

CHROM. 5668

Die dünnschichtchromatographische Trennung einiger Aminopolyessigsäuren

Die Trennung verschiedener Äthylendiamintetraessigsäure-Chelaten mit Hilfe der Papierchromatographie ist von mehreren Autoren beschrieben worden¹⁻³, ebenso wie die Trennung von Chelaten weiterer Polyaminopolykarbonsäuren⁴⁻⁸. Unsere Arbeit hatte die Trennung der Stoffe vom Äthylendiamintetraessigsäure-Typ in der Form von Dinatrium- und Calcium-Chelaten mit der Dünnschichtchromatographie zum Ziel, die bisher mit dieser Technik nicht verfolgt wurden. Als Sorbent wurde Kieselgel und Sephadex verwendet. WIELAND UND DETERMANN⁹ haben festgestellt, dass das Dextrangel Sephadex ohne Bindemittel auf den Glasplatten hält und als Sorbent mit Erfolg verwendet werden kann. Ursprünglich wurde es zur Trennung von Makromolekülen verschiedener Grösse, zur Bestimmung des Molekulargewichtes und erst unlängst zur Trennung einfacher Kationen und Anionen¹⁰ ausgenutzt.

Experimentelles

Zur Trennung auf den Kieselgelschichten wurden 0.1 %ige Lösungen von Di- eventuell Trinatriumsalzen folgender Säuren verwendet: Äthylendiamintetraessigsäure (ÄDTE), Nitrioltriessigsäure (NTE), Diaminocyclohexantetraessigsäure (CDTE) und Diäthylentriamintetraessigsäure (DTPE). Zur Trennung auf den Sephadexschichten wurden auch 0.1 %ige Lösungen der Natriumsalze benutzt. Es wurde immer die Menge von 0.5 μ l aufgetragen.

Als Silikagelschichten wurden Kieselgelfolien "Siligram" angewandt. Zur Trennung auf Sephadex diente die Sorte Sephadex G 25 Superfine, 200-400 mesh (Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, Schweden).

Zur Trennung auf Kieselgel wurde das Fließmittel Äthanol-Azeton-Wasser (6:2:2) verwendet. Die Trennung auf dem Sephadex wurde teils mit 0.05 *M* Ammoniaklösung und teils mit Wasser durchgeführt.

Um die Flecken sichtbar zu machen, wurde in beiden Fällen folgendes Detektionsmittel verwendet: 1 ml 0.4 % Lösung von Ferriammoniumsulfat, 1 ml 0.6 % Lösung von Kobalt(II)nitrat und 2 g Ammoniumthiozyanat; das Gemisch wird mit Azeton zu 100.0 ml aufgefüllt und durchgemischt¹¹.

In beiden Fällen wurde aufsteigende Chromatographie in Kammern von 18 × 9 × 9 cm durchgeführt. Die Entwicklung wurde bei 20° durchgeführt; die Kammern wurden vorher mit dem verwendeten Fließmittel gesättigt. Im Falle Sephadex wurden auch die Platten 12 h in ammoniakalischer Atmosphäre gesättigt.

Zur Herstellung der Platten wurde im Falle Sephadex wie folgt gearbeitet: 7 g Sephadex wurden mit 300 ml Wasser gerührt und die Suspension zweimal mit demselben Volumen Wasser dekantiert. Das aufgequollene Gel wurde auf gut entfettete Platten in der Schichthöhe von etwa 0.2 mm aufgetragen. Die Platten wurden dann so lange getrocknet, bis die Gelkörner eben merkbar wurden. Nach längerer Trocknung steigt das Fließmittel langsam und nicht gleichmässig. Die übertrockneten Platten kann man durch besprühen mit Wasser und durch teilweise Trocknung wieder zur Anwendung neu herstellen¹². Die Entwicklungszeit lag zwischen 30 und 110 min.

Ergebnisse

Nach der Sichtbarmachung sieht man die untersuchten Aminopolyessigsäuren als weisse Flecke auf rosarotem Hintergrund. Eine Ausnahme bildet NTE, die nach der Sichtbarmachung gelb gefärbt wird. Die gefundenen Werte von allen vier studierten Stoffen sieht man in der Tabelle I.

TABELLE I

hR_F-WERTE DER STUDIERTEN SÄUREN

Verbindung	Kieselgel/Äthanol-Azeton-Wasser (6:2:2)	Sephadex/Ammoniak
NTE	70	33
ÄDTE	4	66
DCTE	93	44
DTPE	13	54

Diskussion

Von den in der Literatur für die Papierchromatographie dieser Stoffe beschriebenen Fließmitteln wurden einige überprüft, z.B. Isopropanol-0.2 N HCl (1:1)¹⁴, *n*-Amylalkohol-Azeton-Wasser (5:3:1)¹², Phenol-Wasser (4:1)⁵, *n*-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5)³. Die meisten davon haben sich für unsere Zwecke nicht bewährt. Das beschriebene Fließmittel Äthanol-Azeton-Wasser (6:2:2) hat sich als gut geeignet erwiesen.

Zur Trennung auf dem Sephadex hat sich die 0.05 M Ammoniaklösung besser bewährt als Wasser, obwohl mit Wasser die Natriumsalze der geprüften Säuren auch getrennt wurden. Sehr gute Trennung wird nach der Sättigung der Sephadexplatte über Nacht in einer Atmosphäre von 0.05 M Ammoniak erreicht.

Von den Nachweismitteln hat sich die Kombination eines schon früher verwendeten Mittels in der Papierchromatographie ähnlicher Stoffe gut bewährt¹². Die Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel und auf Sephadex ermöglicht die Trennung des Gemisches von vier Säuren und dadurch zuverlässigen qualitativen Nachweis bis zur Konzentration von 0.5 µg. Darin liegt der Hauptvorteil dieser Methode im Vergleich mit der Papierchromatographie, wo nach den Literaturangaben⁶ minimal nur 5 µg nachweisbar sind. Die Dünnschichtchromatographie ermöglicht also die Arbeit mit zehnmal verdünnten Lösungen und führt zum Nachweis dieser Stoffe in zehnmal niedrigerer Konzentration.

Die Zeitersparung und ganz einfache Einrichtung stellen weiteren grossen Vorteil dieser Methode dar. Man kann auch schon fertige Kieselgelplatten anwenden, was wieder viel Zeit erspart. Die Platten sind zum Auftragen fertig und können unbegrenzt lange aufbewahrt werden.

*Institut für Ärztliche und Pharmazentische
Fortbildung, Prag (Tschechoslowakei)*

A. ŠTÁHLAVSKÁ

*Lehrstuhl der Analytischen Chemie der Natur-
wissenschaftlichen Fakultät, Karls Universität,
Prag (Tschechoslowakei)*

M. MALÁT

- 1 J. R. A. ANDERSON UND E. C. MARTIN, *Anal. Chim. Acta*, 13 (1955) 253.
- 2 H. S. STRAIN, J. C. SULLIVAN, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 810.
- 3 D. G. HILL-COTTINGHAM, *J. Chromatogr.*, 8 (1962) 261.
- 4 A. G. HENWALL, *Soil Sci.*, 86 (1958) 126.
- 5 D. G. HILL-COTTINGHAM UND C. P. LLOYD-JONES, *Sci. Food Agr.*, 12 (1961) 69.
- 6 J. ŠYKORA, *Amer. Med. Ass. Arch. Ind. Health*, 21 (1960) 24.
- 7 V. REŠL, *Czech. Dermatol.*, 36 (1961) 287.
- 8 V. REŠL, *Symp. Dermatol., Karls Universität, Prag, 1962*, 1. Teil, S. 277.
- 9 TH. WIELAND UND H. DETERMANN, *Experientia*, 18 (1962) 431.
- 10 B. ZANE EGAN, *J. Chromatogr.*, 34 (1968) 382.
- 11 J. SIMONIDES, J. PLIUL AND V. NÁDVORNÍK, *Tschech. Pat. 131.935*, 1960.
- 12 J. ŠYKORA, *Kandidatsdissertation*, Karls Universität, Prag, 1964.
- 13 H. DETERMANN, *Experientia*, 18 (1962) 430.

Eingegangen am 22. Juli 1971

J. Chromatogr., 62 (1971) 476-478