

Auswertung von Papierchromatogrammen mit dem Beckman-Photometer.

Von
E. Treiber und H. Koren*.

Aus dem Institut für theoretische und physikalische Chemie
der Universität Graz.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 26. März 1953. Vorgelegt in der Sitzung am 23. April 1953.)

Die Auswertung von Papierchromatogrammen farbloser Substanzen stößt auf Schwierigkeiten, wenn lediglich die UV-Absorption zur Auffindung und gegebenenfalls Identifizierung herangezogen werden kann (z. B. Photoprintverfahren). Im vorliegenden wird über eine einfache Auswertung von Papierchromatogrammen im UV mit Hilfe eines *Beckman*-Spektrophotometers berichtet.

Die Auswertung von Papierchromatogrammen setzt die Sichtbarmachung der gewanderten Komponenten bei fehlender Eigenfarbe voraus; die Anwendbarkeit der Chromatographie zur Trennung und Erkennung von Substanzen ist somit auch an diese Bedingung geknüpft. Diese Sichtbarmachung, auch vielfach das „Entwickeln“ des Papierchromatogramms genannt, wird bei den farblosen Substanzen durch geeignete Farbreaktionen erzielt. Sind geeignete und hochempfindliche Farbreaktionen nicht bekannt, so kann auch eine gegebenenfalls vorhandene Fluoreszenz, Radioaktivität u. dgl. zur Erkennung des Stoffes und Ermittlung seines R_f -Wertes mit Erfolg herangezogen werden¹. Schließlich wurde im Prinzip auch schon von mehreren Seiten die Absorption von UV-Licht (gefilterte Quecksilberdampfampe) zur Sichtbarmachung herangezogen (Photoprintverfahren²).

* Dzt. in Fa. Dr. *Slevogt*, Wessobrunn b. Weilheim, Obb.

¹ *F. Cramer*, Papierchromatographie. Weinheim (1952).

² *R. Markham* und *J. D. Smith*, *Biochemic. J.* **45**, 294 (1949); *Nature* **163**, 250 (1949).

Von letzterem Gedanken geleitet, haben wir nun mit Erfolg versucht, das lichtelektrische *Beckman*-Spektrophotometer zur Erkennung farbloser, im UV kräftig absorbierender Verbindungen zu benützen.

Wir führen zu diesem Zwecke das getrocknete Papierchromatogramm, frei eingespannt in einem Metallrahmen, der außen eine geeignet angebrachte Zentimeterskala *S* trägt (Abb. 1), zwischen Monochromator und Photozelle vorbei. Der Meßvorgang gestaltet sich wie folgt: Nach dem Einbrennen des *Beckman*-Gerätes wird in üblicher Weise zunächst

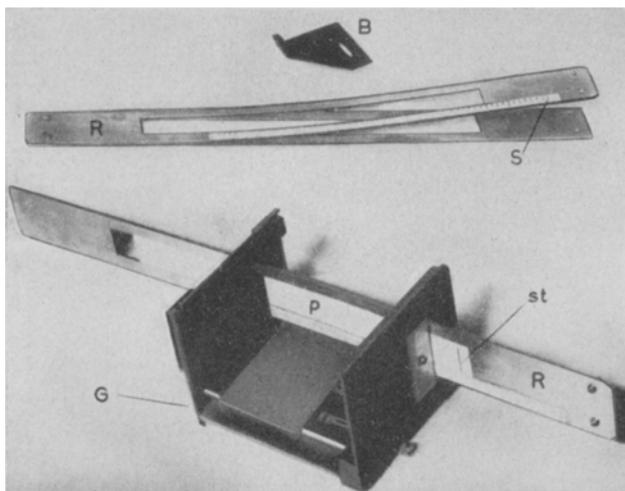


Abb. 1 Zusatzeinrichtung zum *Beckman*-Spektrophotometer.

Oben: Einspannrahmen *R* mit Maßstab *S* und Schlitzblende *B*. Unten: Küvettengehäuse *G* mit eingeschobenem Papierchromatogramm *p* im Halterahmen *R* (Startlinie *st*).

der Dunkelstrom auf Null eingestellt. Bei richtig gewarteten Akkumulatoren, gegebenenfalls nach dem Zwischenschalten zweier Niedervolt-Elektrolytkondensatoren von 1000 bis 3000 MF zwischen Heizkreis (2 V) und Potentiometerkreis (4 V), bleibt erfahrungsgemäß durch fast 1 Std. der Wert des Dunkelstromes hinreichend konstant. Auch die Helligkeitskonstanz der Wasserstofflampe, die von einem spannungsgeregelten Netzgerät gespeist wird, ist bei normalem ruhigem Lichtnetz für die qualitative Erkennung meist hinreichend; im gegenteiligen Fall kann noch eine geeignete Vorstabilisation, z. B. mit einem Regeltrafo³ an Stelle des üblichen Autotransformators zur Reduktion der Spannung von 220 V auf 125 V oder mittels Eisenwasserstoffwiderständen⁴ vor-

³ Z. B. Constant Voltage Transformer der Advance Components Ltd., Walthamstow, London E 17.

⁴ Vgl. dazu *L. Kahovec* und *E. Treiber*, Chem. Ing. Technik 25, 35 (1953).

genommen werden. Man regelt nun (bei der gewünschten Wellenlänge) — bei einer Stellung des Papierchromatogramms *vor* der Startlinie im Lichtweg (vgl. auch Abb. 2) — mit „Spaltbreite“ und „Empfindlichkeit“ bei der Stellung des Wahlschalters „Messbereich 1“ (!) (in ungünstigen Fällen bei 0,1) und Trommelstellung des Skalenknopfes „Absorption

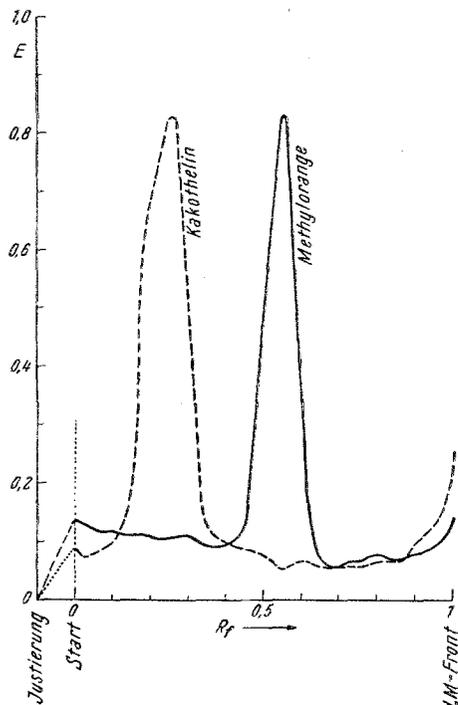


Abb. 2. Bestimmung zweier Testsubstanzen: Methylorange (bei $470\text{ m}\mu$ gemessen) und Kakothelin (bei $350\text{ m}\mu$ gemessen). Extinktion E gegen Papierlänge aufgetragen. Die effektive „Lauf-Länge“ ist in der Umzeichnung auf 1 normiert, so daß der R_f -Wert unmittelbar auf der Abszisse ablesbar ist.

(Abb. 1). Der Einspannrahmen R für das Papier läuft im Verlängerungsgehäuse G für die langen Küvetten (2 bis 10 cm), in welches zwei seitliche Schlitzte eingefräst wurden, die man bei normalen Absorptionmessungen wieder verschließen kann. Nähere Details sind unschwer der Abb. 1 zu entnehmen. Die Messung wird in einem Raum mit gedämpfter Beleuchtung ausgeführt. Die Markierung der Startlinie vor dem Aufbringen der Substanz erfolgt nicht mit Bleistift, sondern durch seitliches Anstechen mit einer Nadel. Erst nach dem Laufen und

bzw. Extinktion“ „Null“ das Anzeigeelement auf „Null“. Bei nicht zu kleinen Wellenlängen und wenig dichten Papieren ist diese Einstellung stets zu erreichen. Auf ein Imprägnieren mit Paraffinöl usw.⁵ kann verzichtet werden. Hierauf wird ohne weitere Verstellung das Papierchromatogramm in $\frac{1}{2}$ -cm-Schritten weitergeschoben und der Zeigerausschlag mit der Meßtrommel, wie üblich, auf Null kompensiert. Die Meßtrommel- bzw. Extinktionswerte werden in Abhängigkeit von der Längenskala S am Rahmen notiert. Spätestens am Ende der Meßreihe überzeugt man sich von der Unverändertheit der anfänglichen Justierung (Dunkelstrom und Anfangswert der Transparenz).

Zur Erhöhung der Anzeigempfindlichkeit haben wir vor das Photozellenfenster auf der „Aperturplatte“ eine 5 mm breite Spaltblende B eingesetzt

⁵ A. C. Paladini und L. F. Leloir, *Analyt. Chemistry* **24**, 1024 (1952).

Trocknen wird die Startlinie *st* durch einen Bleistiftstrich leichter erkennbar gemacht, so daß das Einspannen und Einstellen im Halterahmen *R* auf die Nullmarke erleichtert wird.

Die Abb. 2 zeigt nun an zwei gefärbten Testsubstanzen — Methylorange und Kakothelin (Nitrierungsprodukt des Brucins) —, die somit gleichzeitig visuell auswertbar sind, die Ergebnisse mit unserer Hilfsvorrichtung. Die photometrisch und visuell ermittelten R_f -Werte stimmen vollkommen überein. Praktische Ergebnisse mit der beschriebenen Methode werden an anderer Stelle veröffentlicht werden.

Für die Beistellung von Hilfsmitteln danken wir der Rockefeller Foundation sowie der Österr. Gesellschaft für Holzforschung.