

CHROM. 5390

## DÜNNSCHICHT-SCRAPER — EIN HALBAUTOMATISCHES ABSCHABGERÄT FÜR FERTIGPLATTEN

GERHARD KASANG, GERHARD GÖLDNER UND NORBERT WEISS

*Max-Planck-Institut für Biochemie, München, und Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie,  
Seewiesen (B.R.D.)*

(Eingegangen am 11. September 1970; geänderte Fassung am 1. April 1971)

---

### SUMMARY

*Thin-layer scraper — a half-automatic scraper for precoated thin-layer plates*

A new half-automatic scraper for precoated thin-layer plates is described. This scraper permits complete transfer of zones without mixing of test substances. The instrument is simple in operation. The zones are separated with high analytical accuracy in short time.

---

### EINLEITUNG

Der Dünnschicht-Scraper (Fig. 1) wurde für die Wiedergewinnung organischer und anorganischer Substanzen in der Dünnschicht-Chromatographie entwickelt. Die Dünnschicht-Chromatographie zeichnet sich durch Schnelligkeit der Durchführung, hohe Trennschärfe sowie grosse Empfindlichkeit aus. Sie ist seit Jahren eine der vielseitigsten und meist benutzten Methoden zur analytischen und präparativen Trennung von Stoffgemischen.

Dünnschichtchromatographisch getrennte Substanzen müssen häufig zum Nachweis oder zu weiteren Verwendung vom Trägermaterial eluiert werden, was das Abschaben der substanzhaltigen Flecken oder Zonen erforderlich macht.

### STAND DER TECHNIK

Nicht selten begegnet man in modern und zweckmässig eingerichteten Laboratorien umständlichen und ungenauen Abschabtechniken. Spatel, Rasierklingen oder Streifen eines Röntgenfilms bilden die ganze Abschabausrüstung. Die Einführung sogenannter "simple scrapers"<sup>1</sup>, einfacher Abschabhilfen für einzelne Flecken oder Zonen, war zweifellos ein Fortschritt. Das gilt auch für sogenannte "Zonenkollektoren" oder "vacuum cleaners" (Mikrostaubsauger)<sup>2</sup>, die jedoch nur zum Absaugen losen Trägermaterials geeignet sind. Diese Techniken sind nicht nur zeitraubend und oft ungenau, häufig geht beim Abtragen und Transfer durch den Verlust von Trägermaterial auch wertvolle Substanz verloren. Um diese Mängel beim Arbeiten mit radioaktiven Substanzen zu beheben, wurden von SNYDER und Mitarbei-

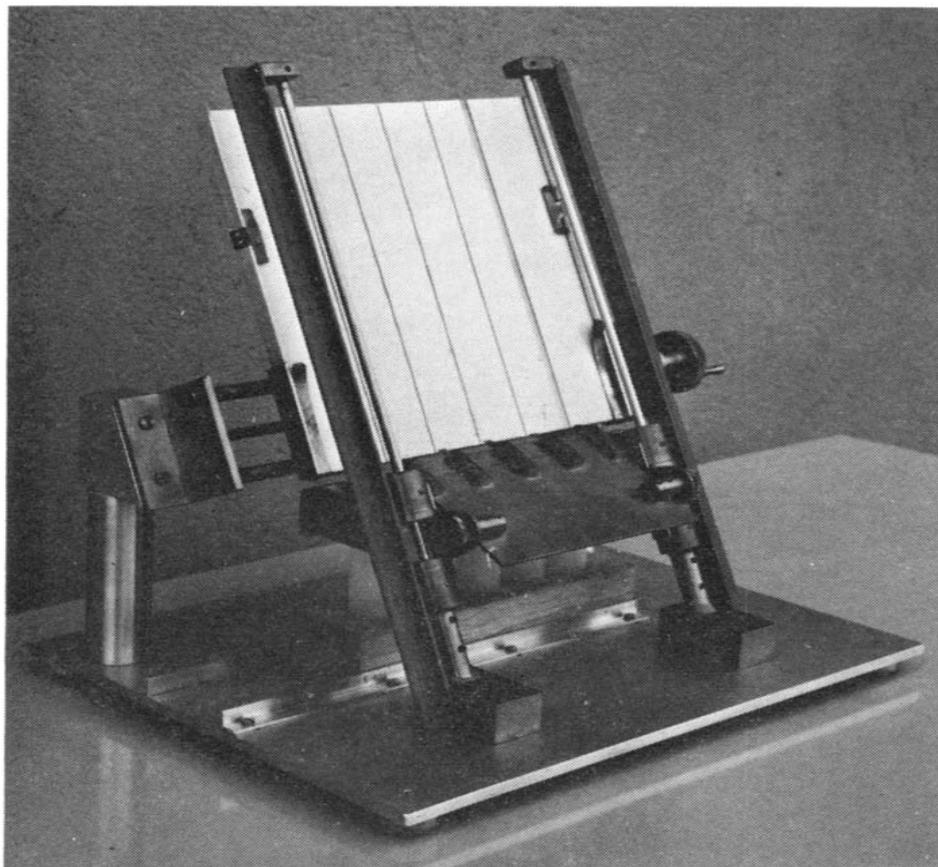


Fig. 1. Dünnschicht-Scraper. Messer 5 mm breit.

tern sogenannte "manual scrapers"<sup>3</sup> und "automatic zonal scrapers"<sup>4,5</sup> entwickelt. Alle "zonal scrapers" bestehen im wesentlichen aus einer Vorrichtung zur Befestigung und zum Vorschub der Platten, aus einem Schaber und einer Auffangvorrichtung für das abgeschabte Material. Ihre Funktion sei kurz beschrieben. Die Dünnschichtplatte wird nach ihrer Befestigung an einem Schlitten millimeterweise so an einer auf und ab schwingenden Schaberklinge vorbeigeführt, dass das abgeschabte Trägermaterial direkt in das Auffanggefäß fällt. Nach jedem Abschabvorgang rückt die Dünnschichtplatte entweder um 1, 2 oder 5 mm weiter, das unter dem Schaber befindliche Auffanggefäß wird jedesmal durch ein neues ersetzt. Bei den vollautomatischen "zonal scrapers"<sup>6,7</sup> werden wie bei den automatischen alle beweglichen Teile maschinell angetrieben, sie sind ausserdem mit einem Fraktionssammler und einer Pipettiereinrichtung zur automatischen Füllung von Szintillationsfläschchen versehen.

Die ersten Versuche mit "automatic zonal scrapers" bereiteten grosse Schwierigkeiten. Die Schichten wurden entweder unvollständig abgeschabt, das Trägermaterial platzte unvorschriftmässig ab, oder das abgeschabte Material blieb zum Teil an der Platte und am Schaber hängen. Um dem zuletzt genannten Übel abzuhelpfen, wurden alle automatischen "zonal scrapers" mit Vibratoren ausgerüstet. Mit dieser Zusatzeinrichtung kann man die Platte in Schwingungen versetzen und lose anhängendes Material vollständig abschütteln. Die "zonal scrapers" bewährten sich vorwiegend bei nicht zu losen, aber nicht bei zu festen Schichten. Lose Schichten werden bei



in einem zwischen Horizontalgleitschienen (15) linear beweglichen Gefässschlitten (16) befestigt und unter die Trichter zu schieben sind. Das Stativ (1), die Gleitschienenhalterung (6) und die Horizontalgleitschienen (15) sind auf einer mit Sauggummis (17) versehenen Bodenplatte (18) montiert.

#### ANWENDUNG

Die Konstruktion des Dünnschicht-Scrapers ermöglicht in einem Arbeitsgang gleichzeitiges Abschaben von ein bis fünf Streifen. Die leichte Neigung des Arbeitsschlittens und die manuelle Beweglichkeit der Messerleiste bieten gegenüber dem "zonal scraper" die Möglichkeit, Schabgeschwindigkeit und Messerdruck dem Schichtmaterial anzupassen. Die Verwendung dieses Abschabgerätes führt zu zahlreichen wesentlichen Vorteilen: kein Vermischen von Zonen und Abplatzen von Trägermaterial, scharfe Streifen und feinkörnig abgeschabtes Material.

So können z.B. dünnste Zonen mit bisher nicht erreichter Präzision in Form eines pulverförmigen, leicht zu eluierenden Schichtträgermaterials abgetragen werden. Aber auch verhältnismässig dicke Schichten, z.B. solche von sogenannten präparativen Platten, lassen sich mit diesem Scraper unter Verwendung einer Schablone praktisch verlustlos aufarbeiten.

Mit Hilfe des Dünnschicht-Scrapers sind verschieden starke, z.B. 0.1 bis 2 mm dicke Schichten verschiedenen Typs abschabbar. Zu verwenden sind alle bekannten Dünnschichtplatten und -folien der Ausmasse 50 × 200, 100 × 200 oder 200 × 200 mm (Fig. 1). Es kann sich um sogenannte Fertigplatten oder um solche mit Handstreichgeräten selbst hergestellte Dünnschichtplatten handeln. Nach einer grossen Anzahl von Versuchen zeigte sich, dass bei Verwendung dieses Dünnschicht-Scrapers der Typ der Beschichtungsmasse ebensowenig eine Rolle spielt wie die Breite der verwendeten Schaber Klinge. Das ist darauf zurückzuführen, dass man die Schaberplatte in einfacher Weise mit mehr oder weniger starkem Druck betätigen kann. Verglichen mit dem "manual zonal scraper" arbeitet man mit dem Dünnschicht-Scraper wesentlich schneller und sauberer. Im Vergleich zum automatischen "zonal scraper" dauert das Abschaben mit dem Dünnschicht-Scraper zwar etwas länger, dafür ist das Gerät wesentlich kleiner und billiger, ausserdem einfacher im Aufbau, in der Bedienung und Wartung. Der Dünnschicht-Scraper übertrifft die "zonal scrapers" an Vielseitigkeit, zuweilen auch an Genauigkeit und Zuverlässigkeit. Die Zeitersparnis beträgt bei der Anwendung des Dünnschicht-Scrapers im Vergleich zur einfachen Abschabmethode mit einem Spatel etwa 90 %.

#### BEDIENUNG

Nach der dünnschichtchromatographischen Trennung des Substanzgemisches in einzelne Zonen oder Flecken wird das Chromatogramm auf dem Arbeitsschlitten (2) mit Halterungsfedern (3) festgeklemmt. Durch Grobeinstellung kann man innerhalb kürzester Zeit die passenden 1 bis 10 mm breiten Klingen (12) des Schabers (10) auf die interessanten Bereiche einstellen, dann durch Feintrieb mit der Handkurbel (4) die Klingen genau auf die abzuschabenden Zonen oder Flecken ausrichten. Die Trichter an der Trichterleiste (13) und die Probenauffanggefässe (14) im Gefässschlitten (16) lassen sich mit wenigen Handgriffen so anordnen, dass sie direkt unter den Schaberklingen bzw. Zonen stehen. Nach Einrichten von Platte und Gerät werden die Schaberklingen in der Weise von oben nach unten über die Dünnschicht gezogen,

dass anfangs flache, der Führung des Materials dienende Rillen entstehen. Durch Verstärkung des Drucks auf die Klingen und mehrmaliges Schaben lässt sich das Trägermaterial ohne vorheriges Markieren innerhalb kürzester Zeit praktisch vollständig in die betreffenden Probenauffanggefäße überführen.

Soll das gesamte Trägermaterial einer Platte in gleich breiten Streifen abgetragen werden, z.B. ein 150 mm langes Chromatogramm durch 6-maliges Abschaben mit fünf Klingen von je 5 mm Breite in 30 gleichen Fraktionen, geht man am besten so vor, dass man nach jedem Abschabvorgang die Klingen immer auf die jeweils benachbarten Streifen einstellt und diese sorgfältig abkratzt. Dabei ist es gleichgültig, ob man am Start oder an der Front des Chromatogramms beginnt. Die Gefässschlitten und Stellflächen der Probenauffanggefäße müssen stets nummeriert werden, damit bei den Probenauffanggefäßen und dem abgeschabten Material keine Verwechslungen entstehen.

Dünnschichtplatten und -folien der Formate  $50 \times 200$  und  $100 \times 200$  mm lassen sich verhältnismässig leicht abschaben, das gilt insbesondere für 0.1–0.5 mm dicke Schichten. Beim Format  $200 \times 200$  mm und 0.5–2 mm dicken Schichten empfiehlt sich die Verwendung einer Schablone, die vor dem Abschaben auf die Platte gesetzt wird. Die Schlitze in der Schablone erleichtern zusätzlich die Führung und den Transport des abgeschabten Materials in die Probenauffanggefäße.

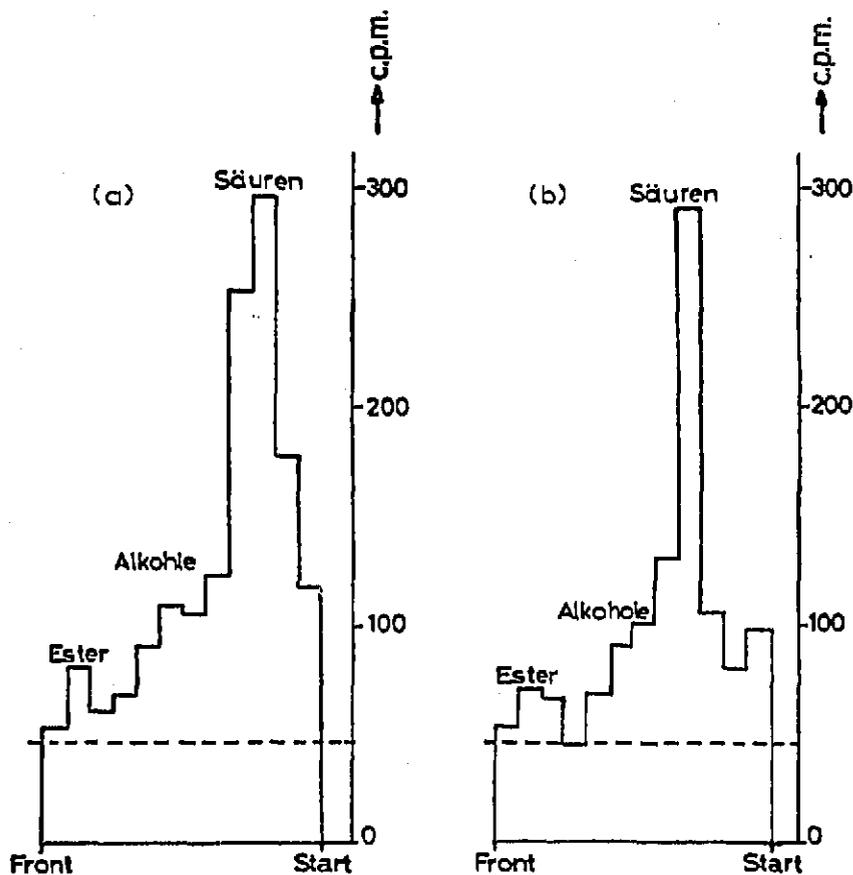


Fig. 3. Radiochromatogramme eines Lipidgemisches. Fliessmittel: Diisopropyläther. Manuell abgeschabt; Spatel 5 mm breit.

Die Trichterleiste, sowie die Schaber und Schaberplatte sind mit wenigen Handgriffen auswechselbar und leicht zu reinigen.

#### EXPERIMENTELLE ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die folgenden Beispiele sollen die Leistungsfähigkeit des Dünnschicht-Scrapers demonstrieren. Es wurden Tritiummarkierte Lipidgemische<sup>8</sup> hoher spezifischer Aktivität chromatographiert, die bei der Isolierung von Metaboliten des Sexuallockstoffes <sup>3</sup>H-Bombykol<sup>9</sup> anfallen. So gelingt es z.B. die radioaktiv markierten Metaboliten in Mengen von nur  $10^{-5}$  bis  $10^{-6}$   $\mu\text{g}$ , entsprechend  $10^9$  bis  $10^{10}$  Molekülen aus Antennen des Seidenspinners *Bombyx mori* L. zu isolieren, zu trennen und zu bestimmen. In Kombination mit einem Flüssig-Szintillations-Spektrometer übertrifft der Dünnschicht-Scraper an Empfindlichkeit und Genauigkeit bei weitem einen Dünnschicht-Scanner<sup>10</sup>.

In allen Abbildungen ist auf der Ordinate die gemessene Tritium-Aktivität in c.p.m. oder d.p.m. (Impulse oder radioaktive Zerfälle pro Minute) aufgetragen, die Abzisse gibt die Laufstrecke und damit die Stelle der Platte wieder, von der die Probe abgeschabt worden war. Verwendet wurden 0.25 mm dicke Fertigplatten "Kieselgel H" der Firma Merck.

Als Vergleichsbeispiel zunächst das manuelle Abschaben eines mit Diisopropyläther chromatographierten radioaktiven Metabolitengemisches<sup>8</sup>. Die Chromatogramme wurden mit einem 5 mm breiten Spatel in Form von je zwölf Fraktionen innerhalb von 30 min aufgearbeitet. Trotz gleicher Lipidzusammensetzung weisen

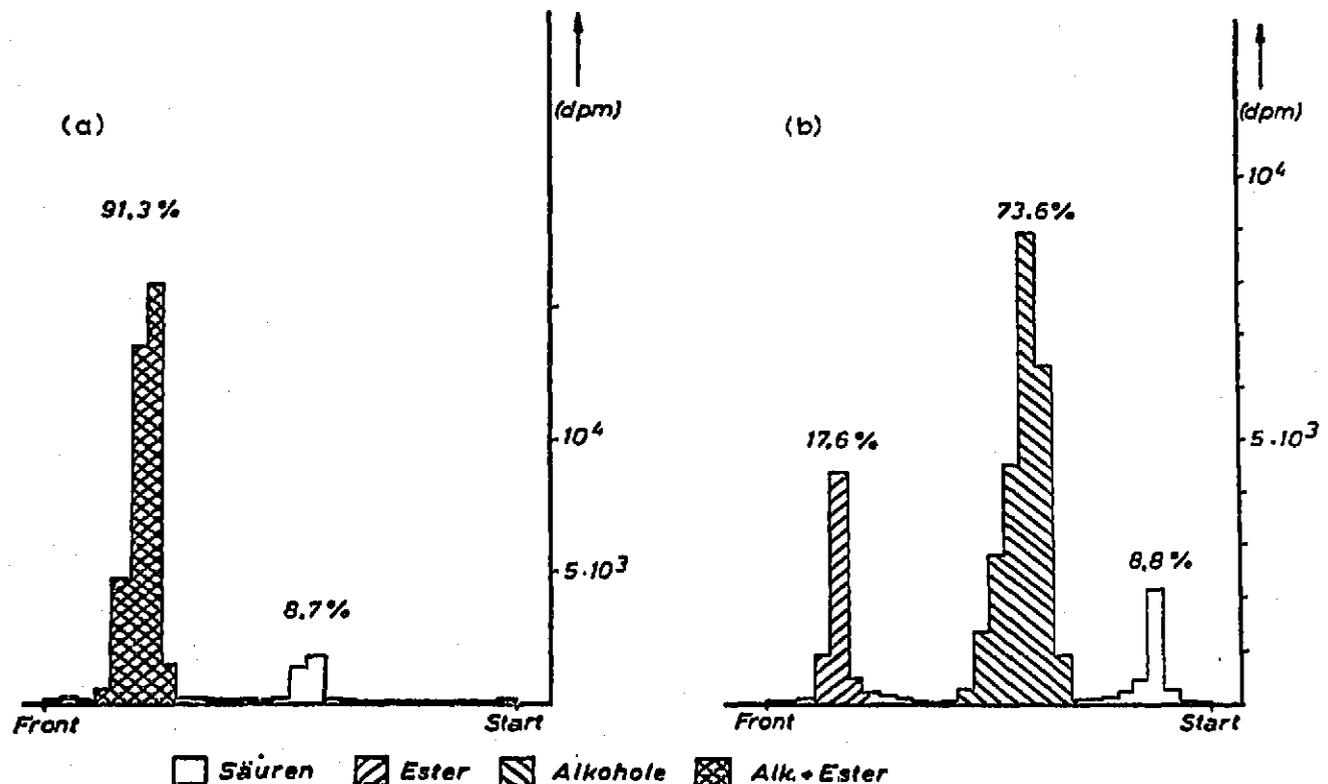


Fig. 4. Radiochromatogramme von Lipidgemisch IV (siehe Tabelle I). Dünnschicht-Scraper; Messer 5 mm breit. (a) Fließmittel a; (b) Fließmittel b.

beide Versuche keine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse auf (Fig. 3). Den Zuwachs an Genauigkeit und Zeitgewinn demonstrieren folgende Versuche: die Lipidgemische I bis IV wurden entweder zweimal mit demselben oder je einmal mit zwei verschiedenen Fließmitteln chromatographiert. Ein Chromatogramm ist innerhalb von 10 min mit dem Dünnschicht-Scraper vom Schichtträger abgetragen und für die Radioaktivitätsbestimmung im Flüssig-Szintillations-Spektrometer vorbereitet worden. Die Radiochromatogramme (Fig. 4) zeigen, dass die Lipidkomponenten nunmehr klar getrennt wurden, auch mit verschiedenen Fließmitteln ergaben sich praktisch gleiche Zusammensetzungen (Tabelle I).

TABELLE I

## ZUSAMMENSETZUNG TRITIUM-MARKIERTER METABOLITEN-GEMISCHE

Fertigplatte: Kieselgel H 0.25 mm der Firma Merck, Fließmittel: (a) *n*-Butanol, gesättigt mit 12.5 prozentigem  $\text{NH}_3$ ; (b) *n*-Hexan-Diisopropyläther-Methanol-12.5 prozentiges  $\text{NH}_3$  (100:20:10:0.15). Dünnschicht-Scraper; Messer 5 mm breit. Flüssig-Szintillations-Spektrometer: Packard Tricarb, Modell 3380.

Lipid-Gemisch	Fließmittel	Säuren (%)	Alkohole (%)	Ester (%)	Alkohole + Ester
					(%)
I	b	8.2	86.6	5.2	91.8
		8.7	87.3	4.0	91.3
II	b	19.5	72.3	8.2	80.5
		18.7	72.3	9.0	81.3
III	b	21.3	66.6	12.1	78.7
	a	22.6	—	—	77.4
IV	b	8.8	73.6	17.6	91.2
	a	8.7	—	—	91.3

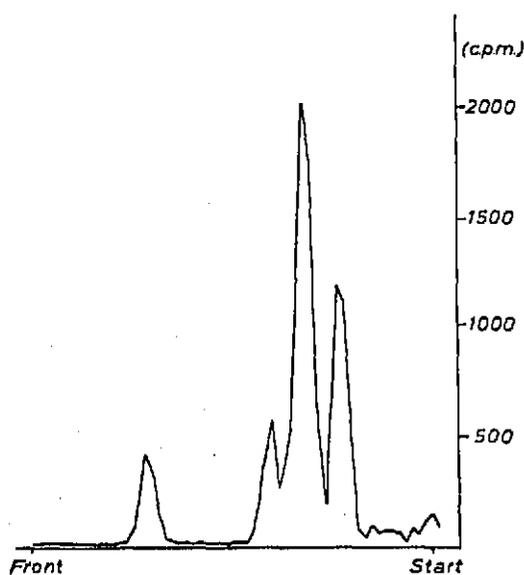


Fig. 5. Radiochromatogramm eines Lipidgemisches. Fließmittel b (siehe Tabelle I). Dünnschicht-Scraper; Messer 2.5 mm breit.

Benützt man statt der 5-mm Klingen solche von 2.5 mm Breite, spaltet man also das abgetragene Material in doppelt so viele Fraktionen auf, steigt die Auflösung entsprechend. Im Experiment konnten bei ähnlichen Lipidgemischen sonst nicht zu trennende Substanzgemische in ihre Komponenten aufgespalten werden (Fig. 5).

#### ZUSAMMENFASSUNG

Es wird ein halbautomatischer Scraper für Fertigplatten beschrieben. Dieser Scraper gestattet vollständigen Transfer der Zonen ohne Vermischen der Testsubstanzen. Das Gerät ist einfach in der Bedienung, die Zonen werden mit hoher analytischer Genauigkeit in kurzer Zeit abgetrennt.

#### LITERATUR

- 1 S. BJÖRKERUD, *J. Lipid Res.*, 10 (1969) 459.
- 2 F. J. RITTER UND G. M. MEYER, *Nature*, 193 (1962) 941.
- 3 F. SNYDER, *Anal. Biochem.*, 9 (1964) 183.
- 4 F. SNYDER UND H. KIMBLE, *Anal. Biochem.*, 11 (1965) 510.
- 5 F. SNYDER, *Atomlight*, 58 (1967) 1.
- 6 F. SNYDER UND D. SMITH, *Separ. Sci.*, 1 (1966) 709.
- 7 F. SNYDER, *Current Status of Liquid Scintillation Counting, Proc. Symp. Cambridge, Mass., March 31-April 3, 1969*, Grune and Stratton, New York, 1969.
- 8 G. KASANG, *Int. Symp. Gustation and Olfaction, Geneva, 1970*, Academic Press, London, New York, 1971, S. 245-250.
- 9 G. KASANG, *Z. Naturforsch.*, 23b (1968) 1331.
- 10 P. E. SCHULZE UND M. WENZEL, *Angew. Chem.*, 74 (1962) 777.

*J. Chromatogr.*, 59 (1971) 393-400