Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 49 (1958)

Heft: 1

Artikel: Technische Verbesserung der zweidimensionalen Papierchromatographie

Autor: Vetsch, U. / Lüthi, H.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982523

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 14.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

[10]) *Bigoni*, Olearia **11**, 16 (1957).
[11]) *Doro*, Boll. Lab. Chim. Prov. **1953**, 67.
[12]) *Matarese*, Ann. Chim. Appl. **41**, 264 (1951).
[13]) Seifen und Waschmittel, Verlag H. Huber, Bern, S. 37 (1955).
[14]) *Mangold*, *Lamp* und *Schlenk*, J. Amer. Chem. Soc. **77**, 6070 (1955).
[15]) Deutsche Einheitsmethoden zur Fettuntersuchung, Abteilung Fette VI 5 (53), Wissenschaftliche Verlags-Gesellschaft, Stuttgart 1950.
[16]) *J. B. Martin*, J. Amer. Chem. Soc. **75**, 5483 (1953).
[17]) *Kruty*, *Segur* und *Miner*, J. Amer. Oil Chemist's Soc. **31**, 466 (1954).
[18]) *Dowse* und *Saunders*, Biochem. J. **62**, 457 (1956).
[19]) *M. Potterat*, diese Mitt. **47**, 66 (1956).
[20]) Seifen und Waschmittel, S. 28 (1955).

Technische Verbesserung der zweidimensionalen Papierchromatographie

Von *U. Vetsch* und *H. Lüthi*
(Eig. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil)

Im Verlaufe der letzten Jahre sind zahlreiche technische Verbesserungen der Papierchromatographie bekannt geworden. Die meisten von ihnen betreffen das eindimensionale Verfahren.

Wir möchten hier auf eine Verbesserung des zweidimensionalen Verfahrens hinwiesen, wie sie im Laufe unserer Arbeiten über die Bestimmung der Aminosäuren in verschiedenen Fruchtsäften und Weinen ergeben hat.

In vielen Fällen ziehen wir das zweidimensionale Verfahren der eindimensionalen Trennung deshalb vor, weil wir damit einen *Gesamtüberblick* erhalten können. Auf diese Weise ist auch ein quantitatives Abschätzen und Vergleichen der einzelnen Aminosäuren im Rahmen des Ganzen wesentlich besser möglich.

Normalerweise benützen wir das eindimensionale Trennungsverfahren auf gepufferten Papieren nach *Mc.Farren* [1]), doch erlaubt dieses keinen Ueberblick. Ferner führt die Entwicklung in verschiedenen Laufmitteln erfahrungsgemäss bei gleichen Ausgangskonzentrationen des Substanzgemisches zu sehr unterschiedlichen Farbintensitäten der Flecke in den einzelnen Läufen. Sie können daher nicht zu Vergleichen herbeigezogen werden.

Das zweidimensionale Verfahren weist jedoch auch gewisse Nachteile auf. So können sich Unreinheiten des Lösungsmittels aus dem ersten Lauf im zweiten störend bemerkbar machen. Vor allem wäre es wünschenswert, Testsubstanzen in genügender Menge mitlaufen zu lassen, um bereits nach dem ersten Lauf über das zu erwartende Resultat möglichst weiten Aufschluss zu erhalten. Damit

würde mit dem zweiten Lauf eine sichere Trennung und durch richtige Auswahl der Testsubstanzen eine einwandfreie Identifizierung der noch fraglichen Flecke möglich.

Einen weiteren Nachteil des zweidimensionalen Verfahrens erblicken wir ferner darin, dass nicht in beiden Läufen mit beliebig gepufferten Papieren gearbeitet werden kann. Durch Besprühen des Papiers mit Pufferlösung nach *Levy* und *Chung* [2]) ist dieser Mangel nur teilweise zu beheben. In vielen Fällen wäre es aber durchaus wünschenswert, beide Läufe auf gepufferten Papieren anzusetzen. Dabei führen aber nach unserer Erfahrung die in Pufferlösungen *getränkten* Papiere zu besseren Ergebnissen als die besprühten.

Mit unserer Arbeitsmethode können die erwähnten Schwierigkeiten umgangen werden. Darüber hinaus lässt sie weitere Kombinationsmöglichkeiten zu.

Wir wurden angeregt durch die von *A. Stöckli* [3]) beschriebene *mehrdimensionale Chromatographie.* Durch Differenzierung eines Parallellaufes in der ersten Phase erkennt er, welche Substanzen sich zu einer sicheren, qualitativen und quantitativen Beurteilung zu wenig getrennt haben. Er schneidet nun im undifferenzierten Lauf die betreffenden Stellen heraus und näht sie, um 90° gedreht, als «Fenster» in ein neues Papier ein, welches er mit einem andern Laufmittel entwickelt. Um unser gewünschtes Uebersichtsbild zu erhalten, nähten wir im Gegensatz zu dem erwähnten mehrdimensionalen Verfahren den *gesamten ersten Lauf* an ein uns zweckmässig erscheinendes anderes Papier.

Methodik

Auf der schematischen Zeichnung der Abbildung 1 wird das Vorgehen für den ersten Lauf dargestellt. Auf einem zweckmässig gepufferten Papierbogen der Ausmasse 30×50 cm werden in Abständen von je 7 cm die zu untersuchenden Gemische punktförmig in meistens drei Wiederholungen aufgetragen. Ein genügender Platz rechts von der ersten Probe dient zur Auftragung von «Leitchromatogrammen» und einzelnen Testsubstanzen.

Nach dem ersten Lauf kann die Lage der Substanzen genau bestimmt werden. Zu diesem Zwecke wird der Streifen rechts mit einem Lauf des zu untersuchenden Substanzgemisches, dem Leitchromatogramm und eventuell weiteren Testsubstanzen abgeschnitten und differenziert. Auf Grund der Beurteilung dieses vorläufigen Ergebnisses und Vergleich mit den bereits eingesetzten Testsubstanzen kann nun über das weitere Vorgehen entschieden werden.

Es stehen jetzt noch mindestens 2 bis 3 nicht differenzierte Läufe des zu trennenden Substanzgemisches zur Verfügung. Sie werden nun in Streifen auseinandergeschnitten, und zwar so, dass die Schnittlinie möglichst nahe am Lauf (siehe Abb. 1) geführt wird. Die erhaltenen Streifen können nun mit weissem Baumwollfaden auf der Nähmaschine so an einen neuen Papierbogen angenäht werden, dass der nicht differenzierte Lauf an die Nahtstelle zu liegen kommt (Abb. 2).

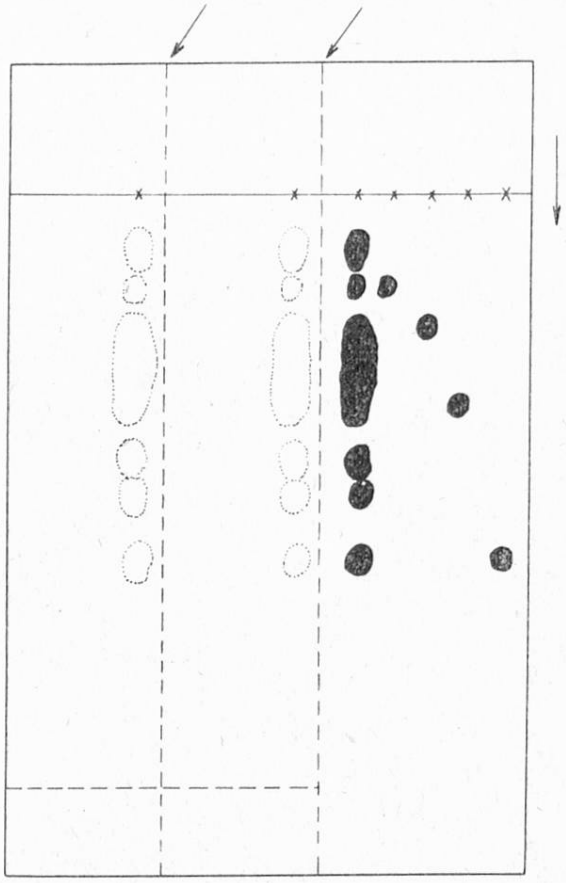

Abb. 1

Schematische Darstellung des ersten Laufes (1. Phase)

An den mit X bezeichneten Stellen sind die zu untersuchenden Substanzgemische, sowie die Testsubstanzen aufgetragen worden. Die schrägen Pfeile weisen auf die Linien, längs welchen das Papier zur Vorbereitung des zweiten Laufes zerschnitten werden muss. Die schwarzen Flecke deuten den sichtbar gemachten Probelauf mit Testsubstanzen an. Nach ihm lässt sich die Lage der beiden andern Läufe (punktierte Linie) genau bestimmen.

In der Regel bleibt genügend Raum, um auf der linken, freien Seite oder an geeigneter Stelle im Laufe selber noch eine Auswahl von Testsubstanzen laufen zu lassen.

Bei der Trennung der Aminosäuren aus Fruchtsäften und Weinen verwenden wir für den ersten Lauf meistens das Lösungsmittelgemisch Butanol-Essigsäure-Wasser (8 : 2 : 2) auf ungepuffertem Papier. Bei leichter Abänderung dieses Gemisches auf ein Verhältnis 4 : 1 : 5 lassen sich im ersten Lauf noch etwas grössere R_f-Werte erzielen, als sie in Abbildung 3 zu sehen sind. Diesem Gemisch mag darum in bestimmten Fällen der Vorzug gegeben werden. Für den zweiten Lauf hat sich das von *Levy* und *Chung* [2]) vorgeschlagene Phenol-Kresolgemisch (1:1) sehr gut bewährt. Gemisch und Papier werden auf pH 9,3 gepuffert. Durch Annähen eines solchen Papiers an den ersten Lauf ist es uns

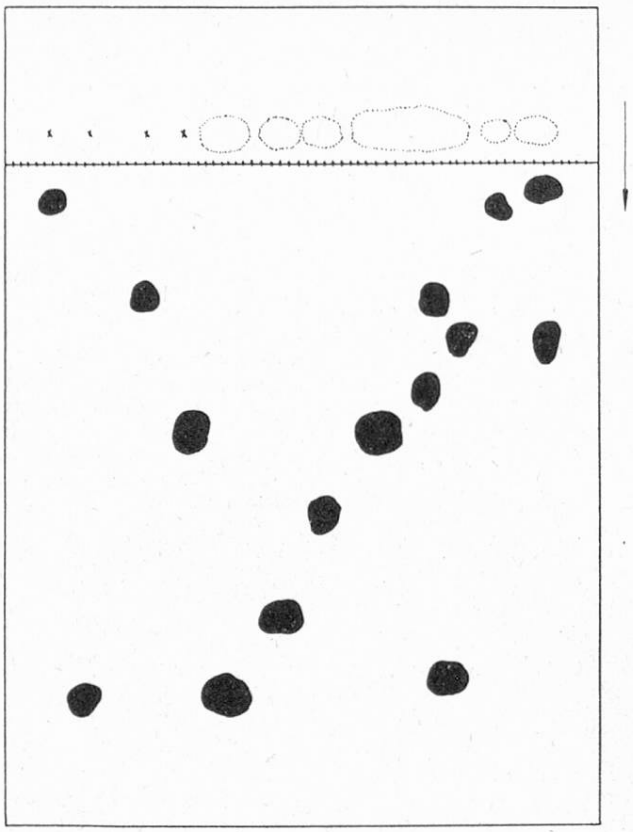

Abb. 2

Schematische Darstellung des zweiten Laufes (2. Phase)

Die gestrichelte waagrechte Linie bezeichnet die Naht, längs welcher der vom ersten Lauf stammende schmale Streifen (oben) mit einem neuen Papierbogen zusammengenäht wurde. An den mit X bezeichneten Stellen sind neue Testsubstanzen in den Lauf eingesetzt worden. Die schwarzen Flecke zeigen schematisch das fertig differenzierte Chromatogramm.

möglich, die vorhandenen Aminosäuren im zweiten Lauf sehr gut zu trennen (Abb. 3), steht doch dabei wieder die volle Länge des Papierbogens zur Verfügung.

Sollten bei andern Untersuchungen im zweiten Lauf bei bestimmter Pufferung noch unklare Stellen auftreten, so kann einer der Parallelläufe an ein anderes Papier angenäht und *gleichzeitig* in einem andern Lösungsmittelgemisch laufen gelassen werden. Damit wird das Analysenverfahren abgekürzt und leistungsfähiger.

Mit dieser Methode ist es aber auch unter solchen Umständen möglich, eine vollständige Trennung aller Substanzen in einem einzigen zweiten Lauf zu erzielen. Zu diesem Zwecke lassen sich an den ersten Lauf z.B. *zwei verschiedene Papierqualitäten,* eine den vorliegenden Bedürfnissen entsprechend ausgewählte rascher und eine langsamer laufende Sorte annähen. Die Streifen sollen mit einem Abstand von 3 bis 5 mm so angesetzt werden, dass dieser Zwischenraum auf eine Lücke im ersten Lauf trifft. Die beiden Blätter dürfen sich nicht be-

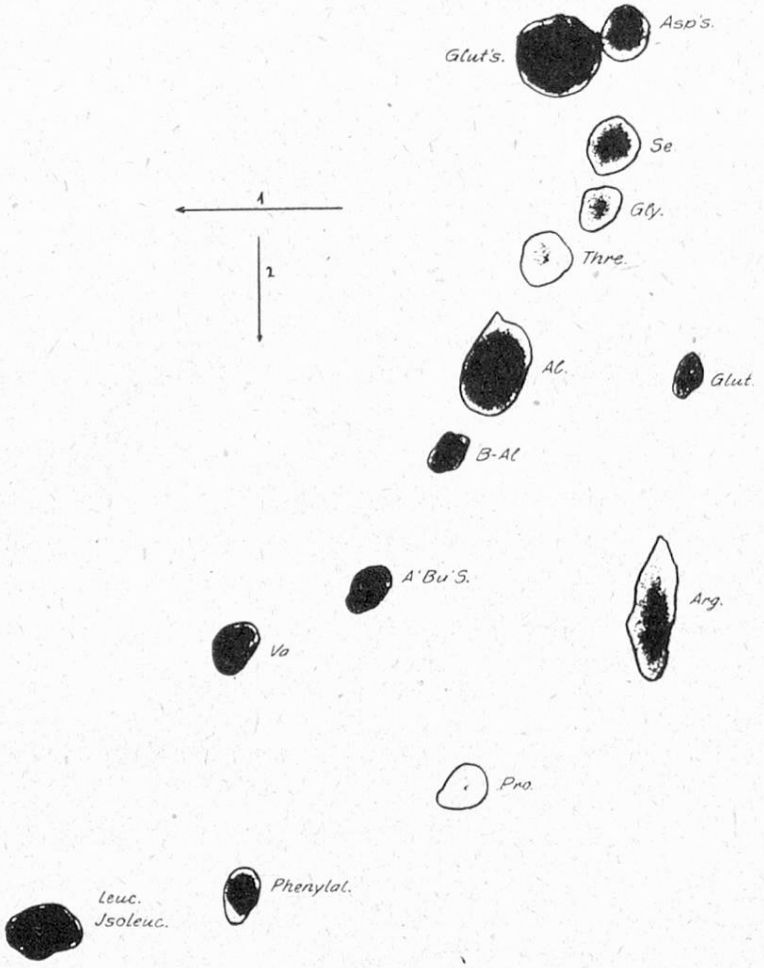

Abb. 3

Aminosäuregehalt eines Traubensaftes (Räuschling-Elbling-Verschnitt)

ermittelt nach dem verbesserten Verfahren. Die Pfeile zeigen die Laufrichtung der beiden Phasen an. Die Methode erlaubt eine einwandfreie Trennung der Aminosäuren. Durch Veränderung des Laufmittelgemisches (siehe Text) lassen sich in der ersten Phase in schwierigen Fällen noch grössere Rf-Werte und damit eine noch weitere Verteilung der Flecke erzielen. (Repr. Photokopie)

rühren, damit keine Störungen im Laufe eintreten. Auf diese Weise ist eine weitere Möglichkeit zur besseren Trennung bei gleichzeitiger Erhaltung der Gesamtübersicht möglich.

Wir glauben, dass die beschriebene Methode gegenüber dem normalen zweidimensionalen Verfahren hauptsächlich folgende Vorteile aufweist:

1. Das zu prüfende Substanzgemisch kann im ersten Lauf auf zwei bis vier Bahnen, wenn nötig sogar in verschiedenen Konzentrationen laufen gelassen werden. Durch Sichtbarmachen des äussersten Laufes rechts ist eine Beurteilung der Positionen bereits nach der ersten Phase möglich.
2. Schon in der ersten Phase können Testsubstanzen eingesetzt und zur Identifizierung der entstehenden Flecke herbeigezogen werden.
3. Auch in der zweiten Phase ist der Einsatz eines oder mehrerer «Leitchromatogramme» möglich. Die Auswahl der Testsubstanzen kann auf Grund des ersten Laufes besser getroffen werden.
4. Die nicht entwickelten Streifen des ersten Laufes können an zweckmässig gepufferte Papiere angenäht und mit verschiedenen Laufmitteln entwickelt werden. Damit wird in der zweiten Phase eine Trennung sicher möglich. Ein Besprühen der Papiere mit Pufferlösung zwischen dem ersten und zweiten Lauf kann so umgangen werden.
5. Es kann in beiden Phasen in der Faserrichtung der Papiere chromatographiert werden.
6. Störende Verunreinigungen des Laufmittelgemisches aus dem ersten Lauf fallen für den zweiten weg.
7. Auch in schmalen Chromatographierbehältern kann die volle Länge der Papierbogen ausgenützt werden.
8. Testsubstanzen können, auf Grund des entwickelten ersten Laufes, sogar in das Chromatogramm eingesetzt werden.
9. Für beide Dimensionen können gepufferte Papiere verwendet werden.
10. Gegenüber der mehrdimensionalen Chromatographie nach *A. Stöckli* sehen wir in unserer Arbeitsweise vor allem den Vorteil des Gesamtüberblickes und der Möglichkeit einer vergleichenden Beurteilung aller vorhandenen Aminosäuren. Erfahrungsgemäss ist dies nicht mehr möglich, wenn einzelne Aminosäuren aus dem Zusammenhang herausgenommen und in verschiedenen Laufmitteln entwickelt werden.

Zusammenfassung

Die in dieser Arbeit vorgeschlagene Verbesserung der zweidimensionalen Technik beruht darauf, dass jeder Lauf auf einem eigenen, dafür besonders geeigneten und präparierten (gepufferten) Papier durchgeführt werden kann. Das ist möglich, wenn das zu analysierende Substanzgemisch in der ersten Phase mehrfach aufgetragen und wenn zur Orientierung wenigstens eines der entstehenden Chromatogramme sichtbar gemacht wird. Ein nicht differenzierter Streifen der ersten Phase lässt sich dann an einen geeig-

neten Papierbogen annähen und für die zweite Phase verwenden. Durch die sofortige Differenzierung eines aus dem Bogen des ersten Laufes herausgeschnittenen Chromatogrammes gewinnt man vor Abschluss der Analyse einen wertvollen Einblick. Er ermöglicht auch das zweckmässige Einsetzen von Testsubstanzen für die zweite Phase. Die dadurch entstehenden Möglichkeiten erlauben eine bessere Verteilung der Substanzen und einen klareren Ueberblick in der Gesamtanalyse.

Résumé

Description d'une amélioration apportée à la chromatographie bidimensionnelle sur papier consistant à exécuter la séparation sur un papier tamponné (première dimension) puis, après rotation de 90°, à reporter tout le chromatogramme en le cousant à la machine sur un autre papier tamponné, différent du premier (deuxième dimension).

En faisant plusieurs chromatogrammes simultanément dans la première dimension on a la possibilité d'en révéler un a titre d'information et de développer un ou même plusieurs des autres avec des dissolvents et papiers adéquats. Les avantages de cette méthode sont mentionnés.

Summary

An improved method of the bidimensional paper chromatography technique by means of two suitable and adequately prepared papers is described. Generally, in the first dimension, three chromatograms are run parallel on the same paper. One of these is cut out and differentiated for the purpose of obtaining further information. Of the remaining chromatograms one or two are cut out and sewn by machine to another suitable paper for the second dimension. The advantages of the method are described.

Literatur

[1]) *Mc.Farren:* Buffered filter paper chromatography of amino acids. Anal. Chemistry **23**, 168 (1951).

[2]) *A. L. Levy* und *D. Chung:* Two dimensional Chromatography of amino acids on buffered papers. Anal. Chemistry **25**, Nr. 3 (1953).

[3]) *A. Stöckli:* Die Papierchromatographie und ihre Bedeutung für die brauereibiologische Forschung. Schweiz. Brauerei-Rundschau, Nr. 9 und 11 (1954).