

CHROM. 4999

**Schnell-Transfer Dünnschichtchromatographie–Infrarotspektroskopie**

Zur Charakterisierung chromatographisch getrennter  $\mu\text{g}$ -Mengen ist die IR-Spektroskopie in ihrer Ultramikrotechnik<sup>1</sup> sehr vorteilhaft. Da sich eine direkte Kopplung ausschliesst, muss der Zwischenschritt in Form eines mechanischen Transfers durchgeführt werden.

Neben den bisher bekannten Verfahren<sup>2,3</sup> zur DC–IR-Kombination hat sich in unseren Laboratorien die nachstehend beschriebene Methode am besten bewährt:

In ein beiderseitig trichterförmig erweitertes Glasröhrchen (Fig. 1.1) von 60–80 mm Länge und einem Innendurchmesser von 1–2 mm stopft man etwa 10 mm von einem Ende einen Quarzwattebausch (c). Das andere Ende des Röhrchens verbindet man mit einer Wasserstrahlpumpe (d) und saugt die losgeschabte Substanzzone (a) von der DC-Platte (b) staubsaugerartig ein. Dann dreht man es um  $180^\circ$  (Fig. 1.2)

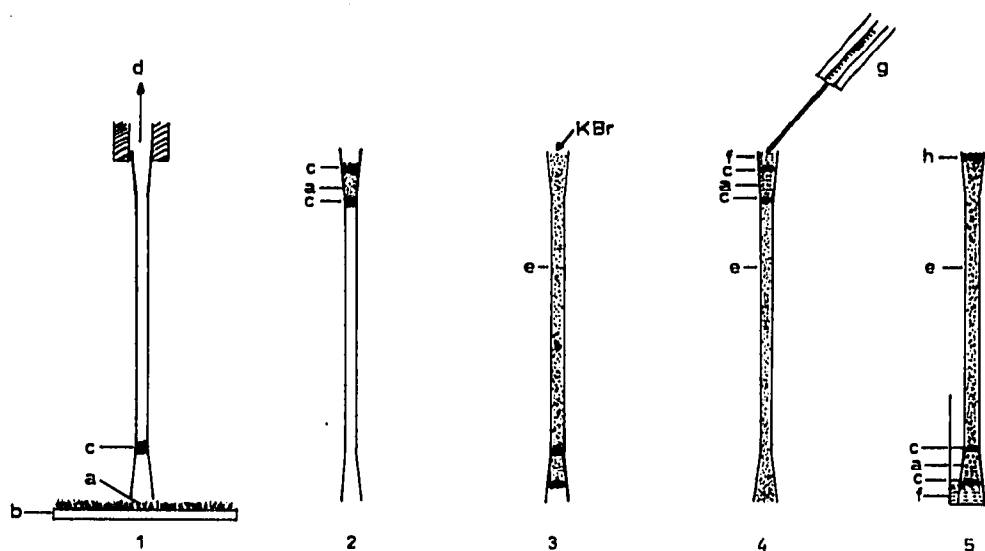


Fig. 1. Herstellung und Handhabung einer KBr-Mikrotransfersäule. Einzelheiten 1–5 im Text. a = DC-Fleck; b = DC-Platte; c = Quarzwolle; d = zur Wasserstrahlpumpe; e = KBr zur Spektroskopie; f = Elutionsmittel; g = Mikroliterspritze; h = mit Substanz angereicherte KBr-Zone.

und löst die Verbindung zur Wasserstrahlpumpe. Auf die so eingesaugte Substanzzone (a) stopft man einen Quarzwattebausch (c).—Liegen jedoch sauerstoffempfindliche Substanzen vor, so ist von diesem "Staubsaugerprinzip" abzuraten. In diesem Falle fülle man die losgeschabte Substanzzone mit einem Mikrospatel in das Röhrchen (Fig. 1.2).—Danach dreht man es abermals um  $180^\circ$  und füllt es mit fein gepulvertem Kaliumbromid "zur Spektroskopie" (e) auf. Durch leichtes Klopfen erreicht man, dass eine kleine saugfähige Kaliumbromidsäule entsteht (Fig. 1.3). Nun drückt man mit dem Mikrospatel die obere Kaliumbromidschicht etwas fest, so dass beim anschließenden Drehen um  $180^\circ$  das Kaliumbromid nicht herausrieselt. Dann gibt man mit einer 100-Mikroliterspritze (g) ca. 20–50  $\mu\text{l}$  Elutionsmittel in den noch freien, trichterförmig erweiterten Raum (f), so dass dieser gerade gefüllt ist (Fig. 1.4). Die zu transferierende

Substanz wandert in der Kaliumbromidsäule abwärts. Noch bevor das Elutionsmittel völlig eingesaugt ist, wird das Röhrchen um  $180^\circ$  gedreht und in ein mit  $100 \mu\text{l}$  Elutionsmittel gefülltes, kleines Tablettenröhrchen ( $5 \times 20 \text{ mm}$ ) gestellt. Das Lösungsmittel steigt nach oben, transportiert die gelöste Substanz und verdampft am oberen Ende. Auf diese Weise sammelt sich nach und nach die Substanz im obersten Teil der Kaliumbromidsäule (Fig. 1.5h). Bei Bedarf ist mit einer Mikroliterspritze das Elutionsmittel im Tablettenröhrchen nachzufüllen. Nachdem das Elutionsmittel verdampft ist, bereitet man aus der obersten KBr-Zone (ca. 4 mg) einen Mikropressling ( $\varnothing 1.5 \text{ mm}$ ). Hierzu ist der Gerätezusatz "Ultramikropressform" der Firma Perkin-Elmer, Überlingen vorteilhaft.

Zum Einarbeiten stelle man sich eine 0.1% Lösung von 4-Dimethylaminoazobenzol (Buttergelb) in Tetrachlorkohlenstoff her und trage hiervon  $10 \mu\text{l}$  auf eine übliche Kieselgel G-Schicht auf. Diesen Farbfleck transferiere man in der beschriebenen Art mit Dichlormethan als Elutionsmittel und verfolge den Vorgang visuell.

Da je nach Substanz und Lösungsmittel die Elutionszeit mehrere Stunden betragen kann und sich so die hygroskopische Eigenschaft des Kaliumbromids ungünstig auswirkt (zu intensive OH-Valenz und Deformationsschwingungsbanden, die Anlass

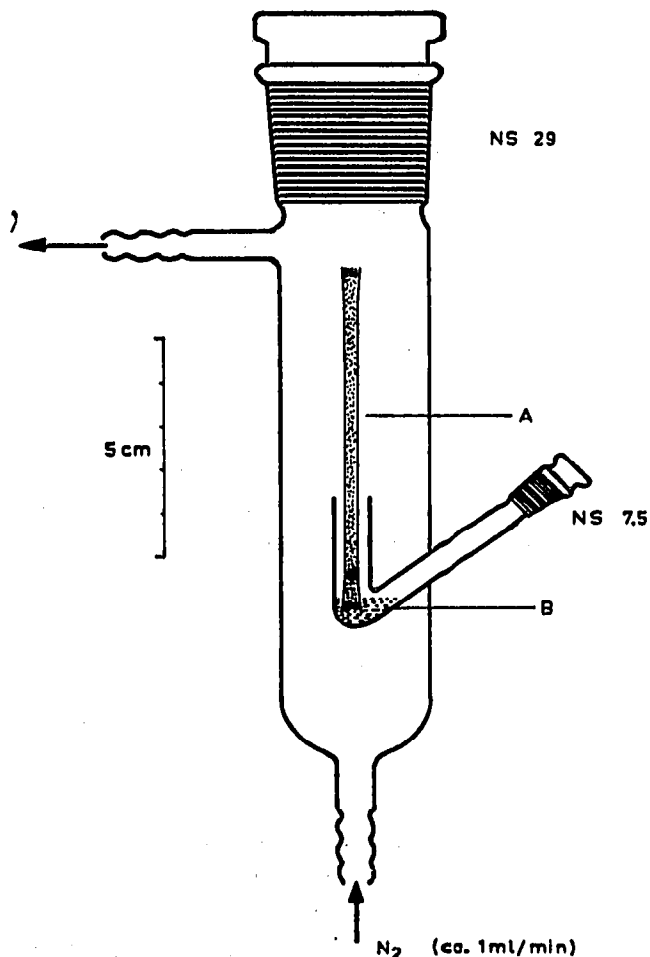


Fig. 2. Vorrichtung zur Elution und Verdampfung in einem Inertgasstrom. A = Mikrotransfer-säule; B = Elutionsmittel.

zu Fehlinterpretationen sein können), führt man die Elution und das anschliessende Verdunsten am besten in einem trockenen Stickstoffstrom durch. Die hierzu notwendige Glasapparatur ist nach der Fig. 2 leicht vom Glasbläser herstellbar. Ein weiterer Vorteil dieser Vorrichtung ist der Schutz labiler Substanzen vor Oxydation.

*Institut für Pharmakognosie  
und Analytische Phytochemie der Universität  
des Saarlandes, 66 Saarbrücken (B.R.D.)*

EGON STAHL  
WERNER SCHILD

1 P. KROHMER UND G. KEMMER, *Z. Anal. Chem.*, 243 (1968) 80.

2 G. SZÉKELY, *J. Chromatog.*, 48 (1970) 313.

3 R. AMOS, *J. Chromatog.*, 48 (1970) 343.

Eingegangen am 17. August 1970

*J. Chromatog.*, 53 (1970) 387-389

#### CHROM. 5011

### **Manganous chloride spray reagent for cholesterol and bile acids on thin-layer chromatograms**

Cholesterol reacts with a variety of chemical substances to give colored products. KRITCHEVSKY<sup>1</sup> has summarized some of these color reactions of cholesterol. But the spray detection of cholesterol in thin-layer chromatography (TLC) has been accomplished by means of antimony trichloride<sup>2</sup>, phosphomolybdic acid<sup>3</sup>, anisaldehyde-sulfuric acid<sup>4</sup> and ferric chloride<sup>5</sup>. Antimony trichloride has its disadvantage due to its toxicity and reactivity with water to form insoluble precipitates. Phosphomolybdic acid and anisaldehyde-sulfuric acid gives a colored background and cannot clearly distinguish the cholesterol from the bile acids. All these difficulties may be overcome by the use of this manganous chloride spray reagent for the detection of cholesterol and bile acids on thin-layer chromatograms.

#### *Materials and methods*

Cholesterol and bile acids are obtained from Applied Science Laboratories, Pa., and manganous chloride from Allied Chemicals, General Chemical Division, N.Y. DuPont concentrated sulfuric acid is used. The samples are applied to Silica Gel F-254 of 0.25 mm thickness as supplied by Brinkmann Instruments, Westbury, N.Y., and detected without chromatography. The spray reagent is prepared by dissolving 50 mg of  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  in 15 ml of water and 0.5 ml of concentrated sulfuric acid. After the reagent has been sprayed on the thin-layer plate, it is placed in an oven at 100-110° for 10-15 min and the color is noted. Five to ten micrograms of each in ethanol is sufficient for color detection.

#### *Results and discussion*

The color reactions of cholesterol and bile acids are shown in Table I. The

*J. Chromatog.*, 53 (1970) 389-390