

CHROM. 10,041

BEITRAG ZUR STANDARDISIERUNG DER ERGEBNISSE IN DER PAPIER- UND DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE

J. CHURÁČEK, H. PECHOVÁ und J. CHOVANEC

Lehrstuhl für analytische Chemie, Chemisch-Technologische Hochschule, Pardubice (Tschechoslowakei)

(Eingegangen am 4. November 1976; geänderte Fassung eingegangen am 26. Februar 1977)

SUMMARY

Contribution to the standardization of results in paper and thin-layer chromatography

Chromatographic indexes that facilitate a better reproducibility of paper chromatographic results have been proposed, using the homologous series of coloured derivatives of secondary amines as standard substances. When using dimethylformamide as the stationary phase the value of the indexes proved to be independent of the concentration of the impregnating solution of the stationary phase, of the temperature changes during the chromatographic process, of the ways of impregnation and of the skills of workers. It depends only on the type of the stationary phase and on the composition of the mobile phase. The obtained indexes can contribute to a better reproducibility of R_F values and to an easier and more objective identification of substances.

EINLEITUNG

Eines der Hauptprobleme der Papier- und Dünnschichtchromatographie ist die gute Reproduzierbarkeit gewonnener Angaben. Die Faktoren, die die Reproduzierbarkeit der R_F -Werte in der Papierchromatographie in starkem Masse beeinflussen, vor allem der Einfluss der stationären Phase, der Imprägnierungsverfahren, der Form und Grösse der Entwicklungskammer, der Sorptionseigenschaften des Papiers und der Arbeitsgewohnheiten der Arbeitenden selbst, werden in einer Reihe von Arbeiten¹⁻⁸ behandelt, die von auf experimentellem Wege bestimmten Angaben ausgehen.

In der Dünnschichtadsorptionschromatographie ist die Qualität des Adsorptionsmittels der Hauptfaktor, der die Schwankung der R_F -Werte beeinflusst. Bei der Charakterisierung der Aktivität von Adsorptionsmitteln geht man von der durch Snyder⁹ angeführten Beziehung aus, der den Begriff des dimensionslosen proportionalen Wertes der Oberflächenenergie eingeführt hat. Die Oberflächenenergie scheint bei dem vollaktivierten Adsorptionsmittel am grössten zu sein. Mit der Ausnutzung dieser Beziehung zur Standardisierung der R_F -Werte beschäftigen sich weitere Arbei-

ten¹⁰⁻¹⁴, die die Einführung einer Reihe von Standards zur Berechnung der relativen R_F -Werte vorschlagen.

Die Tatsache, dass es keine homologe Reihe gab, die die Forderung eines konstanten Zuwachses des R_M -Wertes in Abhängigkeit von der Anzahl der Kohlenstoffatome in dieser homologen Reihe erfüllte, behinderte bisher die Beziehung der R_F -Werte auf eine bestimmte Stoffreihe. Bisher handelte es sich immer um verschiedene Azofarbstoffe oder aromatische Kohlenwasserstoffe, bei denen die einzelnen Stoffe keine Glieder der homologen Reihe darstellten; oder es handelte sich um ähnliche Verbindungen mit zunehmendem Molekulargewicht oder Zuwachs von Phenylgruppen.

Nachdem wir verschiedene Gruppen organischer Stoffe chromatographiert hatten, stellte sich heraus, dass Derivate sekundärer Amine (Amide der 4-(N,N-Dimethylamino)-benzol-4'-azobenzoesäure) einerseits die Farbbedingung erfüllen, andererseits über ausgezeichnete chromatographische Eigenschaften verfügen, d.h. sie können gut in den verschiedensten Systemen mit Dimethylformamid als stationäre Phase getrennt werden. Gleichzeitig ist auch die Abhängigkeit des R_M -Wertes von der Anzahl der Kohlenstoffatome im Molekül des ursprünglichen Amins linear. Diese Tatsachen tragen dazu bei, dass Derivate sekundärer Amine als Standards in der homologen Reihe benutzt werden können.

Ferner wurde geprüft, ob die Veränderung des R_F -Wertes (mit verschiedenen Mengen stationärer Phase) bei Standardaminen und bei den gleichzeitig chromatographierten Stoffen (in demselben System und auf demselben Chromatogramm) konstant ist.

Als Messwert für die Konstanz wurde die den Kováts-Indexen analoge Beziehung (in der Gaschromatographie eingeführt) vorgeschlagen.

Der chromatographische Index I kann durch die folgende Beziehung ausgedrückt werden:

$$I = 200 \frac{(R_M)_s - (R_M)_{An}}{(R_M)_{A(n+2)} - (R_M)_{An}} + 100 n$$

$(R_M)_s = R_M$ -Wert des Stoffes s . 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzamid des mit n bezeichneten sekundären Amins hat einen nächstkleineren R_F -Wert in Bezug auf unbekanntem Stoff, der andere (bezeichnet mit $n + 2$) einen nächsthöheren R_F -Wert. Da bei Homologen dieser farbigen Amide die Anzahl der Kohlenstoffatome um 2 steigt, wurde als Amidindex von Dimethylamin 200, von Diäthylamin 400 usw. gewählt.

Bestimmt wurden I -Werte folgender homologer Derivatereihen von Alkoholen, Säuren und Aminen: Alkohole wie 4-Nitrobenzoate; Alkohole wie 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzoate; Alkohole wie 3,5-Dinitrobenzoate; Alkohole wie 2,4-Dinitrobenzyläther; Säuren wie 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azophenacyl-ester; Säuren wie 2,4-Dinitrobenzylester; Säuren wie 4-Nitrobenzylester; substituierte Phenole wie 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzoate; primäre Amine wie 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzamide.

EXPERIMENTELLES UND ERGEBNISSE

Hergestellt wurden Hunderte von Chromatogrammen auf verschiedenen

chromatographischen Papieren, Whatman Nr. 1 und 2 und Schleicher-Schüll 2040b, bei Temperaturen im Bereich von 17–24° unter Anwendung gewöhnlicher handelsüblicher, nicht gereinigter Lösungsmittel, Reinheitsgrad p.a.

Durch Chromatographieren dieser homologen Reihen zeigt sich, dass die *I*-Werte beinahe nicht durch die Konzentration der stationären Phase beeinflusst werden. Aus den gewonnenen Ergebnissen ist ersichtlich, dass die *I*-Werte des untersuchten Stoffes für alle Konzentrationen der stationären Phase im Bandbereich liegen, und diese Bänder für einzelne Homologe deutlich voneinander getrennt sind. Auf Grund dessen ist die Identifizierung der Stoffe also durchführbar. Aus den graphischen Abhängigkeiten chromatographischer Indexe von der Konzentration der stationären Phase kann man folgende Schlussfolgerungen ziehen.

Derivate der Alkohole

Bänder von 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzoaten sind relativ gut getrennt (Fig. 1). Die *I*-Werte für die einzelnen Konzentrationen von Dimethylformamid (DMF) sind gleichmässig über die ganze Bandbreite verstreut. Durch die stationäre Phase werden Benzoate relativ wenig adsorbiert. Höchstens *n*-Amylalkohol kann noch getrennt werden, und zwar auf 70% DMF. Sollen auch Derivate höherer Alkohole als C₅ getrennt werden, muss man eine andere mobile Phase, z.B. Hexan, Benzol (5:1) benutzen. Durch Zugabe von Benzol in die mobile Phase wird die Löslichkeit der Derivate wesentlich gesteigert; dadurch senken sich die Indexwerte.

4-Nitrobenzoate geben breitere Bänder, sie werden in der gegebenen mobilen Phase bis zu C₇ getrennt. Die Werte sind wieder gleichmässig im ganzen Band verstreut (Fig. 2).

Bei 3,5-Dinitrobenzoaten werden relativ schmale und getrennte Bänder (Fig. 3) gewonnen. Nur die 20%ige Imprägnierungslösung von Dimethylformamid verursacht eine wesentliche Bandverbreiterung vom Derivat des Äthylalkohols.

Bänder von 2,4-Dinitrobenzyläther sind ebenfalls sehr schmal und deutlich getrennt. Das System DMF–Hexan erscheint als sehr geeignet für die Trennung dieser Derivate. *I*-Werte können bis zum Alkohol C₇ (Fig. 4) berechnet werden.

Derivate der Säuren

4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azophenacylester werden im oben erwähnten System am schlechtesten getrennt, und es kommt nicht zu einer deutlichen Trennung der Säuren C₁ und C₂. In Fig. 5 ist eine Lücke für die nicht zur Verfügung stehende Säure C₇.

2,4-Dinitro- und 4-Nitrobenzylester von homologen Säuren verfügen über annähernd ähnliche reproduzierbare Ergebnisse. Würde man bei diesen Derivaten die *I*-Werte (gewonnen auf 20% DMF) nicht in Betracht ziehen, so wären die bestehenden Bänder halb so breit. Bei der 30-, 40-, 50- und 60%igen Imprägnierungslösung von DMF für 4-Nitrobenzylpropionsäureester, evtl. -buttersäureester, befinden sich die berechneten *I*-Werte praktisch auf einer Gerade (Figs. 6 und 7).

Aus 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azophenacylester bekommt man in diesem System [DMF–Hexan, Benzol (3:1)] deutlich getrennte Bänder für die Säuren C₂ und C₃. Andere Säuren sind schon sehr schlecht trennbar (Fig. 8). Der *R_F*-Wert der Säure C₁ ist kleiner als der *R_F*-Wert des ersten Standards; darum kann *I* nicht berechnet werden.

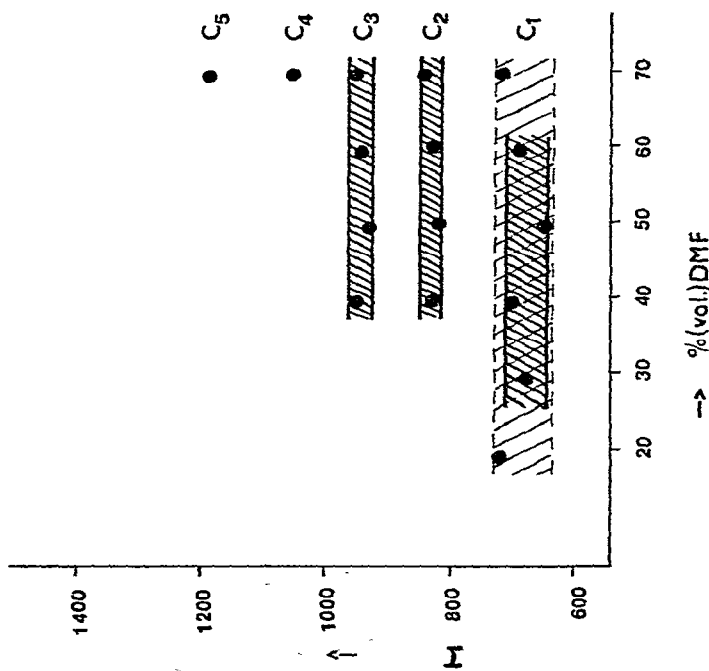
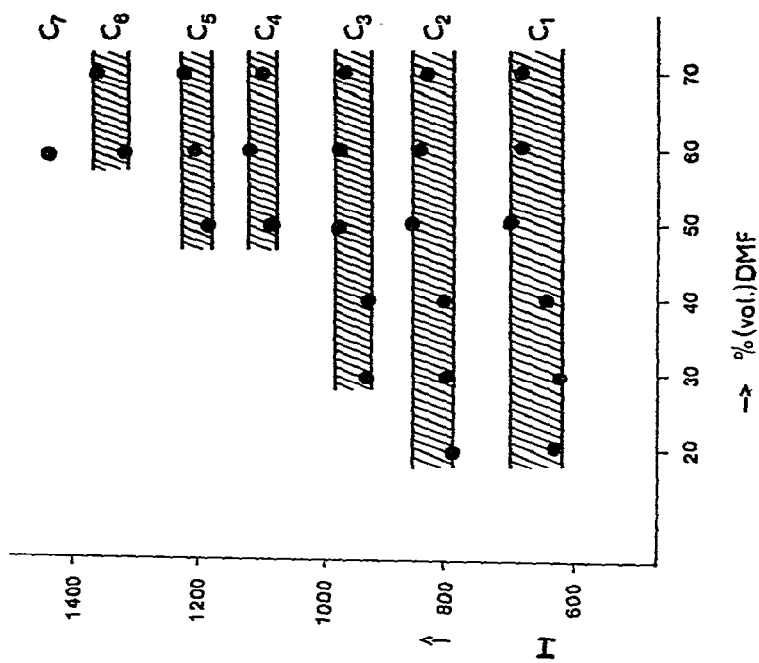


Fig. 1. H -Werte für Alkohole wie 4-(*N,N*-Dimethylamino)benzyl-4'-azobenzoate in Abhängigkeit von der Konzentration der stationären Phase. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan.

Fig. 2. H -Werte für Alkohole wie 4-Nitrobenzoate in Abhängigkeit von der Konzentration der stationären Phase. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan.

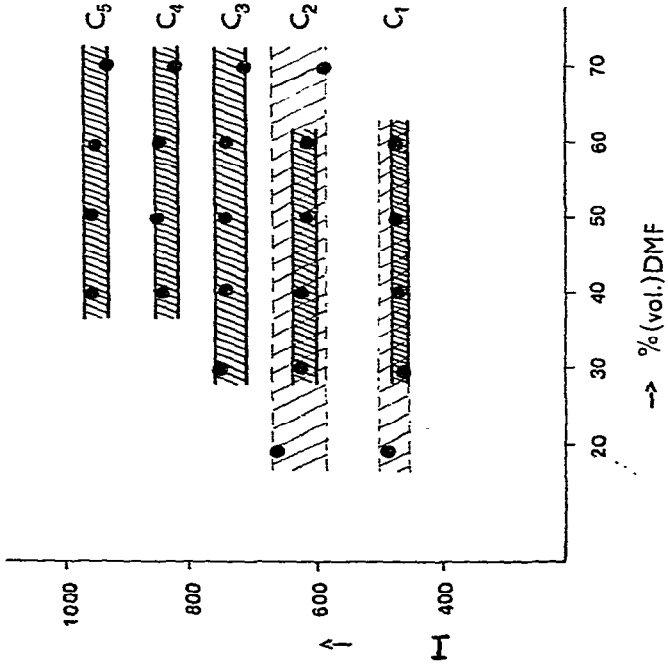
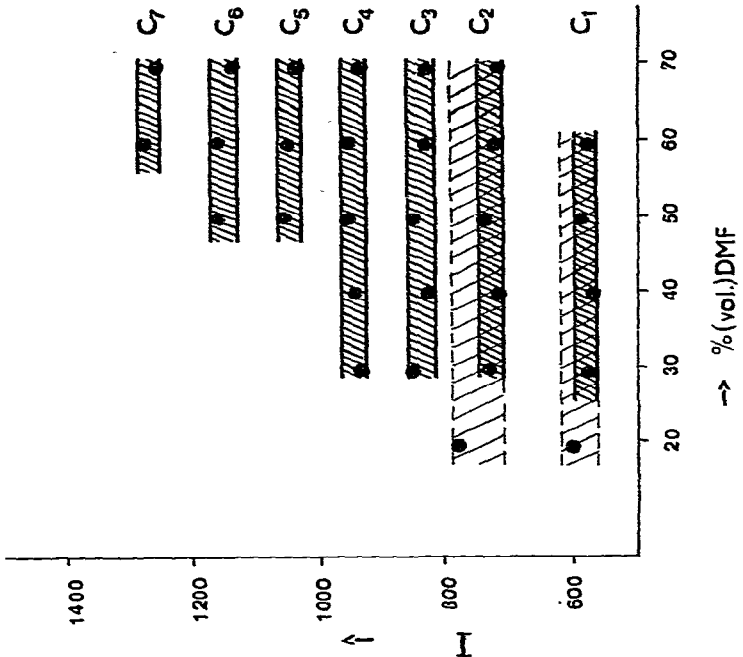


Fig. 3. R-Werte für Alkohole wie 3,5-Dinitrobenzoate in Abhängigkeit von der Konzentration der stationären Phase. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan.
Fig. 4. R-Werte für Alkohole wie 2,4-Dinitrobenzyläther in Abhängigkeit von der Konzentration der stationären Phase. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan.

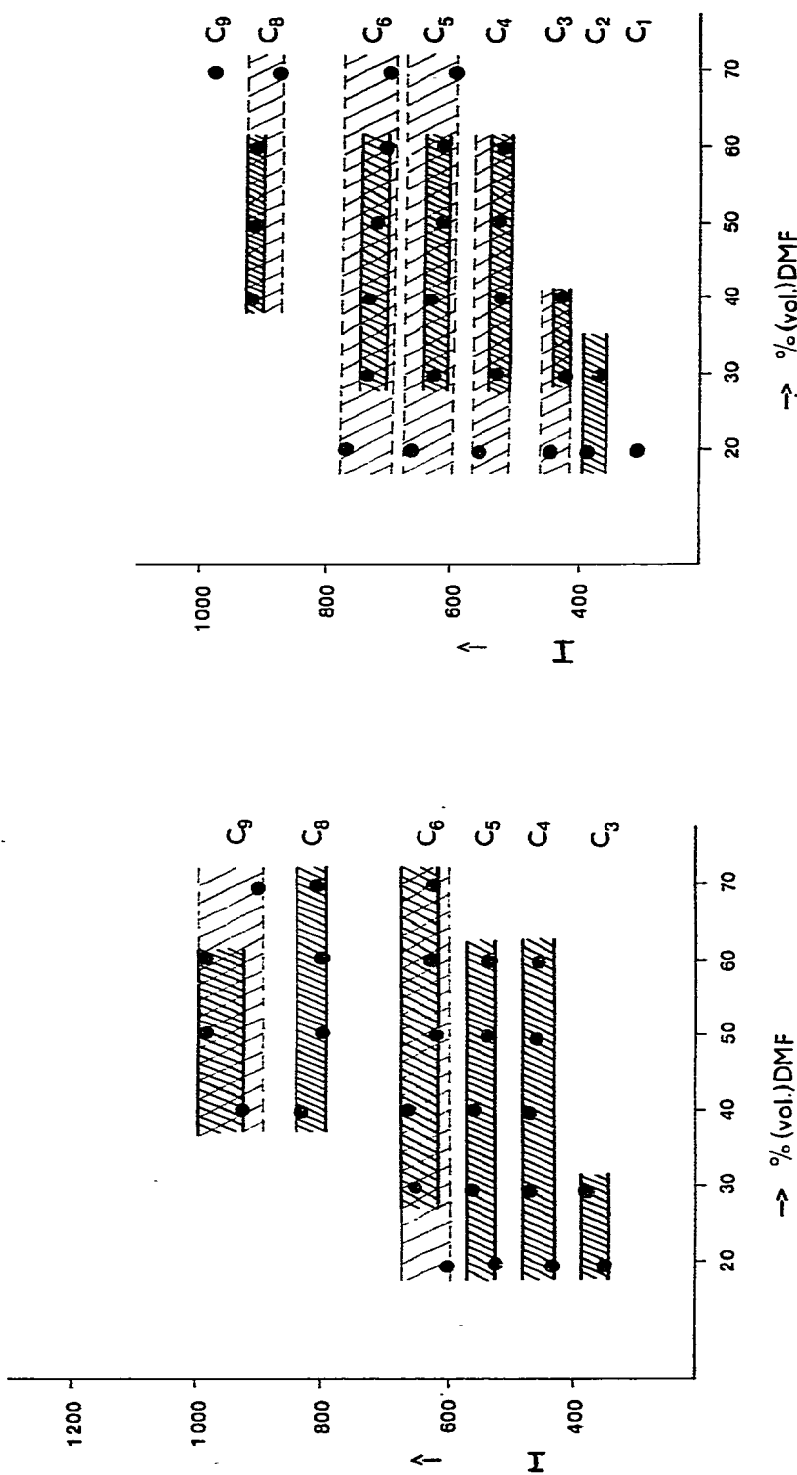


Fig. 5. H -Werte für Säuren wie 4-(N,N-Dimethylamino)benzyl-4'-azophenacyl ester in Abhängigkeit von der Konzentration der stationären Phase. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan.

Fig. 6. H -Werte für Säuren wie 2,4-Dinitrobenzyl ester in Abhängigkeit von der Konzentration der stationären Phase. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan.

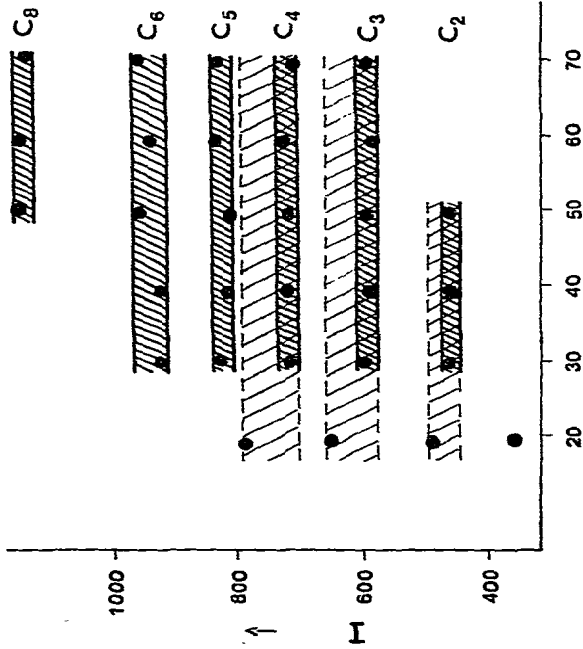


Fig. 7. *I*-Werte für Säuren wie 4-Nitrobenzylester in Abhängigkeit von der Konzentration der stationären Phase. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan.
 Fig. 8. *I*-Werte für Säuren wie 4-(*N,N*-Dimethylamino)benzol-4'-azophenacylester in Abhängigkeit von der Konzentration der stationären Phase. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan, Benzol (3:1).

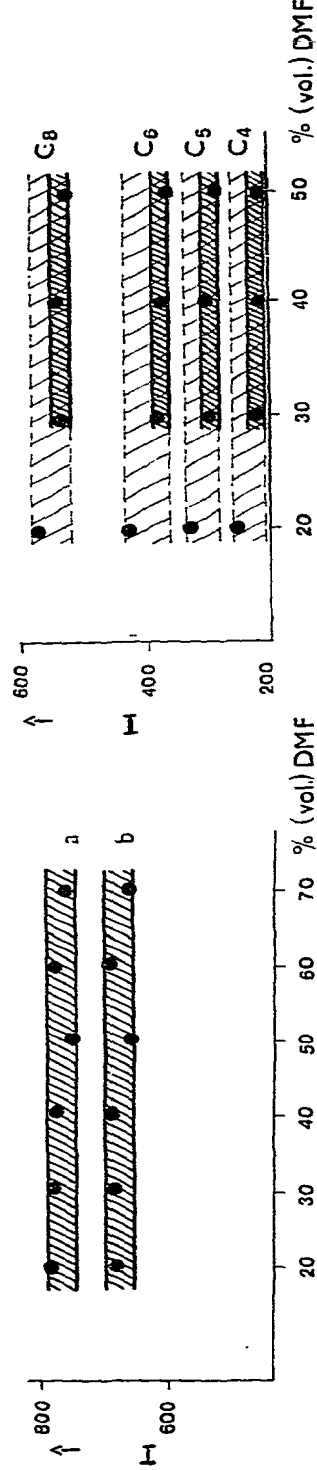


Fig. 9. *I*-Werte für 4-(*N,N*-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzoate von Chlorphenol (a) und *o*-Kresol (b) in Abhängigkeit von der Konzentration der stationären Phase. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan.
 Fig. 10. *I*-Werte für primäre Amine wie 4-(*N,N*-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzamide in Abhängigkeit von der Konzentration der stationären Phase. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan, Benzol (3:1).

Derivate der Phenole

Das angewandte System war nicht für eine Trennung von Phenolen wie z.B. 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzoate geeignet, darum wurden als Beispiel zwei sich deutlicher trennende Derivate des Phenols gewählt (Fig. 9).

Derivate der Amine

Im System DMF-Hexan, Benzol (3:1) geben 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzamide primärer Amine relativ breite Bänder, was teilweise durch die hohen *I*-Werte für 20% DMF verursacht wird (Fig. 10).

DISKUSSION

Aus diesen Ergebnissen ist ersichtlich, dass die *I*-Werte der zu bestimmenden Stoffe nicht von der Konzentration der stationären Phase abhängen. Nur die Indexe einiger Derivate homologer Reihen sind bei Verwendung von 20%iger DMF-Imprägnierungslösung offenbar grösser als bei anderen Konzentrationen der stationären Phase. Ein praktisches Beispiel für eine solche Trennung wird in Fig. 11 und 12 dargestellt.

Aus den Ergebnissen ist zu ersehen, dass bei der Identifizierung einer Verbindung nur ihre Bezeichnung (z.B. Derivat von Säuren, Aminen u.a.) und das chromatographische System, ohne Angabe über Lösungskonzentration des DMFs und über den Bereich des *I*-Wertes angeführt werden kann (z.B. Alkohole wie 3,5-Dinitrobenzoate, System: DMF-*n*-Hexan; Fig. 3) (Tabelle I).

Werden also unbekannte Stoffe und Standards gleichzeitig chromatographiert, so wird dadurch der Einfluss der Diffusion von der stationären Phase im Papier ausgeschaltet, d.h. der Einfluss von verschiedenen Imprägnierungsverfahren. Dadurch werden auch weitere Einflüsse, z.B. Einfluss von Arbeitenden, von der Reinheit benutzter Chemikalien, von Temperatur und von Sättigung der Atmosphäre beseitigt. Unsere Arbeit gibt einen Beitrag zu der oft diskutierten Frage der wirklichen Konzentration von stationärer Phase in Papier oder Schicht. Ferner besteht die Möglichkeit, die gewonnenen Ergebnisse auch auf andere Systeme von Lösungsmitteln

TABELLE I

ANFÜHRUNG DER ERGEBNISSE FÜR DIE IDENTIFIZIERUNG VON ALKOHOLE ALS 3,5-DINITROBENZOATE IM SYSTEM DMF-*n*-HEXAN

<i>Alkohol</i>	<i>I in Bereich</i>	ΔI aus der <i>Bereichmitte</i>
Methanol	460-475	152.5
Äthanol	605-635	112.5
Propanol	710-755	100.0
Butanol	810-855	112.5
Pentanol	930-960	

Durchschnittswert *I* für Zuwachs einer Methylengruppe: $\Delta I_{-CH_2-} = 113.4$

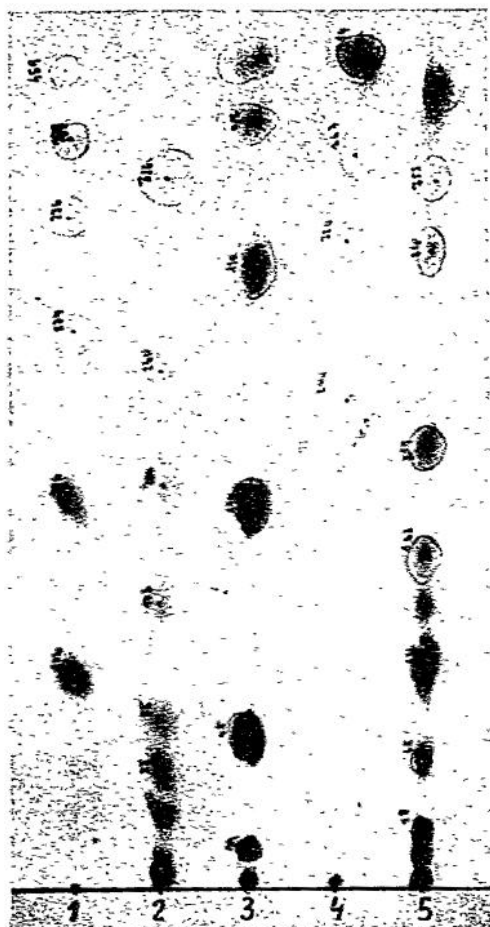


Fig. 11. Papierchromatographische Trennungen. Papier, Whatman Nr. 1; Temperatur, 18–20°; Imprägnierung, DMF–Hexan. 1 = 3,5-Dinitrobenzoate von Alkoholen C_1 – C_5 ; 2 = 2,4-Dinitrobenzylester von Säuren C_1 – C_6 , C_8 und C_9 ; 3 = 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzamide von sekundären Aminen C_2 – C_{12} (Standardreihe); 4 = 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzoate von π -Alkoholen C_1 – C_4 ; 5 = 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azophenacyl-ester von Säuren C_1 – C_6 , C_8 , C_9 und C_{12} .

Fig. 12. Papierchromatographische Trennungen. Papier, Whatman Nr. 1; Temperatur, 18–20°; Imprägnierung, DMF–Hexan, Benzol (3:1). 1 = 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzamide von primären Aminen C_1 – C_6 und C_8 ; 2 = 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azobenzamide von sekundären Aminen C_2 – C_{12} (Standardreihe); 3 = 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azophenacyl-ester von Säuren C_1 – C_4 ; 4 = 4-(N,N-Dimethylamino)benzol-4'-azophenacyl-ester von Säuren C_5 , C_6 , C_8 und C_9 .

anzuwenden. Ferner soll der Nachweis erbracht werden, dass das durchgeführte Standardisierungsverfahren auch die Standardisierung von Adsorptionsmitteln in der Dünnschichtchromatographie ermöglicht.

Die Beurteilung der zur Berechnung gewählten Chromatogramme erfolgte nur auf visuellem Wege. Zur Berechnung von I aus den gemessenen Werten (Entfernungen von Flecken und Front vom Start in mm angegeben) wurde ein Programm für

Computer Odra 1013 in der Sprache Autokod Most F 13 aufgestellt. Die auf diesem Wege gewonnenen I -Werte von Derivaten einzelner homologer Reihen sind in der Tabellen II–XI angeführt. Diese Werte können als chromatographische Konstanten bei Identifizierung entsprechender Stoffe dienen.

Zum Schluss kann festgestellt werden, dass durch Einführung von Indexen ein gewisser Fortschritt in der Papierchromatographie erreicht wurde, obwohl in diesem Fall nur bei DMF als stationäre Phase. Die Konzentration der stationären Phase in der Imprägnierungslösung spielt nur im Falle der Stoffbeweglichkeit auf dem Chromatogramm eine Rolle.

Scheiden wir beide Höchstkonzentrationen der Imprägnierungslösung von stationärer Phase aus, d.h. 20% und 70% (vor allem 20% Lösung), so werden die begrenzten Bänder sehr schmal (Fig. 1–10); und die Identifizierungsgenauigkeit sowie die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse nehmen wesentlich zu. Für die Praxis folgt daraus die Schlussfolgerung, dass sich die optimale Menge von DMF in der Imprägnierungslösung im Bereich von 30–60% bewegen sollte, wobei die Erhöhung oder Herabsetzung der R_F -Werte von chromatographierten Stoffen durch eine Veränderung der Zusammensetzung der mobilen Phase erreicht werden soll. Bei Einhaltung dieser Bedingungen brauchte man nur die Zusammensetzung der mobilen Phase und die Art der stationären Phase anzugeben (in unserem Falle DMF), die Angabe über Konzentration der Imprägnierungslösung würde wegfallen. Andere Einflüsse, die die Reproduzierbarkeit der R_F -Werte verschlechtern (Flüchtigkeit von DMF, Imprägnierungsverfahren, Geschicklichkeit der Arbeitenden), würde man ausschalten.

Zuletzt können Grundsätze festgestellt werden, auf die bei Ermittlung der Berechnung und praktischer Ausnutzung von Indexen zu achten ist:

- (1) Die Glieder der Standardreihe müssen sich gut trennen.
- (2) Die Standardstoffe werden gleichzeitig auf dem gleichen Chromatogramm neben den getrennten Stoffen aufgetragen (Fig. 11 und 12).
- (3) Wenn möglich verzichten wir auf Systeme, in denen die Imprägnierungslösung extreme Konzentrationswerte erreicht (d.h. 20- und 70%ige Lösung); dadurch wird die Reproduzierbarkeit grösser und die Bänder werden wesentlich schmaler (Fig. 1–10).
- (4) Bei Bespritzung farbloser Stoffe mit Detektionsmittel sollten Flecke von Standards verdeckt werden.
- (5) Wenn sich lange, asymmetrische Flecken bilden, wird die Entfernung vom Schwerpunkt des Fleckes ausgemessen.

Bei Einhaltung der angeführten Grundsätze ist die Indexermittlung vorteilhaft; weil die gute Reproduzierbarkeit nicht abhängt: (1) von der benutzten Sorte des chromatographischen Papiers; (2) von der Reinheit benutzter Lösungsmittel; (3) von der Menge der stationären Phase im Papier; so ist sie auch unabhängig von der Konzentration der stationären Phase in der Imprägnierungslösung; (4) vom Imprägnierungsverfahren; (5) von der Temperaturschwankung während der chromatographischen Trennung; (6) von der Art, wie man die Proben am Start aufträgt; (7) von der geometrischen Anordnung der Entwicklungsanlage; (8) von der vollkommenen Sättigung der chromatographischen Kammer durch Dämpfen von Lösungsmitteln, die als mobile und stationäre Phase benutzt wurden; (9) von der Entfernung des Startes vom Niveau der mobilen Phase; (10) von den Arbeitsgewohnheiten des Arbeitenden selbst.

TABELLE II

I-WERTE FÜR ALKOHOLE WIE 4-(N,N-DIMETHYLAMINO)BENZOL-4'-AZOBENZOATE

C = Anzahl der Kohlenstoffatome; \bar{X} = Durchschnittswert der chromatographischen Indexe I ; n = Anzahl der Chromatogramme; s = massgebende Abweichung. Temperatur, 18-20°; Papier, Whatman Nr. 1; Lösungsmittelsystem: DMF-Benzol.

C Konzentration der stationären Phase (%)

	20			30			40			50			60			70		
	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s
1	712	6	24	674	10	13	696	9	50	663	9	31	680	9	12	696	7	23
2	—	—	—	—	—	—	824	9	37	807	9	20	812	9	15	830	7	15
3	—	—	—	—	—	—	942	9	20	919	9	21	928	9	19	940	7	25
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1043	7	44
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1168	7	28

TABELLE III

I-WERTE FÜR ALKOHOLE WIE 4-NITROBENZOATE

C, \bar{X} , n und s , und Temperatur und Papier: s. Tabelle II. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan.

C Konzentration der stationären Phase (%)

	20			30			40			50			60			70		
	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s
1	625	5	30	620	5	25	638	5	45	698	5	18	673	5	29	668	5	14
2	785	5	22	799	5	43	803	5	26	849	5	26	836	5	29	833	5	20
3	—	—	—	918	5	28	923	5	32	970	5	26	966	5	30	961	5	16
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1075	5	32	1109	5	34	1088	5	19
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1177	5	22	1193	5	28	1211	5	12
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1305	5	28	1356	5	50
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1436	5	26	1502	5	60

TABELLE VIII

I-WERTE FÜR SÄUREN WIE 4-NITROBENZYLESTER

C, \bar{X} , n und s , und Temperatur und Papier: s. Tabelle II. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan.

C	Konzentration der stationären Phase (%)																		
	20			30			40			50			60			70			
	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	
1	354	5	13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	496	5	66	446	5	11	471	5	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	627	5	52	583	5	16	604	5	21	647	5	15	—	—	—	597	5	21	—
4	745	5	34	729	5	60	716	5	18	764	5	14	728	5	15	722	5	16	—
5	—	—	—	823	5	43	818	5	18	861	5	16	835	5	19	826	5	26	—
6	—	—	—	—	—	—	921	5	23	956	5	18	941	5	21	837	5	21	—
8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1154	5	18	1149	5	33	1142	5	19	—
12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1535	5	32	1560	5	32	—

TABELLE IX

I-WERTE FÜR 4-(N,N-DIMETHYLAMINO)BENZOL-4'-AZOBENZOATE VON CHLORPHENOL (1) UND *o*-KRESOL (2)C, \bar{X} , n und s , und Temperatur und Papier: s. Tabelle II. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan.

C	Konzentration der stationären Phase (%)																		
	20			30			40			50			60			70			
	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	\bar{X}	n	s	
1	614	7	22	679	8	13	674	7	22	661	7	21	684	7	9	661	7	14	—
2	782	7	19	768	8	18	767	7	28	751	7	22	773	7	10	765	7	10	—

TABELLE X

I-WERTE FÜR SÄUREN WIE 4-(N,N-DIMETHYLAMINO)BENZOL-4'-AZOPHENACYL-ESTER

C, \bar{X} , *n* und *s*, und Temperatur und Papier: s. Tabelle II. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan, Benzol (3:1).

<i>C</i>	Konzentration der stationären Phase (%)											
	20			30			40			50		
	\bar{X}	<i>n</i>	<i>s</i>	\bar{X}	<i>n</i>	<i>s</i>	\bar{X}	<i>n</i>	<i>s</i>	\bar{X}	<i>n</i>	<i>s</i>
2	261	5	24	232	5	13	238	5	25	230	5	16
3	384	5	26	353	5	16	364	5	26	350	5	17
4	487	5	28	452	5	25	463	5	32	441	5	24
5	—	—	—	513	5	23	572	5	33	559	5	33
6	—	—	—	583	5	21	668	5	35	600	5	33

TABELLE XI

I-WERTE FÜR 4-(N,N-DIMETHYLAMINO)BENZOL-4'-AZOBENZAMIDE VON PRIMÄREN AMINEN

C, \bar{X} , *n* und *s*, und Temperatur und Papier: s. Tabelle II. Lösungsmittelsystem: DMF-Hexan, Benzol (3:1).

<i>C</i>	Konzentration der stationären Phase (%)											
	20			30			40			50		
	\bar{X}	<i>n</i>	<i>s</i>	\bar{X}	<i>n</i>	<i>s</i>	\bar{X}	<i>n</i>	<i>s</i>	\bar{X}	<i>n</i>	<i>s</i>
4	251	5	26	212	5	7	210	5	12	208	5	7
5	329	5	16	287	5	15	292	5	13	279	5	19
6	412	5	25	364	5	23	370	5	11	361	5	15
8	572	5	20	525	5	16	536	5	13	523	5	28

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden chromatographische Indexe vorgeschlagen, die eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse in der Papierchromatographie ermöglichen. Als Standardstoffe wurden homologe Reihen der von den sekundären Aminen abgeleiteten Farbdervivate benutzt. Bei Verwendung von Dimethylformamid als stationäre Phase zeigte sich, dass der Indexwert nicht von der Konzentration der Imprägnierungslösung, von der Temperaturveränderung während des chromatographischen Prozesses, von den Imprägnierungsverfahren und von den Arbeitsgewohnheiten der Arbeitenden selbst abhängig ist. Er hängt nur von der Art der stationären Phase und von der Zusammensetzung der mobilen Phase ab. Die festgestellten Indexe sollen zur wesentlichen Verbesserung der Reproduzierbarkeit der R_f -Werte und zur leichteren und objektiven Identifizierung der Stoffe beitragen.

LITERATUR

- 1 D. S. Galanos und W. M. Kapoulas, *J. Chromatogr.*, 13 (1964) 128.
- 2 J. Churáček, *J. Chromatogr.*, 33 (1968) 45.

- 3 A. Grüne, *J. Chromatogr.*, 33 (1968) 28.
- 4 J. Churáček, *Scientific Papers, VŠCHT, Pardubice*, 21 (1969) 51.
- 5 J. Michal und G. Ackermann, *J. Chromatogr.*, 33 (1968) 38.
- 6 R. A. Clayton, *Anal. Chem.*, 28 (1956) 904.
- 7 G. Zimmermann, *Z. Anal. Chem.*, 138 (1953) 321.
- 8 G. Kowbakany und H. G. Cassidy, *Anal. Chem.*, 24 (1952) 643.
- 9 L. R. Snyder, *Principles of Adsorption Chromatography*, Marcel Dekker, New York, 1968.
- 10 L. Silverman und W. Houch, *Anal. Chem.*, 27 (1955) 1956.
- 11 P. Decker, *Naturwissenschaften*, 45 (1958) 464.
- 12 F. Geiss, H. Schlitt und A. Klose, *Z. Anal. Chem.*, 213 (1965) 322.
- 13 F. Geiss, H. Schlitt und S. Sandroni, *J. Chromatogr.*, 48 (1970) 46.
- 14 J. H. Dhont, C. Vinkenborg, H. Compaan, F. J. Ritter, A. Verweij und R. A. de Zeeuw, *J. Chromatogr.*, 130 (1977) 205.