

Chromatographie : ein neues chemisches Arbeitsverfahren

Autor(en): **Frei-Sulzer, Max**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Prisma : illustrierte Monatsschrift für Natur, Forschung und Technik**

Band (Jahr): **6 (1951)**

Heft 5

PDF erstellt am: **11.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-653915>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

CHROMATOGRAPHIE

Ein neues chemisches Arbeitsverfahren

Von Dr. Max Frei-Sulzer, Thalwil

DK 545.844 : 66.067.85

Zur Trennung von Mischungen chemischer Verbindungen standen dem Chemiker bis vor 20 Jahren zur Hauptsache nur zwei Methoden zur Verfügung: Kristallisation und Destillation. Bei der Kristallisation nutzt man die Tatsache aus, daß verschiedene chemische Stoffe sich in einem gewählten Lösungsmittel verschieden leicht lösen. Nachdem man, z. B. unter Zuhilfenahme von Wärme, eine gesättigte Lösung des Gemisches hergestellt hat, gelingt es durch Abkühlung und Verdunstenlassen des Lösungsmittels, den schwerer löslichen Stoff in Kristallform zu erhalten. Durch mehrfache Anwendung dieses Vorganges wird man zuletzt reine Substanzen erhalten, deren Reinheitsgrad durch Bestimmung des Schmelzpunktes, Siedepunktes und optischer Eigenschaften geprüft werden kann. In ähnlicher Weise nutzt man bei geschmolzenen und flüssigen Verbindungen die Tatsache des verschiedenen Siedepunktes aus,

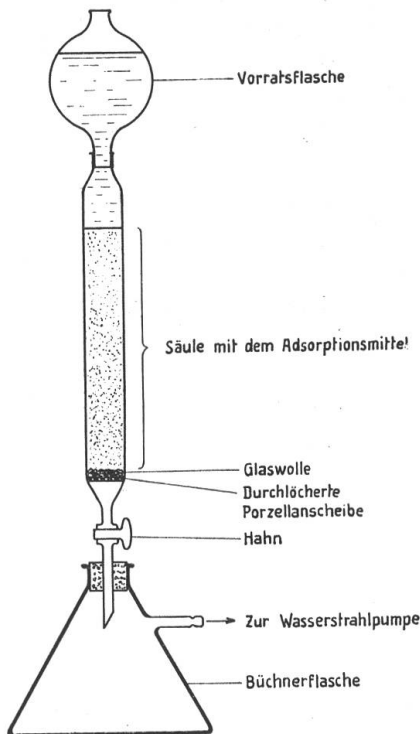


Abb. 1. Ein derart einfacher Apparat erlaubt bei Anwendung der richtigen Adsorptionsmittel auch schwierige Trennungen durchzuführen

um den leichter flüchtigen Anteil einer Mischung von den schwerer siedenden Komponenten zu trennen. Diese altbewährten Verfahren haben aber ihre Nachteile: Wenn die Löslichkeitsverhältnisse sehr ähnlich sind, oder die Siedepunkte sehr nahe beisammen liegen, ist die Methode unmöglich oder arbeitet so langsam, daß die Ausbeute zu gering wird. Auch dann, wenn nur Spuren von Substanzen zur Verfügung stehen, lassen sich die klassischen Ver-

fahren nur schwer anwenden. Fast immer, wenn die alten Methoden versagen, kann die Chromatographie das Trennungsproblem lösen helfen.

Das Prinzip der Chromatographie:

Man kann sich am besten mit Hilfe eines einfachen Grundversuchs einen Begriff von der chromatographischen Methode machen: 0,1 g käufliches Wasserblau und 0,1 g Auramin werden in 100 cm³ destilliertem Wasser gelöst. Die entstandene grüne Mischfarbe soll wieder in die beiden blauen und gelben Komponenten zerlegt werden. Dieses mit herkömmlichen Methoden fast unlösbare Problem wird spielend bewältigt, indem man eine Glasröhre von etwa 3 cm innerem Durchmesser, die sich am unteren Ende verjüngt und dort mit Glaswolle verschlossen ist, mit feinpulverisierter Tonerde (Al₂O₃) möglichst dicht packt. Durch diese vorbereitete Säule läßt man das Farbgemisch langsam durchsickern, wobei man zu oberst noch ein passendes Filterpapier auflegen kann, damit die Tonerde beim Eingießen nicht aufgewühlt wird. Die beiden Farbstoffkomponenten des Gemisches werden in der Säule verschieden stark adsorbiert, d. h. zurückgehalten. Gießt man Wasser nach, so wandert das Wasserblau viel schneller nach unten, während das Auramin sich in einer oberen Zone anreichert. Dieser Vorgang der völligen Trennung wird „Entwickeln“ genannt. Das Entwickeln geht viel schneller, wenn man an Stelle von Wasser 90%igen Alkohol verwendet. Man erhält so zwei völlig getrennte farbige Zonen in der Säule. Jetzt wird der ganze Tonerdepfropfen aus dem Glasrohr herausgestoßen, mechanisch getrennt und aus jeder der beiden farbigen Zonen der Farbstoff mit einem geeigneten Lösungsmittel herausgelöst. Damit ist die Trennung beendet und auch der Name Chromatographie, „Farben-Aufzeichnung“, für diese Methode wird verständlich. Eingeführt wurde sie in die Wissenschaft durch den russischen Botaniker Michael Semonovich Tswett 1871 bis 1919, welcher von 1902 bis 1906 mit ihrer Hilfe Pflanzenfarbstoffe, besonders Chlorophylle trennte. Aber es dauerte bis zum Jahre

1931, daß die Methode wieder aufgegriffen wurde. In rascher Folge wendeten sie zahlreiche Forscher auf immer neuen Gebieten an, so daß heute viel Abarten und Verbesserungen der Methode im Gebrauch sind.

Die Apparate für die Chromatographie:

An Stelle gewöhnlicher Glasröhren traten Kolonnen, welche unten geöffnet werden kön-

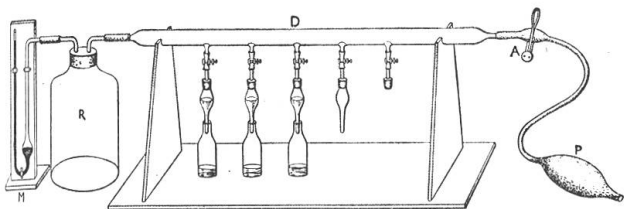


Abb. 2. Die von Tswett gebaute Einrichtung, um mit Hilfe der Pumpe P in dem Rohre D einen Überdruck zu erzeugen. An diesem Rohr waren seine Chromatographie-Apparate angeschlossen. Der Überdruck bewirkt ein rascheres Filtrieren. Das Manometer M gestattet die Messung des Überdruckes

nen, so daß man ein siebartig durchlöcherteres Porzellanplättchen und eventuell auch noch Filterpapier einlegen kann, bevor man daran geht, das adsorbierende Material einzufüllen. Ein Hahn am unteren Ende gestattet, die durchlaufende Flüssigkeit in getrennten Portionen aufzufangen. Heute werden die Säulen meistens auf Büchner-Flaschen aufgesetzt (Abb. 1), deren seitlicher Arm ein Ausweichen der ausgetriebenen Luft gestattet. Da die Durchlaufgeschwindigkeit manchmal sehr gering ist, kann man am seitlichen Arm auch mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe einen Unterdruck erzeugen, was zu einer Beschleunigung des Chromatogramms führt. Tswett versuchte, die Durchlaufgeschwindigkeit durch Anwendung von Überdruck zu erzielen, wobei er eine kleine Luftpumpe verwendete (Abb. 2). Auch dieser Gedanke wurde von modernen Forschern aufgegriffen und komplizierte Ventile am oberen Ende der Röhre angeschlossen, um ein störungsfreies Arbeiten zu gewährleisten. Der einfachste Weg ist allerdings derjenige, die Kolonne entsprechend hoch zu wählen, so daß der hydrostatische Druck der Flüssigkeitssäule ausgenutzt werden kann. Dieses Verfahren hat aber den Nachteil, daß die Glasröhren sehr unhandlich werden und daß das Einfüllen des adsorbierenden Materials mühsam wird, denn nur eine gleichmäßig gepackte Kolonne gibt schön getrennte Substanzen. Zu den häufigsten heute verwendeten adsorbierenden Massen gehören Aluminiumoxyd,

fein verteilter gelöschter Kalk, Kalziumkarbonat, Kalziumsulfat, Magnesiumoxyd, Soda, Talk, Bleich- und Fullererde, Inulin, Stärke, Puderzucker, Milhzucker, Zellulose sowie Kunstharze. Es ist selbstverständlich, daß nur solches Material als Füllung für die Säulen verwendet werden darf, das weder mit den zu trennenden Substanzen, noch mit den Lösungsmitteln reagiert. Auch der Säuregrad (das pH) der Lösungen muß genau beachtet und unter Umständen durch Zusätze von Puffer-substanzen reguliert werden.

Das Entwickeln des Chromatogramms:

Nur in den seltensten Fällen wird der Adsorptionsunterschied zwischen den zu trennenden Substanzen so groß sein, daß sie schon von Anfang an sich in deutlich getrennten Zonen der Säule ablagern (Abb. 3 c). Oft muß entsprechend lange mit passenden Lösungsmitteln nachgewaschen werden (Abb. 3 b). Durch dieses „Entwickeln“ rücken die Zonen der zu tren-

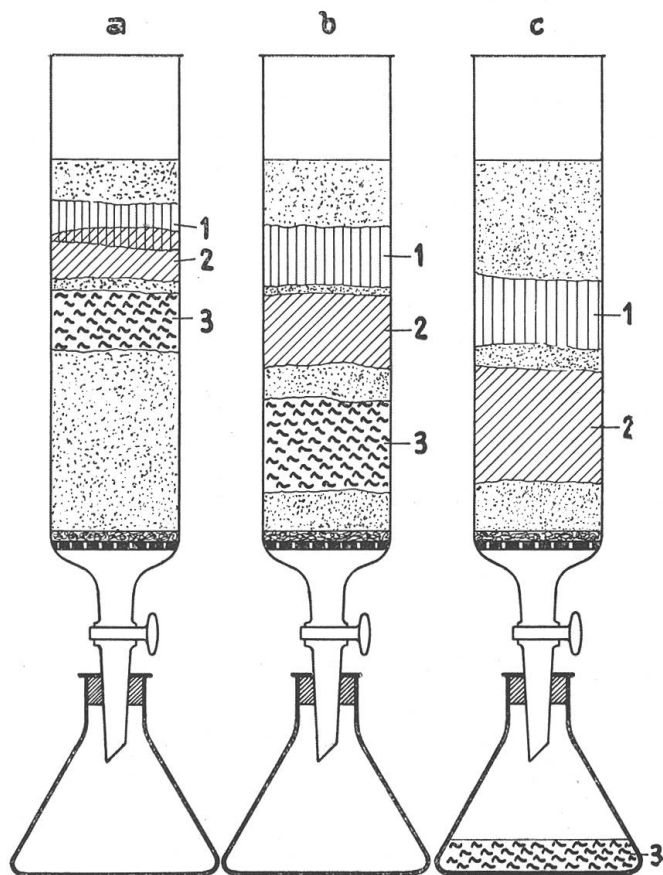


Abb. 3. Verschiedene Stadien der Entwicklung eines Chromatogramms. Bei a) sind die Zonen der Chemikalien 1, 2 und 3 noch nicht völlig getrennt. Bei b) ist die Trennung abgeschlossen, so daß man die Füllung der Kolonne auf mechanischem Wege isolieren könnte. Bei c) ist die Entwicklung so lange weitergeführt bis der Stoff 3 mit der größten Wanderungsgeschwindigkeit völlig ausgewaschen ist. „Durchlauf-Chromatographie“

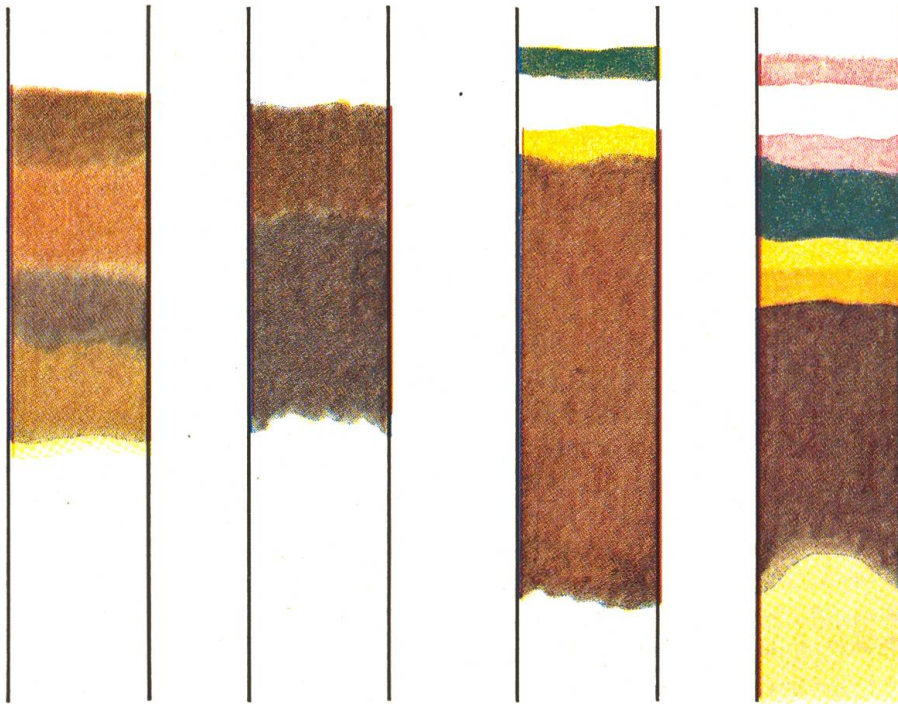
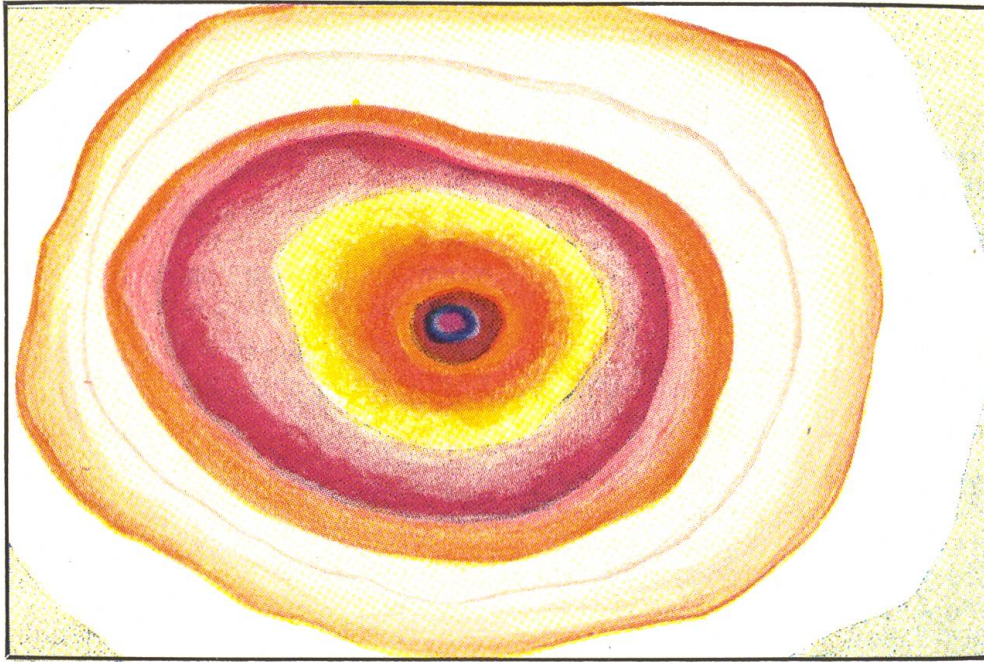


Abb. 4. Oben Ringchromatogramm von käuflichem Eosin, entwickelt mit 90% Alkohol. Links Untersuchung von Perubalsam. Der echte Balsam zeigt vier braune Zonen im Chromatogramm, der synthetische dagegen nur zwei. Rechts Chromatogramm von Alpenbutter, gelöst in Benzol. Im Tageslicht lassen sich nur vier Zonen unterscheiden, im Ultraviolett dagegen sieben

nenden Stoffe 1, 2, 3 immer weiter auseinander. Es leuchtet sofort ein, daß sich diese Tatsache auch in der Form ausnutzen läßt, daß man solange weiterwäscht, bis die erste der Substanzen unten aus der Kolonne herausfließt (Abb. 3 c). In diesem Fall spricht man nicht mehr von Entwickeln, sondern von „Auswaschung“ und erhält ein „flüssiges Chromatogramm“. Man kann beliebig viele Fraktionen getrennt auffangen, was von Vorteil ist, wenn man es mit mehreren Bestandteilen zu tun hat. Zur Beschleunigung des Vorganges bewährt sich häufig ein Wechsel im Auswaschungsmittel, sobald die erste Substanz abgeflossen ist. Den am längsten verbleibenden Stoff kann man zum Schluß mit einem sehr kräftigen Lösungsmittel extrahieren. Die am häufigsten gebrauchten Lösungsmittel sind: Petroläther, Benzin, Benzol, Schwefel-Kohlenstoff, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Äther, Methylalkohol, Äthylalkohol und Azeton, während die Auswaschung in der Regel mit Alkoholen, Azetonen, Äther, Pyridin oder Ammoniak- oder Piperidinlösungen erfolgt.

Das Chromatographieren farbloser Substanzen:

Im Prinzip ist die Chromatographie auch für farblose Stoffe geeignet, wenn es gelingt, sich ein Bild zu machen, wo die Anreicherungs-grenzen zu finden sind. Die einzelnen Forscher haben hierfür ganz verschiedene Mittel ausgearbeitet, z. B. kann man die Säule herausstoßen und durch Tüpfelreaktionen die einzelnen Zonen lokalisieren. Sucht man einen ganz bestimmten Stoff, so führt man mit dem reagensgetränkten Pinsel einen Längsstrich und sieht dann sofort, in welcher Zone die Reaktion positiv ist. Für die Weiterverarbeitung kratzt man die verunreinigte Oberflächenstelle ab und löst aus der streng begrenzten Zone die gewünschte Verbindung heraus. Häufig zeigen farblose Substanzen im ultravioletten Licht deutliche Fluoreszenzen, so daß man die gesuchte Zone unter der Quarzlampe sofort abgrenzen kann. Auch bei Chromatogrammen gefärbter Substanzen empfiehlt es sich, stets auch das Aussehen unter der Quarzlampe zu prüfen, weil so oft noch Stoffe entdeckt werden, die sich sonst dem Nachweis entziehen könnten (Abb. 4, farbig). Auch das vorhin erwähnte flüssige Chromatogramm läßt sich auf farblose Substanzen anwenden, indem man laufend kleine Portionen auffängt und vorweg analysiert, wobei auch spektralanalytische Methoden geeignet sein können. Alle Fraktionen, welche

den gewünschten Stoff enthalten, werden nachher gemeinsam verarbeitet. Sollte eine Übergangsfraction eine Mischung zweier Stoffe enthalten, so kann man sie je nach den Umständen verwerfen oder nochmals einem Trennungsv erfahren unterziehen.

Die Ringmethode:

Wenn ein Forscher ein neues Problem mit Hilfe der Chromatographie lösen will, handelt es sich zuerst darum, festzustellen, welches adsorbierende Mittel und welche Waschflüssigkeit den besten Erfolg versprechen. In diesem Fall wäre es sehr umständlich, zahlreiche Probekolonnen zu laden. Auf eine Glasplatte (alte saubere Photoplatte) streut man ein wenig von dem zu prüfenden adsorbierenden Mittel und preßt eine zweite Glasplatte mit einem kleinen Loch in der Mitte darauf. Durch das Loch gibt man einen Tropfen der zu trennenden Mischung und anschließend einige Tropfen des fraglichen Lösungsmittels dazu. An Hand der sich bildenden Ringe bekommt man sofort einen Eindruck, ob die Wanderungsgeschwindigkeit der verschiedenen Stoffe genügend große Unterschiede aufweist, so daß das Verfahren in der Säule Erfolg verspricht (Abb. 4, farbig).

Die Papierchromatographie:

In allen den Fällen, wo es sich darum handelt, aus einer Mischung von wenigen Kubikzentimetern einzelne Substanzen zu isolieren, die oft nur in winzigen Spuren vorkommen, hat sich eine glänzend durchdachte Abart der Chromatographie bewährt. Wenige Tropfen der zu prüfenden Substanz werden auf einem rechteckigen Filtrierpapierstreifen in der Nähe der oberen linken Ecke angebracht. In einer geschlossenen Kammer, welche mit dem Dampf des Lösungsmittels oder allfälliger „Entwickler“ gesättigt ist, erfolgt die Auswaschung des Fleckens in der Richtung senkrecht nach unten (Abb. 6 a). Nach wenigen Stunden hat sich die Mischung in einzelne Komponenten getrennt (Abb. 6 b).

Handelt es sich bei den nachzuweisenden Verbindungen um farbige Stoffe, so kann man sie direkt identifizieren, sind es ungefärbte Verbindungen, so können sie durch Tüpfelreaktionen nachgewiesen werden, oder man schneidet die einzelnen beladenen Zonen aus dem Papier aus und unterzieht sie einer chemischen Analyse. Handelt es sich von vornherein um eine begrenzte Zahl von möglichen Stoffen, so kann man auch den Versuch unter

gleichen Bedingungen wiederholen unter Verwendung der Testsubstanzen und sieht dann genau, wo sich jede einzelne Verbindung auf dem Papierstreifen auffinden läßt. Sollte sich herausstellen, daß einzelne Flecken nicht von einer einzigen Substanz gebildet werden, so dreht man den Streifen um 90° und entwickelt ihn mit einem anderen Lösungsmittel noch weiter (Abb. 6 c), so daß ein zweidimensionales Papierchromatogramm entsteht, in welchem jeder Stoff durch zwei Koordinaten (Abstand vom oberen und vom linken Rand) charakterisiert ist. Besonders elegant wirkte sich diese Methode bei der Analyse der Assimilation der grünen Pflanzen aus, indem die betreffenden Forscher unter Leitung von Prof. Dr. M. Calvin, Berkeley, den Pflanzen radioaktiven Kohlenstoff zur Assimilation zur Verfügung stellten.

Die von den Versuchspflanzen gebildeten Assimilate wurden chromatographiert und durch Auflegen von Photopapier auf die trockenen zweidimensionalen Chromatogramme konnten direkt Schwärzungsbilder der Verteilung der einzelnen Verbindungen erhalten werden. Die Intensität der Schwärzung gab sogar noch einen Maßstab für die Mengenverhältnisse der Assimilate. Die geschilderten Papierchromatogramme haben den einzigen Nachteil, daß die erhaltenen Quantitäten so gering sind, daß sich das Verfahren nicht zur Reinherstellung einzelner Stoffe eignet; doch kann man sich so helfen, daß man Filtrierpapierstreifen zickzackförmig faltet und an Stelle eines Adsorptionspulvers damit eine Säule füllt. Dann entwickelt man das Chromatogramm und nachher faltet man das Filtrierpapier auseinander.

Diejenigen Lagen, welche den gesuchten Stoff enthalten, können mit geeigneten Mitteln extrahiert werden und man gewinnt so genügend große Mengen, um z. B. eine neu entdeckte Verbindung genauer durch ihr Molekulargewicht, den Schmelzpunkt, Siedepunkt und die optischen Eigenschaften definieren zu können.

An dieser Stelle sei daran erinnert, daß Papier-Chromatogramme etwas ganz ähnliches sind wie die eine Zeitlang sehr häufig durchgeführte Kapillaranalyse, welche besonders in der Homöopathie zur Untersuchung von Wirkstoffen der Pflanzenextrakte mit und ohne ultraviolettem Licht angewendet wurden (Madaus). Während aber bei der Kapillaranalyse der Filterpapierstreifen einfach in die zu prüfende Lösung hineingehängt wird, wobei durch kapillares Aufsteigen der Stoffe eine gewisse Zonierung der Stoffe zustande kommt, tritt bei der Chromatographie als wesentlich neuer Faktor die anschließende Entwicklung des Chromatogramms hinzu, welche erst richtig gestattet, die einzelnen Stoffe getrennt zu erhalten.

Chromatographische Trennung von Gasen:

Da sich außer Flüssigkeiten und gelösten Stoffen auch Gase an geeignete Substanzen adsorbieren lassen, wurde die Chromatographie mit Erfolg auch für die Trennung von Gasen herangezogen. Die Adsorptionssäule wird in diesem Fall als U-förmig gebogenes Rohr konstruiert, das mit Kohle oder Kieselgel gefüllt ist. Als Spülmittel verwendet man

nicht eine Flüssigkeit, sondern reines Wasserstoffgas, welches mit leichtem Überdruck aus einer Vorratsflasche (Standbombe mit Reduzierventil) austritt. Die grundlegenden Versuche von E. Cremer und R. Müller (Innsbruck) haben gezeigt, daß es praktisch ist, für die Trennung von Gasen ein Verfahren anzuwenden, das sich mit der Durchlauf-Chromatographie vergleichen läßt, d. h. man

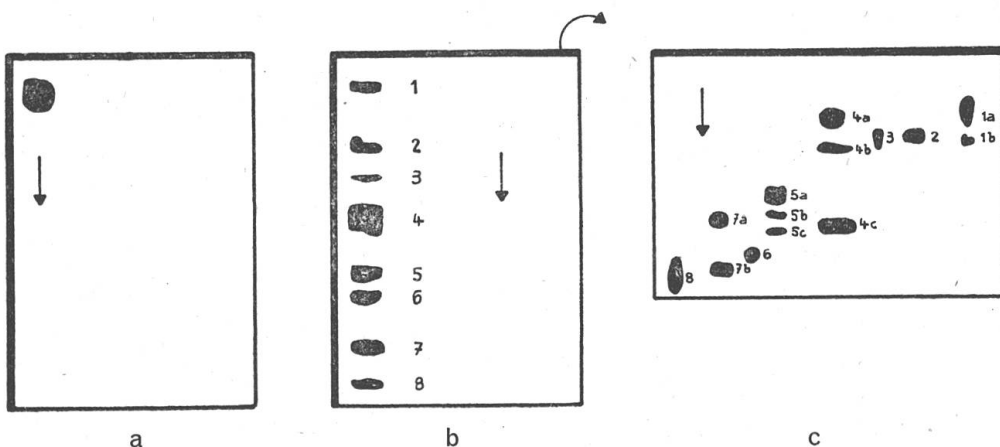


Abb. 5. Zweidimensionale Papierchromatographie

a) Die zu prüfende Mischung wird links oben angesetzt und nach unten entwickelt. b) Bei der Entwicklung ergaben sich acht getrennte Zonen. c) Das Chromatogramm wurde in der zweiten Dimension mit einer anderen Lösung entwickelt, wobei sich herausstellte, daß einzelne Flecken der Abb. b von mehreren deutlich trennbaren Verbindungen herrühren

fängt die einzelnen Fraktionen getrennt auf, nachdem das Gas die ganze Säule durchwandert hat. Bisher wurden Genauigkeiten von 0,01 mgr erreicht, doch dürfte diese Methode noch weiter zu verbessern sein.

Anwendungsgebiete:

Um einen Begriff von der Wichtigkeit der Chromatographie zu geben, seien zum Schluß einige derjenigen Arbeitsgebiete erwähnt, wo diese neue Methode ihre größten Triumphe feiert. Aus der Farbstoffanalyse ist die Chromatographie nicht mehr wegzudenken. Außer den schon erwähnten grünen und gelben Pflanzenfarbstoffen (Chlorophylle, Xantophylle) wurden besonders die roten und gelben Karotinoide chromatographisch erforscht. Auch die Reindarstellung von Vitaminen gelang auf diesem Wege. Das zur normalen Blutgerinnung unentbehrliche Vitamin K ist im Ausgangsstoff nur in einer Verdünnung von weniger als 0,001 Gewichtsprozent enthalten und doch gelang mit der Chromatographie seine Anreicherung. Etwas ganz ähnliches gilt für die zahlreichen und ständig wichtiger werdenden Antibiotika. Bei der Gewinnung der verschiedenen Abarten von Penicillin, Aureomycin, Grisein usw. erfolgt heute die Reinigung fast ausschließlich auf chromatographischem Wege. So gelang es, die durch Beimengungen bewirkte Giftigkeit dieser Medikamente herabzusetzen und damit die Verträglichkeit zu steigern. Auch krebserzeugende Stoffe, z. B. aus Teer oder Mineralölen,

wurden so der Forschung zugänglich gemacht. Eines der Hauptanwendungsgebiete für die Papierchromatographie ist die Analyse der Eiweißbausteine, der sogenannten Aminosäuren. In den entsprechenden Fachinstituten werden heute schon zweidimensionale Chromatogramme verwendet, welche es gestatten, 60 verschiedene Aminosäuren voneinander zu unterscheiden. Die zur Analyse nötige Flüssigkeitsmenge beträgt nur noch etwa $\frac{1}{10}$ cm³, was bei der Ausnutzung der Methode für klinische und diagnostische Zwecke von höchster Bedeutung ist. In der Untersuchung von Lebensmitteln und Getränken gibt es kaum rascher arbeitende Verfahren; besonders den Weinpanschern kann mit chromatographischen Analysen das Handwerk gelegt werden. In Verbindung mit Kunstharz-Ionen-Austauschern läßt sich die Chromatographie auch auf die Analyse anorganischer Verbindungen anwenden. Insbesondere die Trennung seltener Erden oder die Ausscheidung von störenden Beimengungen in einem gewöhnlichen Analysengang ist dem modernen Chemiker jetzt mit einfachen Mitteln möglich. Neben diesen analytischen Anwendungsgebieten hat sich die Chromatographie aber bereits ihren Platz unter den präparativen Methoden erobert, indem es gelingt, durch entsprechende Dimensionierung der Kolonnen auch größere Stoffmengen zu isolieren, und so sind heute schon zahlreiche Chemikalien im Handel, die ihre Reindarstellung diesem neuen Hilfsmittel verdanken.

Einfarbenspiegel für Fernsehen

DK 535.313-2: 621.397

Spezialspiegel, die nur Licht einer bestimmten Spektralfarbe reflektieren, werden im Farbfernsehen der Zukunft eine große Rolle spielen. In den USA. wurden bereits derartige Spiegel in der Weise hergestellt, daß die Glasplatte im „Vakuumofen“ eine extrem dünne Metallaufgabe erhält. Es handelt sich dabei um eine derzeit noch geheimgehaltene Metallverbindung, die durch Erhitzen mit elektrischem Strom zum Verdampfen gebracht wird und im Vakuum auf dem Spiegelglas in sehr gleichmäßig dünner Schicht kondensiert.

Von der Stärke dieser Metallaufgabe hängt es ab, welche Lichtwellen der Spiegel zurückwirft. Ein

blauer Reflex wird durch eine Metalldicke von rund 0,15 Millionstel Zentimeter — das entspricht ungefähr $\frac{1}{4}$ der Wellenlänge des blauen Anteils — hervorgerufen. Die dickste Metallschicht ist für Rot erforderlich.

Im Sender nehmen die Einfarbenspiegel das farbige Bild auf, wie es die Kamera empfängt, und zerlegen es in seine drei Grundfarben. Diese werden in der richtigen Reihenfolge an die Empfangsstation weitergegeben, wo sie durch einen zweiten Satz gleicher Spiegel wieder zusammengesetzt werden, so daß auf dem Schirm das Bild wieder in seinen natürlichen Farben erscheint.