

CHROM. 9849

Note

Chromatographie auf Celluloseacetat-Folien

II. Leitfarbstoffe für die Chromatographie auf Celluloseacetat-Folien

E. VON ARX und M. FAUPEL

Forschungslaboratorien der Division Pharma der Ciba-Geigy AG, Basel (Schweiz)

(Eingegangen am 30. November 1976)

In einer kürzlich publizierten Arbeit¹, wurde eine neuartige Anwendung von Celluloseacetat-Folien (Membran-Folien) als Trennschicht für die Chromatographie beschrieben. Dabei werden die Substanzlösungen auf die mit Fließmittel getränkte Folie aufgetragen, so dass während des anschliessenden Laufes keine Fronten beobachtet werden können.

Die Entwicklungszeiten müssen für die verschiedenen Substanzen und Fließmittel aufgrund von Erfahrungswerten bestimmt werden. Als Hilfsmittel wird nun die Verwendung eines Farbstoffgemisches empfohlen, das jeweils am Rand der Folie aufgetragen wird. Dieses Farbstoffgemisch kann sowohl zur Bestimmung der Laufstrecke oder Laufzeit, wie auch als Leitfarbstoff für die Identifizierung von zu chromatographierenden Substanzen verwendet werden.

Aus einer grösseren Reihe getesteter Farbstoffe wurden drei leicht zugängliche ausgewählt. Ein Gemisch dieser drei Farbstoffe eignet sich für alle bisher angewendeten Fließmittel (Tabelle I). In der vorliegenden Arbeit wird der Einsatz dieser Leit-

TABELLE I

VERWENDETE FLIESSMITTEL

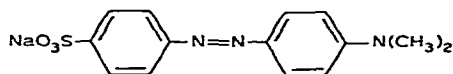
Fließmittel	Zusammensetzung
A	0.05 M Kaliumhydrogenphthalat (pH 4.0)
B	0.1 M Essigsäure + 0.1 M Natriumacetat pro l (pH 4.65)
C	0.09 M Kaliumchlorid + 0.01 M Salzsäure pro l (pH 2.0)
D	95.2 ml Eisessig + 26.5 ml Ameisensäure auf l 1 Wasser (pH 1.9)-Fließmittel B-Pyridin-Methanol (46:38:8:8)
E	0.025 M di-Natriumhydrogenphosphat + 0.025 M Kaliumhydrogenphosphat pro l (pH 6.88)
F	0.1 N HCl
G	0.03 M di-Natriumtetraborat + 0.042 M Natriumhydroxyd pro l (pH 10.0)
H	Wasser-Methanol-Pyridin (88:8:4)
I	Fließmittel B-Wasser-Methanol-Pyridin-Essigsäure (30:25:30:10:5)
K	Wasser-Methanol-Pyridin-konz. Ammoniak (55:30:10:5)
L	Wasser-Methanol-Pyridin-Eisessig (52:42:1:5)
M	Fließmittel B-Pyridin (90:10)

farbstoffe am Beispiel der Chromatographie von Calcitonin M und Calcitonin M-Sulfoxid in 12 verschiedenen Fließmitteln gezeigt.

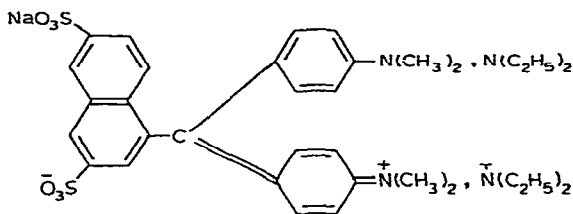
MATERIAL UND METHODEN

Leitfarbstoffe (Formeln nach Color Index)

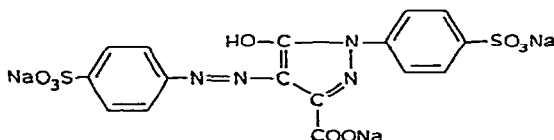
Methylorange



Kitonechtgrün V



Tartrazin



Es werden je 2 μ l einer 2% wässrigen Farbstofflösung aufgetragen.

Testsubstanzen

Als Testsubstanzen wurden je 20 μ g Calcitonin M und Calcitonin M-Sulfoxid aufgetragen.

Trennschicht

Celluloseacetat-Folien Cellogel (Chemetron, Mailand, Italien), 8 \times 17 cm, wurden eingesetzt.

Fließmittel

Fließmittel A–M (Tabelle I) wurden verwendet. Die Fließmittel C, D und F wurden auch in der ersten Arbeit¹ benützt.

Nachweisreagenz

Für den Nachweis der Peptide wurde die Modifikation des Reagens nach Barton *et al.*² verwendet: 2 g Kaliumhexacyanoferrat(III) und 1.7 g Eisen(III)-chlorid \cdot 6H₂O werden in 100 ml Wasser gelöst. Waschlösung: 5% wässrige Phosphorsäure.

Trennkammer und Arbeitsvorschrift

Für die Beschreibung der Kammer aus Plexiglas 18 \times 12 \times 6 cm, sowie der detaillierten Arbeitsvorschrift siehe erste Mitteilung¹.

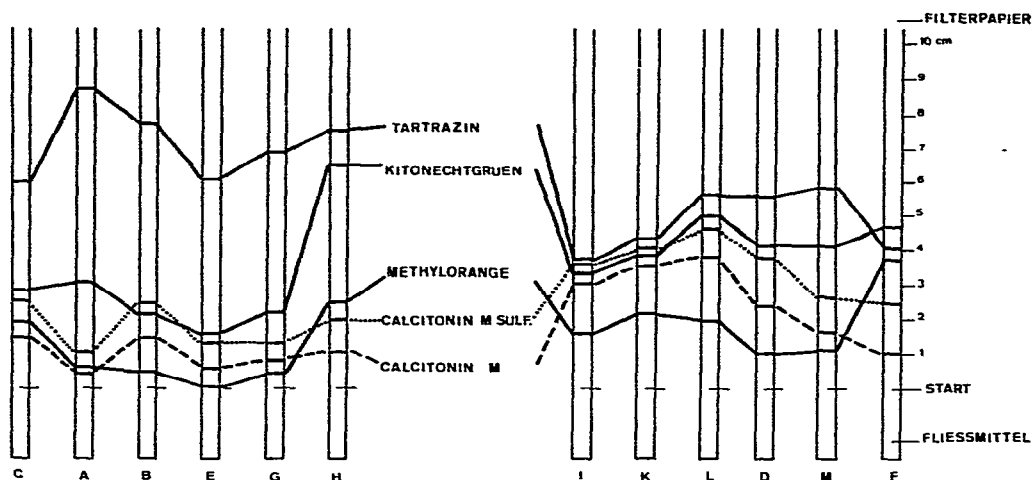


Fig. 1. Laufstrecken der Leitfarbstoffe und Testsubstanzen in den verschiedenen Fließmitteln (Tabelle I). Die Fließmittel C, D und F wurden bereits in der ersten Arbeit¹ verwendet.

ERGEBNISSE

In Fig. 1 sind die Laufstrecken der Leitfarbstoffe sowie von Calcitonin M und dessen Sulfoxid in 12 verschiedenen Fließmitteln, bei einer Laufzeit von 60 min, dargestellt. Mit Hilfe dieser Werte ist es möglich die ganze Folie für eine Trennung auszunutzen. So würde man zum Beispiel im Fließmittel K das Tartrazin 10 cm (gemessen vom Start) steigen lassen. Gleichzeitig kann das Farbstoffgemisch zur Identifizierung oder zur Lokalisierung der Banden bei präparativen Trennungen herangezogen werden. Das Leitfarbstoffgemisch erlaubt es auch zweidimensionale Trennungen auf Folien von 17×17 cm durchzuführen.

LITERATUR

- 1 E. von Arx und M. Faupel, *J. Chromatogr.*, 123 (1976) 439.
- 2 G. M. Barton, R. S. Evans und J. A. F. Gardner, *Nature (London)*, 170 (1952) 249.