

CHROM. 4290

ERFAHRUNGEN MIT AKTIVITÄTSGRADIENTEN IN DER
DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE

F. GEISS, S. SANDRONI UND H. SCHLITT

Euratom, Ispra (Italien)

(Eingegangen am 16. Juli 1969)

SUMMARY

Experiences with activity gradients in thin-layer chromatography

It is shown that some particular separations (hypnotics, dyes) described in the literature were likely to be accomplished not by "parallel" pre-loading gradients of the layer but by other effects, *e.g.* favourable activity, increased solvent transport. In all cases examined, equivalent results could be obtained without any gradient. When chromatograms are developed in unsaturated N-chambers with binary solvent mixtures whose components are very different in polarity, contrary to prior assumptions no parallel gradients but slightly antiparallel ones are formed (*e.g.* with benzene-ethanol, 97:3). Several examples show that it is not at all the same whether a chromatogram is developed by pure or by ethanol-stabilized chloroform.

EINLEITUNG

NIEDERWIESER¹ hat kürzlich ein rationelles System für die Bezeichnung von Gradienten bei chromatographischen Verfahren vorgeschlagen (Fig. 1). Die Richtung des Gradienten wird dabei auf die Fliessrichtung der mobilen Phase bezogen; die Pfeile zeigen in Richtung zunehmender Mobilität der zu chromatographierenden

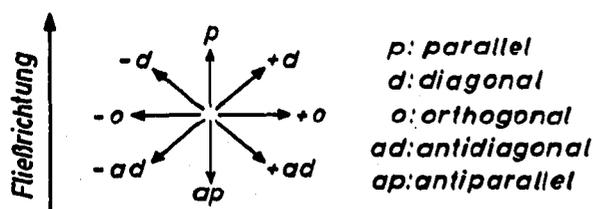


Fig. 1. Rationelle Bezeichnung der Richtung von Gradienten. Bezug: Fliessrichtung.

Substanzen. Ein paralleler Gradient liegt z.B. vor, wenn die "Aktivität" einer DC-Platte in Laufrichtung abnimmt. NIEDERWIESER^{1,2} zeigte ebenfalls, dass die parallele Anordnung prinzipiell unvorteilhaft ist, weil die Flecken in Laufrichtung auseinandergezogen werden (siehe dazu auch Lit. 3). DE ZEEUW⁴⁻¹⁰ hingegen hat über eine Reihe von speziellen Trennungen berichtet, deren Gelingen er ausdrücklich dem

jeweiligen Vorliegen eines parallelen Aktivitätsgradienten zuschreibt, der nahe beieinanderliegende Substanzen unter Trennung auseinanderziehe. Solche parallelen Gradienten sollen sich z.B. immer bilden, wenn in ungesättigten N-Kammern mit Fliessmittelgemischen aus Komponenten unterschiedlicher Polarität entwickelt wird; deshalb seien in solchen Kammern "theoretisch verbesserte Trennungen zu erwarten"⁶. Wir haben eine Reihe der Versuche nachgearbeitet, konnten aber in keinem Fall die speziellen Trenneffekte auf das Vorliegen von p-Gradienten zurückführen.

GRADIENTEN UND UNGESÄTTIGTE N-KAMMERN

DE ZEEUW hat in einer ungesättigten N-Kammer zehn Barbitursäuren mit stabilisiertem Chloroform-Aceton (90:10) getrennt⁷. Wir erhielten unter diesen Bedingungen annähernd die gleiche Trennung (Fig. 2a; vergl. mit Fig. 3 von Lit. 7). Dass diese Auftrennung nicht an die ungesättigte N-Kammer und p-Gradienten gebunden ist, zeigt Fig. 2b: Diese gegenüber Teilbild (a) eher noch verbesserte Auftrennung wurde auf einer Platte erzielt, die in einer Vario-KS-Kammer mit stabilisiertem Chloroform-Aceton (90:10) 15 Min. homogen vorbedampft und dann mit dem gleichen Gemisch 80 Min. durchlaufend chromatographiert wurde. Die Trennung beruht also in beiden Fällen – ausgehend von einer "Grundtrennung" – auf dem erhöhten Fliessmitteldurchsatz, der in unserem Falle durch die Durchlauftechnik und im Falle der ungesättigten N-Kammer⁷ durch die Abdampfung des Fliessmittels von der Schicht in die Kammer erfolgte (s. dazu Fig. 4a). Wenn man die Trennbilder in der gesättigten und der ungesättigten N-Kammer (z.B. Fig. 3 links und rechts in Lit. 7) vergleicht, stellt man fest, dass alle R_F -Werte in der ungesättigten Kammer um den Faktor 1.8 grösser sind, die Trennung ist also lediglich durch den um den Faktor 1.8 grösseren Fliessmitteldurchsatz "herausentwickelt" worden*. Die vorerwähnte Grundtrennung beruht auf der zufällig günstigen Kombination Chloroform-Äthanol-Aceton im richtigen Mischungsverhältnis. Dies zeigte sich, nachdem wir in der Vario-KS-Kammer erfolglos eine Reihe anderer Vorbedampfungs- und Fliessmittelkombinationen probiert hatten. Die Trennung wird schon schlechter, wenn man statt des stabilisierten Chloroforms reines benutzt.

Um die Verteilung der polaren und unpolaren Komponenten eines binären Fliessmittelgemisches auf der Schicht vor und nach der Entwicklung zu bestimmen, haben wir durch eine geeignete Vorrichtung (s. EXPERIMENTELLER TEIL) in unterschiedlichen Höhen "trockene" und fließmittelfeuchte Schichtproben entnommen und gaschromatographisch analysiert. Wir zogen das Gemisch Benzol-Äthanol dem von Chloroform-Aceton vor, um vor Zersetzungserscheinungen sicher zu sein. Die wichtigsten Ergebnisse sind in den Fig. 3a und b zusammengefasst.

Es zeigte sich, dass sich in der ungesättigten N-Kammer bei der Entwicklung mit einem Fliessmittelgemisch wie Benzol-Äthanol (97:3) nicht etwa – wie in der

* Kürzlich wurde die Trennung einiger Hypnotika auf Celluloseschichten beschrieben¹¹, die, wenn man nur die angegebenen R_F -Werte in Betracht zieht, etwa ebenso gut wäre wie die Trennung durch DE ZEEUW⁷, in natura aber wegen prohibitiv ungünstiger Fleckform deutlich unterlegen ist. Die dort¹¹ beklagte Nichtreproduzierbarkeit kann sehr einfach durch Feuchtekontrolle behoben werden. Zudem wird bei hoher Feuchte ($\sim 80\%$ r.F.) die Fleckform wesentlich besser. Nach unseren Ergebnissen erzielt man auf diesen Schichten die besseren Resultate bei 80% r.F. und mit Benzol als Fliessmittel.

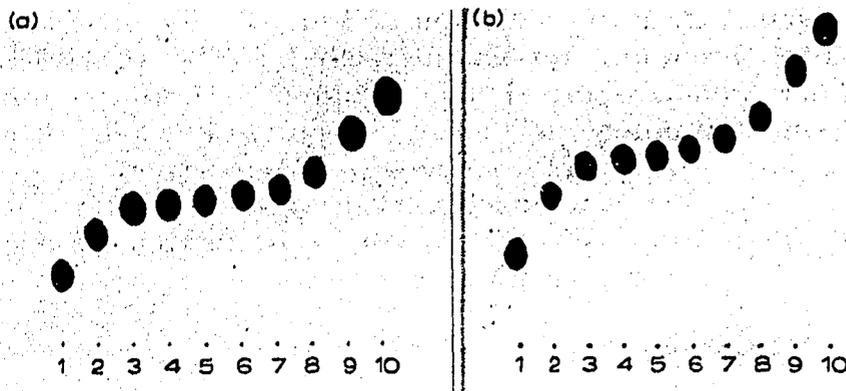
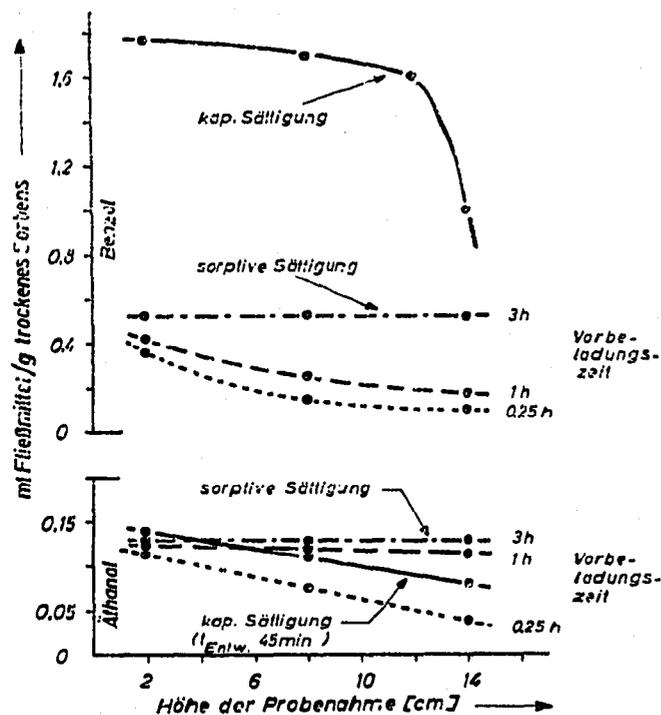
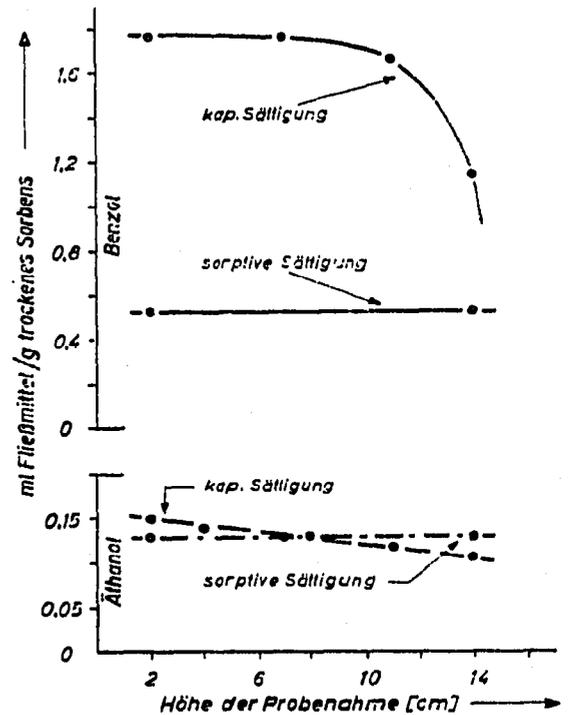


Fig. 2. Trennung von Hypnotika auf Kieselgel HF (Merck). (a) ungesättigte N-Kammer; Fließmittel, stab. Chloroform-Aceton (9:1); 40% r.F. (b) Vario-KS-Kammer; Fließmittel, stab. Chloroform-Aceton (9:1); 15 Min. homogene Vorbedampfung; Durchlaufchromatographie, Σ 100 Min.; offener Schieber; 35% r.F. 1 = Heptobarbital, 2 = Phenobarbital, 3 = Cyclobarbital, 4 = Allobarbital, 5 = Butobarbital, 6 = Pentobarbital, 7 = Ito-barbital, 8 = Secobarbital, 9 = Hexobarbital, 10 = Methyphenobarbital.



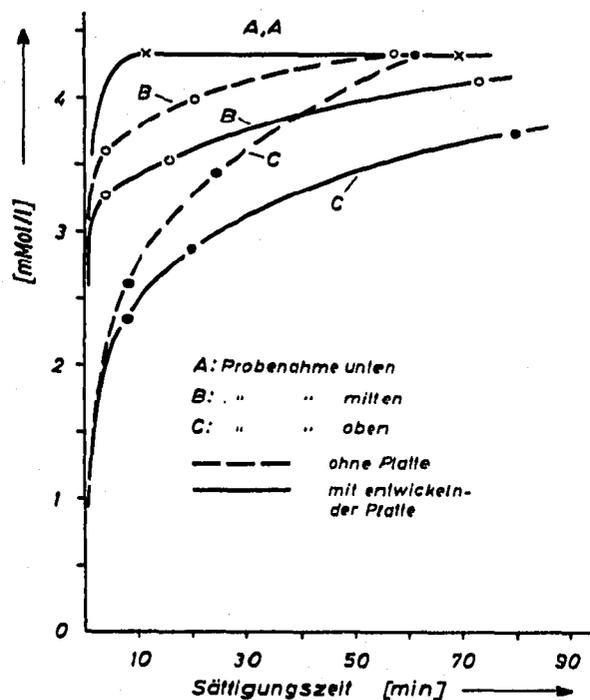
(a) ungesättigte N-Kammer



(b) gesättigte N-Kammer

Fig. 3. Fließmittelkonzentrationen vorbedampfter und entwickelter Kieselgelschichten. Kieselgel G (Merck); Fließmittel, Benzol-Äthanol (97:3). Sorptive Sättigung: Aus dem gesättigten Gasraum maximal adsorbierbare Fließmittelmenge. Kapillare Sättigung: Fließmittelbeladung der Schicht nach der Entwicklung. (a) Ungesättigte N-Kammer (Volumen 3 l) ohne Filterpapierauskleidung. Entwicklung darin sofort nach Einfüllen des Fließmittels begonnen. (b) Gesättigte N-Kammer mit Papierauskleidung.

(a) Benzolkonzentration im Gasraum



(b) Äthanolkonzentration im Gasraum

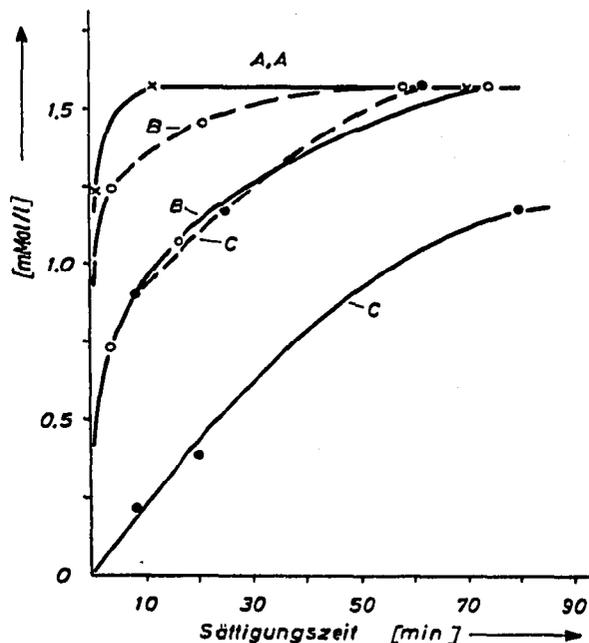


Fig. 4. Kammersättigungen. Probenahmestellen auf Höhe A = 2.5 cm, B = 9 cm und C = 16 cm. Kieselgel G (Merck); ungesättigte N-Kammer; Fließmittel, Benzol-Äthanol (90:10). (a) Einstellung der Kammersättigung bei Benzol. (b) Einstellung der Kammersättigung bei Äthanol. In der gesättigten Kammer ist die Kammersättigung für beide Komponenten \cong 5 Min. nach Einfüllen des Fließmittels und Schütteln der Kammer erreicht.

Literatur vermutet⁷ – ein paralleler, sondern ein schwach antiparalleler Gradient ausbildet (Fig. 3, "kapillare Sättigung"). Nach der Entwicklung befindet sich also "oben" auf der Platte weniger Äthanol pro Gramm trockene Schicht als unten. Das bei Ende der Entwicklung gemessene Konzentrationsprofil verlief auch während der Entwicklung analog. Für die Ausbildung des antiparallelen Äthanolgradienten geben wir folgende Erklärung: Für das obere Kammerdrittel verläuft die Sättigungskurve* des Äthanolwesentlich flacher als die des Benzols (Kurve C, durchgezogene Linie in Fig. 4a und b). Dies ist darauf zurückzuführen, dass die unteren und mittleren Teile der Schicht aus dem von der Flüssigkeitsoberfläche aufsteigenden Gasgemisch schon bevorzugt die polarere Komponente herausadsorbieren, und infolgedessen oben ein an Äthanol relativ verarmtes Gemisch ankommt (vgl. Fig. 4a und b). Erst mit dem Erreichen der Kammersättigung – in allen Zonen der Kammer und für alle Komponenten – wird der Gradient ausgeglichen (sorptive Sättigung). Die dazu nötige Zeit (\cong 2 Std.) ist beträchtlich länger als die Entwicklungszeit in der ungesättigten Kammer (45 Min.).

Die oberen Schichtpartien haben zwar – wie richtig festgestellt wurde⁷ – eine längere Zeit als die unteren zur Verfügung, während der sie vor dem Eintreffen der

* Der Kammersättigung.

Front mit der Gasphase in Kontakt sind; es steht ihnen aber auch im entsprechenden Gasraumabschnitt weniger Äthanol zur Verfügung als den unteren. Schliesslich darf nicht übersehen werden, dass auch die kapillar aufsteigende Flüssigkeitssäule mit dem davor befindlichen Gasraum in Wechselwirkung tritt, ein Effekt, den wir nicht weiter messend verfolgten.

Aus den Fig. 3a und b lassen sich noch weitere Erkenntnisse über die Verteilung der Fliessmittelkomponenten auf der Schicht in verschiedenen Phasen des chromatographischen Prozesses gewinnen. Es fällt zunächst auf, dass auch in der gesättigten Kammer nach der kapillaren Sättigung noch ein flacher ap-Gradient für Äthanol vorliegt (Fig. 3b).

In der ungesättigten N-Kammer* wird der Gradient der Äthanolvorbeladung mit zunehmender Vorbedampfungszeit flacher. Er ist nach 3 Std. nivelliert. Zu diesem Zeitpunkt ist auch die sorptive Sättigung erreicht (Fig. 3a). Die Werte für die sorptive Sättigung in der gesättigten Kammer (wo sie sich natürlich schneller einstellt) und der ungesättigten Kammer sind naturgemäss gleich, nämlich *ca.* 0.13 ml Äthanol und 0.53 ml Benzol pro Gramm Sorbens. Durch die Entwicklung steigt dann die Benzolkonzentration um den Faktor 3 auf *ca.* 1.8 ml/g an (kapillare Sättigung); interessanterweise bleibt aber die Äthanolkonzentration bei sorptiver und kapillarer Sättigung** etwa gleich. Daraus ist zu schliessen, dass für dieses Fliessmittelgemisch die Gleichgewichtskonzentration des Äthanols in der stationären Phase gegenüber dem flüssigen Fliessmittel einerseits und gegenüber seiner Gasphase andererseits annähernd die gleiche ist.

Sehen wir uns noch einige Zahlenwerte an. Die Äthanolkonzentration, bezogen auf Benzol, beträgt im flüssigen Fliessmittel 3 Vol. %, bei sorptiver Sättigung steigt sie (in der Schicht) auf *ca.* 20% und fällt bei der Entwicklung (kapillare Sättigung) durch den Verdünnungseffekt des aufsteigenden Fliessmittels wieder auf 8%. Infolgedessen sind $8 - 3 = 5\%$ Teil der stationären Phase. Die vorgenannten 0.13 ml Äthanol/g Sorbens im Volumenelement der benetzten Schicht verteilen sich also zu *ca.* 0.09 ml/g auf die stationäre und zu *ca.* 0.04 ml/g auf die mobile Phase. Diese Zahlen gelten wieder nur für den unteren Schichtbereich, wo die mobile Phase sicher die Zusammensetzung des Fliessmittels hat, weil eventuelle "Fronten" der Fliessmittelzusammensetzung schon vorbeigewandert sind.

BRINGEN PARALLELE GRADIENTEN VORTEILE?

Mit der Vario-KS-Kammer lassen sich der Schicht über Vorbedampfung Aktivitätsgradienten verschiedenster Anordnung aufprägen^{3,12}. DE ZEEUW hat mit einer Variante unseres KS-Kammertyps ("VP-chamber") die Trennung des Gemisches Indophenol (1), Nitroanilin (2), Sudanrot (3), Buttergelb (4) studiert¹⁰, wobei er durch abwechselnde Vorbedampfung mit Benzol und Chloroform über Brems- und Beschleunigungszonen einen (über alles) parallelen Gradienten einstellte und durchlaufend entwickelte. Der damit erhaltenen guten Trennung (Fig. 6b) stellte er schlechtere Chromatogramme, erhalten in gesättigten N-Kammern mit reinem Benzol bzw. Benzol-Chloroform, gegenüber und zog daraus den Schluss, dass die Trennverbesserung

* Die Platte wurde sofort nach Einfüllen des Fliessmittels eingestellt und ohne Eintauchen der Schicht, d.h. ohne Entwicklung, vorbedampft.

** Gesättigte Kammer, sofortiger Entwicklungsbeginn, unterer Schichtbereich.

auf den (über-alles-)p-Gradienten und die spezielle Kombination von Beschleunigungs- und Bremströgen zurückzuführen sei.

Dieser Vergleich bringt hinsichtlich der beobachteten Trennleistung insofern kein objektives Bild, als die ausgenutzten Trennstrecken bei den beiden Arbeitstechniken sehr verschieden sind; d.h. die Durchlaufchromatographie muss – bei kleinen R_F (< 0.4) und sonst gleichen Bedingungen – immer die bessere Trennung bringen.

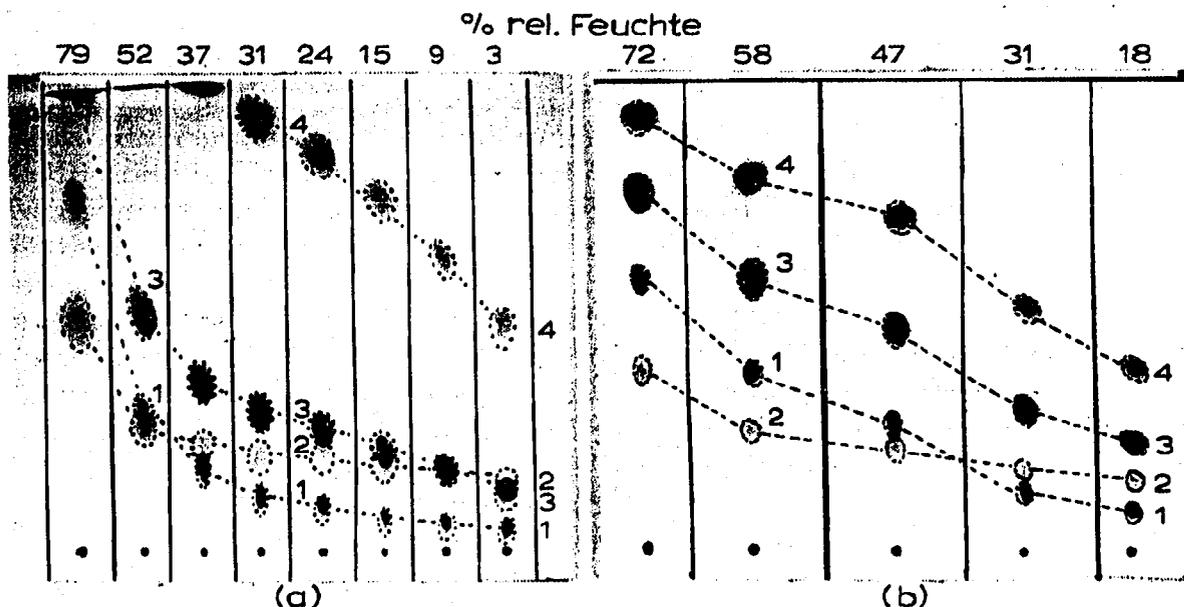


Fig. 5. Trennung von Indophenol (1), Sudanrot (2), *p*-Nitroanilin (3) und Buttergelb (4) auf Kieselgel G (Merck). Vario-KS-Kammer; Feuchte-o-Gradient; Fließmittel: (a) Benzol; Durchlaufchromatographie, (b) reines Chloroform.

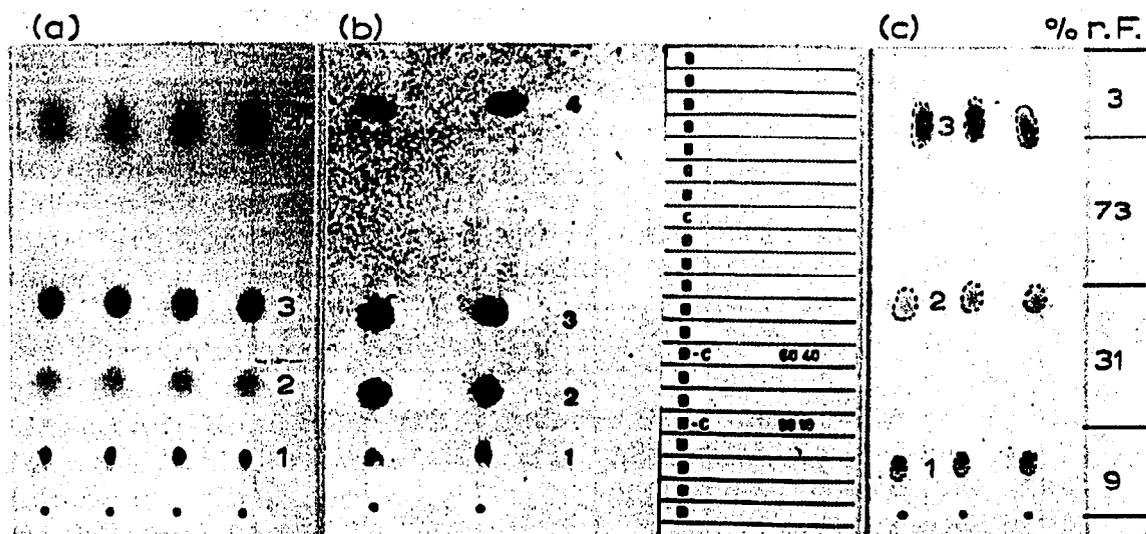


Fig. 6. Variierte Trennung des Farbstoffgemisches von Fig. 5 auf Kieselgel G (Merck). (a) KS-Variokammer; Fließmittel, reines Chloroform; 24% r.F.; Durchlaufchromatographie, 160 Min. (b) Reproduktion Chromatogramm VP-Chamber von DE ZEEUW; Fließmittel, Benzol; 29% r.F.; Vorbedampfung wie angezeichnet. (c) Vario-KS-Kammer; Fließmittel, Benzol; Aktivitätsverteilung wie angezeichnet. Manipulation der Trennung (a) in Fig. 5. Die Trennung von Fig. 6a wurde im Gegensatz zu (b) ohne jeden Gradienten erzielt.

Beim Nacharbeiten dieser Trennbeispiele zeigte sich, dass sowohl mit reinem Chloroform als auch mit reinem Benzol als Fließmittel ohne jeglichen Aktivitätsgradienten in Fließrichtung, d.h. ohne jede Vorbedampfung mit Benzol oder Chloroform, ausgezeichnete Trennungen möglich sind, wenn man nur die richtige Arbeitsfeuchte, d.h. die richtige Aktivität, wählt. Dies illustrieren die Fig. 5a und b.

Mit *Benzol* als Fließmittel (Fig. 5a) ist die Trennung in der Reihenfolge (v. oben nach unten) 4-3-2-1 nur zwischen 24-37% r.F. möglich (DE ZEEUW: 29% r.F.). Bei ca. 45% r.F. können 1 und 2, bei 9% r.F. können 2 und 3 nicht voneinander getrennt werden. Oberhalb 45% r.F. ist die Reihenfolge 4-3-1-2, unterhalb 9% r.F. 4-2-3-1.

Mit *reinem Chloroform* als Fließmittel ist eine perfekte Trennung auch ohne Durchlaufchromatographie möglich und zwar, wie wieder der orthogonale Aktivitätsgradient der Fig. 5b zeigt, oberhalb 47% r.F. in der Reihenfolge 4-3-1-2 und unterhalb 30% in der Reihenfolge 4-3-2-1. Bei etwa 40% r.F. ist keine Trennung möglich. Die Vario-KS-Kammer gestattet, den gesamten Aktivitätsbereich auf der gleichen Platte mittels eines Quergradienten ("o-Gradient" in der Terminologie von NIEDERWIESER) durchzutesten. Im vorliegenden Fall kann man sich zudem aussuchen, in welcher Reihenfolge man die Substanzen getrennt haben will. Die Trennung bei 24% ist — aus optischen Gründen — mit der Durchlaufchromatographie weiter herausentwickelt worden (Fig. 6a) und unterscheidet sich kaum von dem Bild von DE ZEEUW (Fig. 6b). Alle nebeneinanderliegenden Teilbilder der Fig. 5b kann man auch einzeln (und mit ca. 40% geringeren R_F -Werten) in der gesättigten N-Kammer erhalten, wenn nur die jeweils erforderliche Luftfeuchtigkeit herrscht.

Gradienten in Fließrichtung können in der Praxis durchaus von Nutzen sein, z.B. wenn man die (aufgrund anderer Effekte getrennten) Substanzen aus irgendeinem Grund gleichmässiger auf die Trennstrecke verteilen will. Einige Beispiele dazu findet man bei Lit. 3. Einen Fall von extremer Manipulation der Flecklage zeigt Fig. 6c. Die drei Flecken (3, 2 und 1) sind hier optimal über die Trennstrecke verteilt;

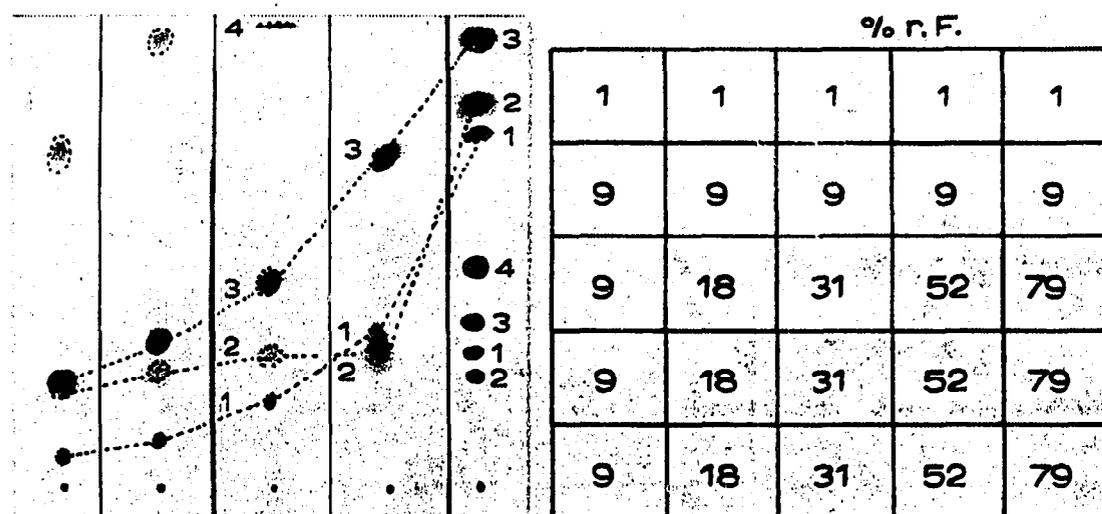


Fig. 7. Trennung der Farbstoffe von Fig. 5 auf Kieselgel G (Merck). Vario-KS-Kammer, Mosaik-einsatz; Fließmittel, Benzol; Durchlaufchromatographie, 3 Std. Bei der Trennung ganz rechts kam es während der Entwicklung zu einer Inversion. In der Zone niedriger Aktivität (79% r.F.) war die Reihenfolge 2-1-3-4, in der oberen Zone (9; 1% r.F.) wurde sie dann zu 1-2-3-(4) umgekehrt.

jedoch handelt es sich nur um eine Scheinverbesserung der Trennung von Fig. 6a und zu einem bestimmten Grade auch der von Fig. 5b, ganz rechts: Eine schon bestehende Grundtrennung wurde nur (mehr oder weniger proportional) gedehnt. Das bedeutet nicht, dass in den vergrößerten Zwischenräumen auch mehr zu trennende Verbindungen aufgenommen werden können.

In Fig. 7 sind die chromatographischen Bedingungen der Fig. 5a etwas abgewandelt worden: Um zu vermeiden, dass die obersten Flecken bei der Durchlaufchromatographie an den Rand hinauswandern (was für Buttergelb (4) dann doch nicht ganz verhindert werden konnte), wurde mit den beiden oberen Trogreihen durch sehr niedrige Feuchten gebremst (Überlagerung eines orthogonalen durch einen antiparallelen Gradienten). Die interessanteste Beobachtung bei diesem Versuch war, dass sich die Fleckreihenfolge innerhalb der gleichen Reihe (ganz rechts) während der Entwicklung umkehrte: Über den drei untersten Trögen (79-79-79 % r.F.) wurde aufgetrennt in der Reihenfolge 4-3-1-2. Beim Überstreichen des ap-Gradienten 79-9% stellten sich wieder die Aktivitätsbedingungen ein, die zur Reihenfolge (4)-3-2-1 führten.

Die beobachteten Inversionen sind auf die relative Unempfindlichkeit der R_F -Werte des *p*-Nitroanilins (2) gegen Aktivitätsänderungen zurückzuführen. Am Rande sei vermerkt, dass diese Inversionen nur bei gipshaltigen Kieselgelen auftreten. Auf gipsfreien Kieselgel-Schichten erhält man bei allen Feuchten die Reihenfolge 4-3-2-1.

IST CHLOROFORM GLEICH CHLOROFORM?

Handelsförmigem Chloroform sind zur Stabilisierung einige Prozente Äthanol beigemischt. Der wesentlich elutionskräftigere Alkohol verändert dabei radikal die chromatographischen Eigenschaften, die reinem Chloroform eigen sind, eine Tatsache, die in der Praxis häufig übersehen oder missachtet wird*. Wir haben früher¹² schon einmal darauf beruhende Scheinanomalien des Chloroforms aufgeklärt. Zur Illustration dieses Effektes seien hier noch einige Beispiele angeführt:

(1) Wäre die Platte, die zum Chromatogramm der Fig. 5b führte, nicht nur mit reinem Chloroform entwickelt sondern auch vorbedampft worden, hätte man bei unveränderter Trennung lediglich um 30-40% niedrigere R_F -Werte erhalten. Wird indessen mit stabilisiertem Chloroform vorbeladen (und entwickelt), so wird der unterlegte orthogonale Aktivitätsgradient völlig eingeebnet; ausserdem bricht die Trennung von 4-3-1 zusammen (Fig. 8).

(2) In der Literatur ist die Feststellung zu finden¹³, es spiele bei der Trennung der vorerwähnten Hypnotika keine Rolle, ob reines oder stabilisiertes Chloroform als Fliessmittel verwendet werde. Die Fig. 9a und b zeigen das Gegenteil. In der gesättigten N-Kammer wird die Platte wieder durch den Alkoholanteil des Chloroforms bei der Vorbeladung deaktiviert, weshalb die Substanzen wesentlich höher laufen als mit reinem Chloroform. Ein Vergleich der Fig. 9a und b mit denen der Literatur macht deutlich, dass dort mit stabilisiertem Chloroform entwickelt wurde. Die Bilder 9a und b zeigen schliesslich, dass die R_F -Werte der Hypnotika mit zunehmender

* *Editor's note:* Already in the first separations of acetylamino acids on silica gel columns by MARTIN *et al.* the impurities in the chloroform used played an essential role.

Feuchte, d.h. fallender Aktivität, wie zu erwarten steigen, was ebenfalls im Widerspruch zu Angaben der Literatur¹³ steht, nach denen die R_F -Werte durch ein Maximum gehen sollen.

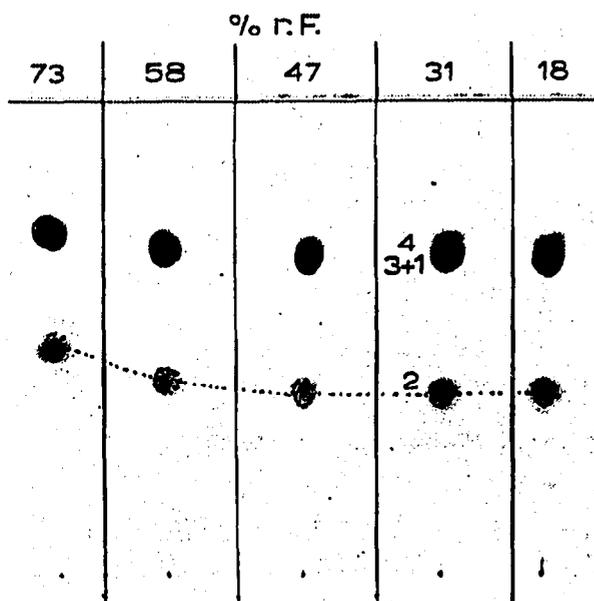


Fig. 8. Trennung der Farbstoffe von Fig. 5 auf Kieselgel G (Merck). Vario-KS-Kammer, orthogonaler Aktivitätsgradient; Vorbedampfung mit stabilisiertem Chloroform (30 Min.); Fliessmittel, reines Chloroform. Das Chromatogramm ist zu vergleichen mit Fig. 5b. Die in Chloroform enthaltenen 1–2% Äthanol haben die Aktivitätsstufen eingebnet und ausserdem die Trennung verborben.

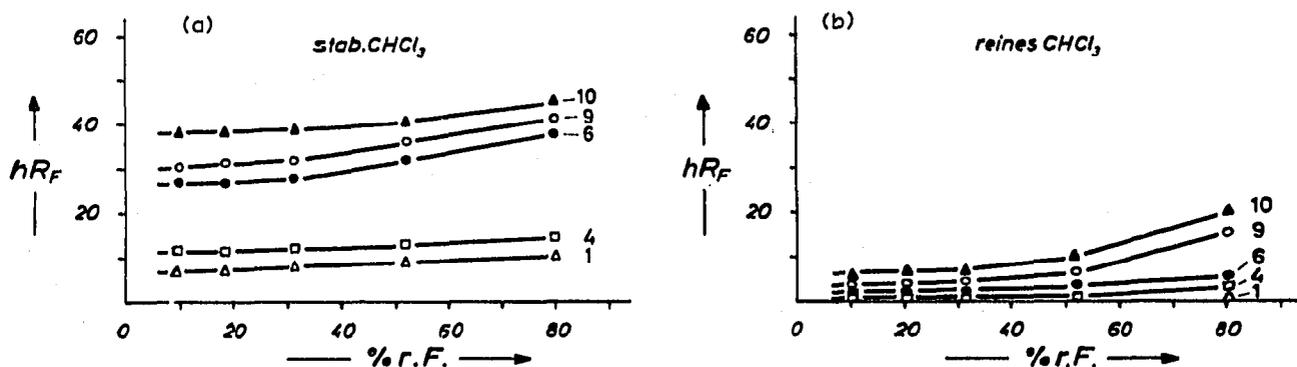


Fig. 9. Einfluss der Feuchte (Aktivität) und der Reinheit des Chloroforms auf die Chromatographie von Hypnotika. Kieselgel HF (Merck); Vario-KS-Kammer; orthogonaler Aktivitätsgradient; 10 Min. Vorbedampfung mit dem Fliessmittel. Bezeichnung der Substanzen wie in Fig. 2. Fliessmittel: (a) stabilisiertes Chloroform, (b) reines Chloroform.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Platten wurden in üblicher Weise gestrichen und getrocknet. Die meisten Chromatogramme wurden mit der Vario-KS-Kammer (Hersteller Fa. Camag, Muttenz, Schweiz) entwickelt. Das Handelschloroform wurde durch Filtration über eine Aluminiumoxidsäule (Aktivität I Brockmann) äthanolfrei ($< 0.05\%$) gemacht (GC-

Kontrolle auf 1 m-Polypak-1-Säule, 170°). Die Bestimmung der Zusammensetzung der mobilen Phase geschah auf folgende Weise: Mit einem verschliessbaren Schabellöffel wurden von in N-Kammern befindlichen Platten von der trockenen oder feuchten Schicht durch Öffnungen im Deckel je etwa 30 mg-Proben entnommen und in 3 ml N,N-Dimethylformamid eingebracht. Die Lösungen wurden gaschromatographisch auf einer 1 m-Polypak-Säule bei 170° analysiert. Die entnommene Menge Sorbens wurde nach Abdampfen des Lösungsmittels (bei 120°) und Klimatisierung um 50% r.F. ausgewogen. Genauigkeit des Gesamtverfahrens $\pm 5-10\%$ rel.

DANK

Wir danken Frau E. MARAFANTE für die sorgfältige Ausführung der Versuche.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird gezeigt, dass einige in der Literatur beschriebene spezielle Trennungen (Hypnotika, Farbstoffe) wahrscheinlich nicht durch parallele Vorbedampfungsgradienten sondern durch andere Effekte, wie günstigen Wassergehalt der Schicht, erhöhten Fließmitteldurchsatz zustande gekommen sind und dass man in allen geprüften Fällen ohne Gradienten gleich gute Resultate erhalten kann. Bei der Entwicklung von Chromatogrammen mit Fließmittelgemischen aus zwei Komponenten unterschiedlicher Polarität bildet sich in ungesättigten N-Kammern entgegen früheren Annahmen kein paralleler sondern ein schwach antiparalleler Gradient aus (Beispiel: Benzol-Äthanol, 97:3). Am Beispiel der Hypnotika-Trennung wird erneut dargelegt, dass es keineswegs gleichgültig ist, ob man mit reinem oder mit äthanolstabilisiertem Chloroform chromatographiert.

LITERATUR

- 1 A. NIEDERWIESER, *Chromatographia*, 2 (1969) 23.
- 2 A. NIEDERWIESER, *Chromatographia*, 2 (1969) 362.
- 3 F. GEISS UND H. SCHLITT, *Chromatographia*, 1 (1968) 392.
- 4 R. A. DE ZEEUW, *Pharm. Weckblad*, 102 (1967) 113.
- 5 R. A. DE ZEEUW, *J. Chromatog.*, 32 (1968) 43.
- 6 R. A. DE ZEEUW, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 222.
- 7 R. A. DE ZEEUW, *Anal. Chem.*, 40 (1968) 915.
- 8 R. A. DE ZEEUW, Pharmaceutical applications of vapor-controlled TLC, *Brit. Pharm. Conf., Birmingham, 9-13 Sept., 1968*.
- 9 R. A. DE ZEEUW, Vapor-controlled TLC, *Symp. Intern. Chromatog., Electrophorèse, V, Bruxelles, 16-18 Sept. 1968*, Presses Académiques Européennes, Brüssel, 1969.
- 10 R. A. DE ZEEUW, *Anal. Chem.*, 40 (1968) 2134.
- 11 A. S. CURRY UND R. H. FOX, *Analyst*, 93 (1968) 834.
- 12 F. GEISS, H. SCHLITT UND A. KLOSE, *Z. Anal. Chem.*, 213 (1965) 331.
- 13 R. A. DE ZEEUW, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 227 (Diskussionsbemerkung).