehen. Bei der Zirkular-Methodik erzielt man eine sehr scharfe Trennung bei

Auftragung von 2  $\gamma$  je Farbstoff. Auftragung von mehr als 10  $\gamma$  je Komponente führt zu Überlappungen der Kreise.

(2) *Trennung von phenolischen Verbindungen auf Polyamid-Schichten*

*Testlösung.* 0.1 bzw. 1 %ige Lösung je Komponente in Äthanol: (1) 3-Methylphenol; (2) 2,5-Dimethylphenol; (3) 8-Oxychinolin; (4) 8-Oxydiphenyl; (5) Gemisch aus 1 bis 4.

*Auftragsmenge.* Aufsteigende Chromatographie 0.5–1.0–1.5–2.0  $\mu$ l einer 0.1 %igen Lösung; Radial-Chromatographie 0.5–1.0–2.0  $\mu$ l einer 1 %igen Lösung; Zirkular-Chromatographie 1  $\mu$ l einer 1 %igen Lösung.

*Schicht.* MN Polyamid-DC 11 als Fertigfolie.

*Laufmittel.* Methanol–Wasser (3:1, v/v).

*Laufzeit.* 30 Minuten bei aufsteigender Chromatographie, 60–90 Minuten bei Radial- und Zirkular-Chromatographie.

*Nachweis.* Nach dem Trocknen des Chromatogramms (10 Minuten bei 105°) wird besprüht mit 0.4 %iger Lösung 2,6-Dibromchinonchlorimid in Methanol; danach wird wieder getrocknet und besprüht mit 10 %iger Lösung von Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 30 %igem Methanol. Erneut trocknen. Die getrennten Substanzen erscheinen als leuchtend blaue Flecken auf fast weissem Untergrund.

*Diskussion*

Bei der aufsteigenden Chromatographie lassen sich Substanzmengen von 0.5  $\gamma$  ohne Schwierigkeiten erkennen, 1  $\gamma$  als Auftragsmenge ist zu empfehlen, 2  $\gamma$  als Auftragsmenge sollte man nicht überschreiten, da sonst Fleckenüberlappung auftritt. Halbquantitative Aussagen sind möglich, da sich die Flecken von 0.5–1–1.5 und 2  $\gamma$  sowohl durch die Fleckengröße als auch durch die Fleckenintensität unterscheiden.

Bei der Radial-Chromatographie kann man bei Aufteilung in 8 Segmente etwa die 10 fache Menge auftragen. Besonders bei stark unterschiedlichen Gehalten an Einzelkomponenten ist die Radialtechnik sehr zu empfehlen.

Bei Anwendung der Zirkulartechnik lassen sich neben 100  $\gamma$  Substanz A noch 1  $\gamma$  der Substanz B klar erkennen.

(3) *Trennung von Katecholamin- und Serotoninmetaboliten auf Cellulose-Schichten*

*Testlösung.* Gemisch aus Vanillinmandelsäure (DL-4-Hydroxy-3-methoxy-mandelsäure) 6 mg; 5-Hydroxy-3-indolylessigsäure (Fluka) 10 mg; Homovanillinsäure (Fluka) 5 mg; Vanillinsäure (Fluka) 5 mg; Isopropanol–Wasser-Gemisch (1:9) ad 10 ml. Im Kühlschrank aufbewahrt und nicht unnötig lange dem Licht ausgesetzt ist die Testlösung 10 Tage haltbar.

*Auftragsmenge.* Bei aufsteigender Entwicklung 0.5–1.0–1.5–2.0  $\mu$ l der o.a. Lösung; bei Radial- und Zirkulartechnik 1 bzw. 3  $\mu$ l der o.a. Lösung.

*Laufmittel.* Essigester–Isopropanol–25 %iges Ammoniak (3:5:2, v/v).

*Durchführung.* Entwickelt wird beim aufsteigenden Verfahren zweimal 10 cm mit dem vorerwähnten Laufmittel. Zwischen beiden Entwicklungen bleibt die Platte 30 Minuten bei Zimmertemperatur waagrecht liegen. Nach der zweiten Entwicklung wird wieder 30 Minuten bei Zimmertemperatur getrocknet und dann mit 2,6-Dichlorchinonchlorimid besprüht (s. Nachweis). Bei Radial- und Zirkulartechnik genügt einmalige Entwicklung.

**Laufzeit.** Zweimal 45 Minuten bei aufsteigendem Verfahren, 60 bis 120 Minuten bei Radial- und Zirkulartechnik.

**Schicht.** Cellulose MN 300 UV<sub>254</sub> als Fertigfolie POLYGRAM CEL 300 UV<sub>254</sub>.

**Nachweis.** Nach dem 2. Lauf lässt man die Schicht an der Luft trocknen und besprüht aus 30 cm Entfernung mit 2,6-Dichlorchinonchlorimid-Lösung (0.05 g in 50 ml Methanol). Dunkel und kühl aufbewahrt, ist das Nachweisreagenz 3 Tage haltbar. Die Schicht wird kräftig besprüht und getrocknet. Danach wird die Schicht solange konzentriertem Ammoniak ausgesetzt, bis die Flecken intensiv gefärbt sind.

Die getrennten Substanzen erscheinen wie folgt (von unten nach oben bzw. von innen nach aussen): Vanillinmandelsäure blau-violett; Hydroxyindolessigsäure violett-grauviolett; Homovanillinsäure schwachbraun (nach etwa 1 Std. bewerten); Vanillinsäure blass-grauviolett.

Die Fleckenfärbung ist abhängig von der Substanzmenge und der Zeit, in der man die Schicht dem Ammoniak ausgesetzt hat.

### *Diskussion*

Nach DITTMANN<sup>7</sup> kann zur Prüfung auf pathologische Ausscheidung von Vanillinmandelsäure der Harn ohne vorherige Isolierung des Metabolites aufgetragen werden. Ob dies auch mit den anderen drei hier aufgeführten Metaboliten möglich ist, wurde nicht näher untersucht.

Bei diesem Trennbeispiel zeigen Radial- und Zirkulartechnik den Vorteil, dass man mit einmaliger Entwicklung bereits scharfe Trennungen erzielt, während bei der aufsteigenden Methode eine zweimalige Entwicklung erforderlich ist. Während bei der aufsteigenden Chromatographie auch bei geringen Auftragsmengen ein leichtes tailing auftritt, erzielt man beim Radial- und besonders beim Zirkular-Chromatogramm scharf getrennte Banden.

### *(4) Trennung von Schlafmitteln auf Kieselgel-Schichten*

Sollen Schlafmittel im Harn nachgewiesen werden, so ist es erforderlich, die Schlafmittel mittels Ätherextraktion zu isolieren. Dies kann wie folgt durchgeführt werden:

25 ml Harn werden mit 1 N Salzsäure auf einen pH-Wert von 3 bis 4 (pH-Papier) eingestellt und in einem Scheidetrichter dreimal nacheinander mit je 30 ml Äther ausgeschüttelt, wobei nur kurz und nicht zu stark geschüttelt werden soll. Etwa entstehende Emulsionen trennt man dadurch, dass man aus einer Pipette 0.5 bis 1 ml Benzol längs der inneren Scheidetrichterwand einlaufen lässt. Der verschlossene Scheidetrichter wird dann einmal ruckartig auf und ab bewegt, wobei sich die Phasen trennen. Die vereinigten Ätherextrakte werden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und zur Trockne eingedampft. Den Rückstand füllt man mit Methanol auf 1 ml auf.

**Testlösung.** In 100 ml Methanol werden je 100 mg der nachstehenden Schlafmittel gelöst: Thiogenal, Revonal, Prominal, Luminal, Veronal.

**Schicht.** MN-Kieselgel N-HR/UV<sub>254</sub> als Fertigfolie POLYGRAM SIL N-HR/UV<sub>254</sub>.

**Auftragsmenge.** Von einer 0.1 %igen methanolischen Lösung 1  $\mu$ l bei aufsteigender Entwicklung; 3  $\mu$ l bei Radial-Entwicklung; 5  $\mu$ l bei Zirkular-Entwicklung.

**Laufmittel.** Methanol-Wasser (1:1).

*Laufzeit.* 30 Minuten bei aufsteigender Methodik, 60–90 Minuten bei Radial- und Zirkulartechnik.

*Nachweis.* (1) Im kurzwelligen U.V.-Licht sind die Substanzen als blauviolette Flecken auf grünem Untergrund sichtbar. Die Beurteilung sollte möglichst unmittelbar nach der Entwicklung erfolgen, da die Intensität der Fluoreszenz bald nachlässt.

(2) Anfärbung mit Quecksilber(II)-chlorid-Diphenylcarbazon-Lösung:

2 g Quecksilber(II)-chlorid werden zu 100 ml in Äthanol gelöst. Ebenso werden 0.2 g Diphenylcarbazon zu 100 ml in Äthanol gelöst. Anteile beider Lösungen werden erst unmittelbar vor Gebrauch im Volumenverhältnis 1:1 gemischt. Unmittelbar nach dem Besprühen sollte die Beurteilung erfolgen mit Ausnahme von Revonal. Der Fleck von Revonal erscheint erst nach etwa 10 Minuten.

Die getrennten Substanzen erscheinen als rosafarbene Flecken auf violetterm Untergrund wie folgt (von unten nach oben bzw. von innen nach aussen): Thiogenal, Revonal, Prominal, Luminal, Veronal.

Es sei darauf hingewiesen, dass die Flecken nur unmittelbar nach dem Anfärben klar sichtbar sind; sie verblassen sehr rasch.

### *Diskussion*

Da die  $R_F$ -Werte der vorgenannten Schlafmittel verhältnismässig nahe zusammenliegen, zeigt die Radial-Chromatographie sehr scharfe Trennungen. Sie ist der aufsteigenden Methodik vorzuziehen.

### (5) *Trennung von kondensierten Phosphaten auf Cellulose-Schichten*

*Testlösung 1.* Etwa gleiche  $P_2O_5$ -Anteile von Mono-, Di-, Tri-, Trimeta-, Tetrameta- und langkettigem Phosphat.

Genauere Konzentrationsangaben liegen nicht vor, da uns die Testlösungen freundlicherweise von der Chemischen Fabrik Budenheim zur Verfügung gestellt wurden.

*Testlösung 2.* 1%ige wässrige Lösung von Tri- und Tetrametaphosphat.

*Testlösung 3.* 2%ige wässrige Lösung von mittelkettigen Phosphaten vom Kondensationsgrad  $n = 2$  bis  $n = 9$ . (Testlösung 3 wird von der Chemischen Fabrik Budenheim unter der Bezeichnung Budex 9 geführt.)

*Auftragsmenge.* 0.5 bis 1  $\mu$ l der o. a. Testlösungen. Während des Auftrags der Testlösungen muss mit Föhn zwischentrocknet werden, damit der Auftragsfleck möglichst klein bleibt.

*Laufmittel.* 75 ml Methanol p.a.; 20 ml einer Lösung aus 700 ml Isopropanol p.a. und 100 ml dest. Wasser; 25 ml einer Lösung aus 125 g Trichloressigsäure p.a. und 32 ml 25 %igem Ammoniak p.a. mit dest. Wasser auf 1000 ml aufgefüllt; 6 ml einer Lösung aus 200 ml Eisessig 96 %ig p.a. und 800 ml dest. Wasser (Vgl. RÖSSEL<sup>8</sup>).

*Laufzeit.* 60 Minuten bei aufsteigender Entwicklung, 90 Minuten bei Radial- und Zirkular-Entwicklung.

*Schicht.* Cellulose MN 300 als Fertigfolie POLYGRAM CEL 300.

*Nachweis.* Nach der Entwicklung trocknet man das Chromatogramm bei 105° während etwa 5 Minuten. Danach erfolgt Besprühen mit Sprühreagenz 1, Trocknung bei 105° während 5 Minuten, Besprühen mit Sprühreagenz 2 und wieder Trocknung

bei 105° während 5 Minuten. Bei ungenügender Blaufärbung der Flecken kann der Nachweisvorgang in der angegebenen Reihenfolge wiederholt werden.

Die Phosphate erscheinen als blaue Flecken (von oben nach unten bzw. von aussen nach innen) in der Reihenfolge gemäss Testlösung 1.

*Sprühreagenz 1:* 3 g Ammoniummolybdat  $\cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  + 255 ml dest. Wasser + 30 ml 1 N HCl + 15 ml  $\text{HClO}_4$  (60 %ig).

*Sprühreagenz 2:* 0.2 g  $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  + 5 ml konz. HCl + 250 ml dest. Wasser. Sprühreagenz 2 ist nicht haltbar und muss stets frisch hergestellt werden.

### Diskussion

Die Trennqualität ist stark von der Auftragsmenge abhängig, dies gilt besonders für das aufsteigende Verfahren. Während bei der aufsteigenden Chromatographie 0.5  $\mu\text{l}$  der o. a. Testlösungen saubere Trennungen mit nicht deformierten Flecken liefert, können bei Radial-Chromatogrammen mit 8 Segmenten 1  $\mu\text{l}$  aufgetragen werden. Radial- und Zirkulartechnik können für die Trennung von Phosphaten sehr empfohlen werden.

### (6) Trennung von mehrkernigen aromatischen Kohlenwasserstoffen (KWn) auf acetylierter Cellulose

*Testlösungen.* 0.1 %ige Lösung je KW in Chloroform: 1 = 1,2,3,4-Dibenzpyren; 2 = Perylen; 3 = Chrysen; 4 = Decacyclen; 5 = 1,2-Benzanthracen; 6 = Pyren; 7 = 20-Methylcholanthren; 8 = Tetracen; 9 = Picen; 10 = Fluoranthen; 11 = Fluoren; 12 = Phenanthren; 13 = Anthracen; 14 = Acenaphthen.

*Auftragsmenge.* 0.2–4.0  $\mu\text{l}$ ; die Auftragsmengen müssen von Substanz zu Substanz variiert werden, da die KWe eine unterschiedliche Fluoreszenzintensität aufweisen.

*Schicht.* Cellulose MN 300 AC-10 K als Fertigfolie POLYGRAM CEL 300 AC-10.

*Laufmittel.* Dioxan-Wasser (1:1, v/v).

*Laufzeit.* 60 Minuten bei aufsteigender Methodik; 60–120 Minuten bei Radial- und Zirkular-Chromatographie.

*Nachweis.* U.V.-Licht bei 254 bzw. 350 nm.

### Diskussion

Es sollte untersucht werden, ob sich ein Gemisch aus mehrkernigen Aromaten mit Hilfe der Radial- und Zirkular-Chromatographie besser auftrennen lässt als mit der aufsteigenden Chromatographie. Zunächst wurde das Verhalten der zur Verfügung stehenden Einzelsubstanzen mittels aufsteigender Chromatographie geprüft. Es zeigte sich, dass die meisten Substanzen mehrere, meist runde Flecken aufwiesen. Bei der Radialtechnik zeigte sich ein analoges Bild.

Die Trennung von Gemischen der mehrkernigen Aromaten führte bei keiner Entwicklungsmethodik zu dem erwarteten Erfolg. Es traten stets nur noch einige wenige Flecken auf, auch dann, wenn gemäss dem Chromatogramm der Einzelkomponenten ein ideales Gemisch zusammengestellt wurde, das zahlreiche, sauber voneinander getrennte Flecken hätte zeigen müssen. Eine Erklärung für diese Erscheinung konnte noch nicht gefunden werden. Eine Zersetzung der Substanzen scheint nicht ausgeschlossen<sup>9</sup>.

## ZUSAMMENFASSUNG

An der Trennung von Lebensmittelfarbstoffen, phenolischen Verbindungen, Katecholamin- und Serotonin-Metaboliten, Schlafmitteln und kondensierten Phosphaten wird die Leistungsfähigkeit der Radial- und Zirkular-Chromatographie auf POLYGRAM-Fertigfolien geprüft. Es gelangen Folien zum Einsatz, die mit nativer faserförmiger Cellulose, acetylierter Cellulose, Polyamid und mit Kieselgel beschichtet sind. Die Fertigfolien können ohne jede Vorbehandlung, wie beispielsweise Aktivieren, eingesetzt werden.

Es kann gezeigt werden, dass die Verschiedenartigkeit der Entwicklungstechniken keine grundlegenden Unterschiede in der Trennung bringen. Rund- und Radial-Chromatographie liefern schärfer getrennte Banden als die aufsteigende Chromatographie. Bei der Radial-Chromatographie kann man das 5- bis 10 fache der Menge auftragen wie beim aufsteigenden Verfahren, bei der Zirkular-Chromatographie bis zur 100 fachen Menge. Besonders vorteilhaft ist die Anwendung der Radial- und Zirkular-Technik bei der Trennung grosser Mengen einer Substanz A neben geringen Mengen einer Substanz B. Wegen ihrer problemlosen Handhabung und wegen der erzielbaren hohen Trennschärfe verdient die hier beschriebene Technik besondere Aufmerksamkeit. Bei der Zirkular- und Radialtechnik sind die  $R_F$ -Werte in der Regel stets grösser als bei der aufsteigenden Technik. Es gilt die allgemeine Formel

$$(R_F)_{\text{circ.}} = \sqrt{(R_F)_{\text{lin.}}}$$

## DANK

Meinen Mitarbeiterinnen Fräulein F. von MONTIGNY und Frau H. DUDA möchte ich für die gewissenhafte Mitwirkung bei den experimentellen Arbeiten danken.

## LITERATUR

- 1 M. BRENNER UND A. NIEDERWIESER, *Experientia*, 17 (1961) 237.
- 2 N. A. IZMAILOV UND M. S. SCHRAIBER, *Farmatsiya (Moskau)*, 3 (1938) 1.
- 3 J. E. MEINHARD UND N. F. HALL, *Anal. Chem.*, 21 (1949) 185.
- 4 L. PEYRON, *Bull. Soc. Chim. France*, (1958) 889; *Chim. Anal. (Paris)*, 43 (1961) 364; *Bull. Soc. Chim. France*, (1962) 891; *Chim. Anal. (Paris)*, 45 (1963) 186.
- 5 E. STAHL *Chemiker-Ztg.*, 82 (1958) 323; *Parfüm. Kosmetik*, 39 (1958) 564.
- 6 E. STAHL, *Dünnschicht-Chromatographie. Ein Laboratoriumshandbuch*, 2. Auflage, Springer-Verlag, 1967, S. 74-75.
- 7 J. DITTMANN, *Z. Klin. Chem.*, 4 (1966) 265.
- 8 T. RÖSSEL, *Z. Anal. Chem.*, 197 (1963) 333.
- 9 M. N. INSCOE, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 2505.

## DISCUSSION

DE GRAAF: May I be allowed to make a remark about Dr. WOLLENWEBER's paper? According to my experience the separation is better with the radial technique than with plates in S chambers, but the  $R_F$  values are changed. With the radial technique, high  $R_F$  values from the S chamber are depressed and the lower  $R_F$  values increased. The advantage of a sharper separation is thus jeopardized.

HAIS: Until now, the expressions circular, ring, and disk chromatography as

well as radial development (and sometimes radial chromatography as well) have been applied to the same procedure, without differentiating modifications yielding full circles or circular sections (bows) as their result. Thus Dr. WOLLENWEBER's distinction of the terms circular (derived from the shape of final zones) and radial (derived from the direction of movement) is unusual. Perhaps rings and ring sections ("Ringbogen") might be more in line with present usage. I only mention this to show that standardization of nomenclature, such as Prof. STAHL is going to advocate tomorrow, would serve a useful purpose.

*J. Chromatog.*, 33 (1968) 175-185