**Zeitschrift:** Schweizerische Zeitschrift für Pilzkunde = Bulletin suisse de mycologie
**Herausgeber:** Verband Schweizerischer Vereine für Pilzkunde
**Band:** 45 (1967)
**Heft:** 11

**Artikel:** Die Papierchromatographie
**Autor:** Knecht, J.
**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-937079

**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:** 16.07.2025

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

# Die Papierchromatographie

*Von J. Knecht, Olten*

## *Einleitung*

Die Papierchromatographie ist eine analytische Trennungsmethode für kleinste Mengen eines Substanzgemisches. Das zu untersuchende Gemisch wird als kleiner Fleck auf ein saugfähiges Spezialpapier gebracht. Das Papier wird zum Teil in ein Lösungsmittelgemisch eingetaucht, wobei der Substanzfleck außerhalb der Eintauchzone liegt. Durch Kapillarwirkung steigt das Lösungsmittel in dem Papier hoch und führt die unterschiedlich wandernde Einzelkomponente mit sich. Jede Komponente des Stoffgemisches verteilt sich fortwährend zwischen Papier und Lösungsmittel. In dem Maße, in dem eine Fraktion im Lösungsmittel löslich ist, wird sie schneller transportiert. Diejenige Fraktion, die dabei irgendwo auf dem Papier hinter der Lösungsmittelfront zurückbleibt, ist dann entweder gelöst, wobei eine an das Filterpapier absorbierte Flüssigkeit als Lösungsmittel dient, oder an das Papier adsorbiert. Im ersten Fall spricht man von Verteilungs-Chromatographie, im zweiten Fall von Adsorptions-Chromatographie. Gewöhnlich kommt jedoch die Mischform vor.

In erster Linie ist die Papierchromatographie eine qualitative Untersuchungsmethode, die mit Mengen von etwa 5–50 $\gamma$ Substanz (einzelne Komponente) arbeitet. Diese Methode vereinigt in sich eine physikalische Trennmethode und spezifische analytische Nachweisreaktionen. Sie gestattet nach Auftrennung eines Stoffgemisches in die Einzelflecken der Komponenten deren Identifizierung durch chemische Farbreaktionen oder optische Verfahren.

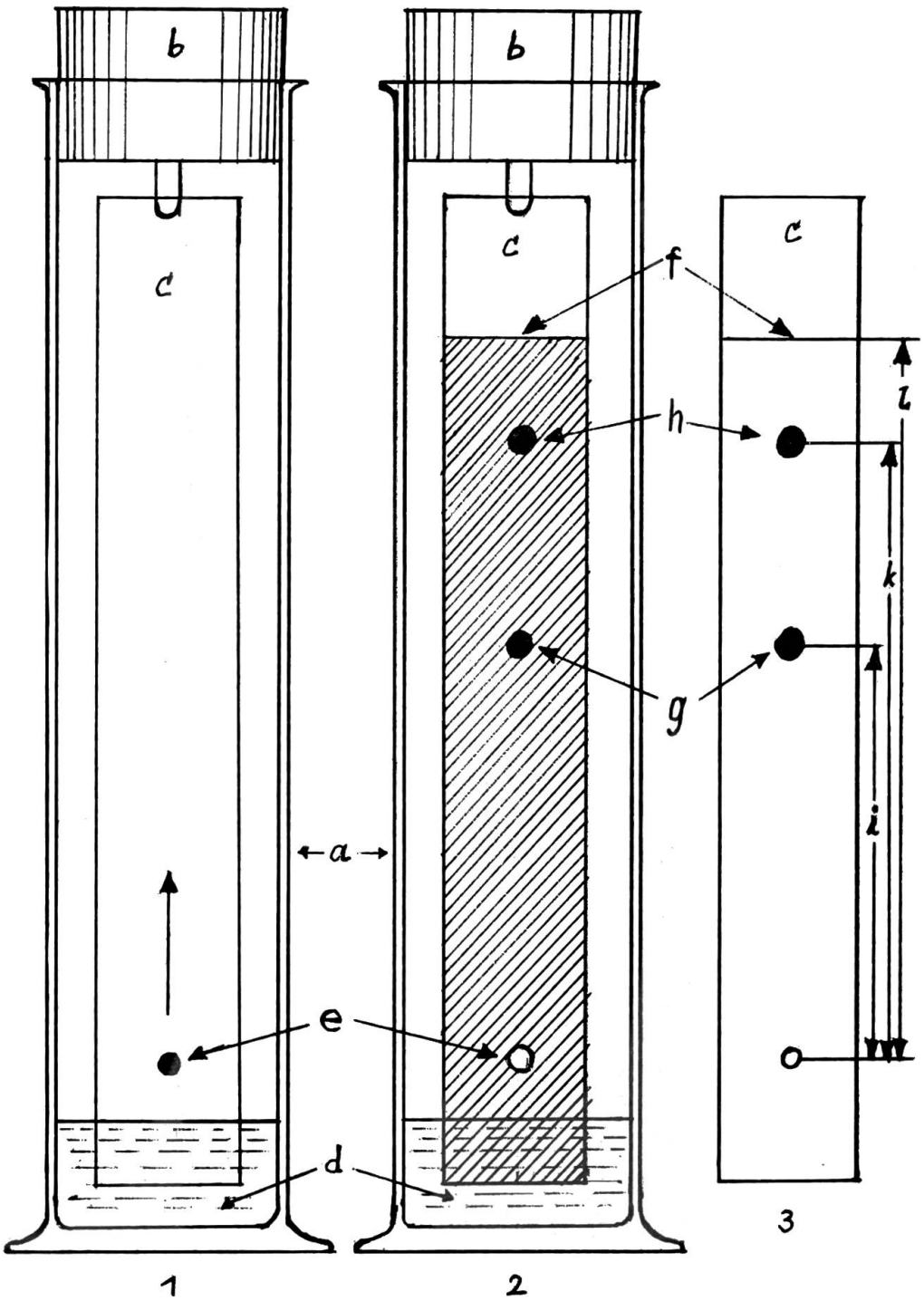
Es dürfte heute kaum mehr chemische Laboratorien geben, in denen die Papierchromatographie nicht angewendet wird. Dieses Verfahren hat sich in wenigen Jahren in der ganzen Welt durchgesetzt und verbreitet sich ständig weiter.

Die chemische Forschung, besonders die biochemische, steht häufig vor der Aufgabe, mit geringsten Substanzmengen experimentieren zu müssen. Hier bedeutet die Papierchromatographie eine große Hilfe. Die Verteilungs-Chromatographie auf dem Papier stellt weitgehend eine Analogie dar zu dem multiplen Extraktionsprozeß von Craig.

## *Allgemeines Verfahren*

Auf einem Filterpapierstreifen von ungefähr 50 cm Länge und mindestens 3 cm Breite wird mit einer Mikropipette die Lösung der zu untersuchenden Substanz (in der Regel eine wäßrige Lösung) an einer markierten Stelle aufgebracht. Nachdem der kleine Tropfen eingetrocknet ist, wird bei der absteigenden Methode der Papierstreifen über den Rand einer Schale gehängt, die mit einem wasserhaltigen organischen Lösungsmittel gefüllt ist. Das Ganze wird in ein gasdicht verschließbares Gefäß gebracht, das eine Beobachtung des Trennvorgangs durch Glaswände hindurch gestattet.

Das Lösungsmittel wird vom Papier aufgesogen und wandert langsam vorwärts über den Flecken mit dem Substanzgemisch hinaus. Die einzelnen Substanzen werden dann mit verschiedenen Geschwindigkeiten, je nach den Löslichkeitsverhältnissen, vom Lösungsmittel mitgeführt und wandern daher auf dem Papier




*Schematische Darstellung der aufsteigenden Methode*

1 = Beginn der Chromatographie. 2 = Ende des Versuchs. 3 = Fertiges Chromatogramm. a = Zylinderglas. b = Pfropfen. c = Papierstreifen. d = Lösungsmittel. e = Start. f = Lösungsmittelfront. g = Substanz A. h = Substanz B.

Die zu prüfende Verbindung wurde beim Startpunkt aufgetragen (1) und wurde bei (2) in zwei Flecke, Substanz A und Substanz B, getrennt. Das fertige Chromatogramm (3) zeigt die Berechnung der $R_f$-Werte.

Der $R_f$-Wert der Substanz A = $R_{fA} = \frac{i}{l}$, der Substanz B = $R_{fB} = \frac{k}{l}$.

verschieden schnell. Wenn die Front des Lösungsmittels nahezu an das Ende des Streifens gelangt ist, nimmt man den Papierstreifen aus dem Gefäß heraus, markiert die Front des Lösungsmittels und läßt das Papier trocknen.

Bei der aufsteigenden Methode wird der Papierstreifen in das Lösungsmittel gehängt, das sich am Boden eines verschließbaren Gefäßes befindet. Das Lösungsmittel saugt sich im Papier in die Höhe und führt die zu untersuchende Substanz mit einer bestimmten Geschwindigkeit mit fort. Man arbeitet hier mit Papierstreifen mit Längen bis zu 30 cm.

Das getrocknete Chromatogramm muß nun noch, ausgenommen bei der Papierchromatographie von gefärbten Stoffen, mit einem geeigneten Reagens besprüht werden, das die Flecke der einzelnen Stoffe farbig hervortreten läßt, zum Beispiel beim Aminosäuren-Chromatogramm mit Ninhydrin-Lösung.

Jede papierchromatographisch analysierbare Verbindung hat bei Verwendung eines bestimmten Lösungsmittels ihre bestimmte Wanderungsgeschwindigkeit. Das Maß für die Wanderungsgeschwindigkeit einer Verbindung ist der sogenannte $R_f$-Wert, der definiert ist als Quotient aus Entfernung der Substanz vom Ausgangspunkt durch Entfernung der Lösungsmittelfront vom Ausgangspunkt.

$$R_f\text{-Wert} = \frac{\text{Entfernung : Startpunkt–Mitte Substanzfleck}}{\text{Entfernung : Startpunkt–Lösungsmittelfront}}$$

Die $R_f$-Werte müssen stets kleiner als 1 sein und sind unabhängig von der Länge des Papierstreifens. Scharfe Trennung erhält man in der Regel nur mit $R_f$-Werten kleiner als 0,90. Die $R_f$-Werte können durch Temperatur, Konzentration, geringe Inhomogenitäten des Papiers, Fremdionen und Verunreinigungen des Lösungsmittels unter Umständen Schwankungen bis 10 % unterworfen sein. Es ist daher häufig praktischer und sicherer, auf einem breiten Papierstreifen bekannte Vergleichsstoffe daneben mitlaufen zu lassen, auf die man sich unmittelbar beziehen kann. Dies ist vor allem dann zweckmäßig, wenn man es mit einer aus vielen Komponenten bestehenden, möglicherweise noch durch Salze verunreinigten Substanzlösung zu tun hat.

Um die Identität einer Substanz zu beweisen, kann man sie mit der vermuteten reinen Substanz zusammen chromatographieren. Wenn der Fleck auch in einem langen Chromatogramm mit verschiedenen Lösungsmitteln einheitlich bleibt, sind die Substanzen identisch. Man eliminiert auf diese Weise eine Störung durch Salze oder Fremdstoffe, denn die zusammenlaufenden Substanzen sind ja dann der gleichen Störung ausgesetzt. Es ist dies das Prinzip des Mischchromatogramms.

Der $R_f$-Wert stellt neben Schmelzpunkt, Siedepunkt, Kristallform, Drehung, Spektrum usw. ein weiteres Charakteristikum für eine chemische Verbindung dar. Natürlich gehört zur Angabe eines $R_f$-Wertes die Nennung des verwendeten Lösungsmittels und eventuell der Papiersorte.

### *Anwendungsbereich*

Im wesentlichen stellt die Papierchromatographie einen Verteilungsvorgang zwischen einer wäßrigen stationären und einer beweglichen organischen Phase dar. Daher müssen die zu trennenden Stoffe wenigstens teilweise wasserlöslich sein, sonst werden sie vom feuchten Papier nicht festgehalten und wandern somit mit der Lösungsmittelfront. Voraussetzung ist anderseits eine mindestens schwache

Löslichkeit der Substanz in der organischen Phase, sonst wandert der Fleck überhaupt nicht.

Die Papierchromatographie ist nur dann anwendbar, wenn die zu trennenden Substanzen auf dem Papier sichtbar gemacht werden können. Da sozusagen für sämtliche organischen Stoffe Farbreaktionen bekannt sind oder ausgearbeitet werden können, ist diese Bedingung keine wesentliche Einschränkung des Anwendungsbereichs der Papierchromatographie. Fluoreszierende Stoffe kann man ohne vorherige Farbreaktion im ultravioletten Licht lokalisieren. Radioaktive Verbindungen können schon in Spuren radioautographiert werden. So ist die Methode der Papierchromatographie zur Analyse von folgenden Verbindungsklassen verwendet worden: Aminosäuren, Peptide, Proteine, Purine Nucleinsäuren, organische Säuren, Anthocyane, Flavone, Steroide, Phenole, Antibiotika, höhere Alkohole, Aldehyde, Ketone, Toxine, Vitamine, Chloroplastenfarbstoffe, Enzyme, Phosphatide, Kohlenhydrate, Amine, Alkaloide, Pterine, technische Farbstoffe, anorganische Ionen.

### *Papiere*

Die Qualität des Papiers ist für die Papierchromatographie von entscheidender Bedeutung. Es muß ein Linters-Filterpapier hohen Reinheitsgrades und möglichst homogener Verfilzung sein und darf keine löslichen Stoffe (Leime oder Zusatzstoffe) enthalten. Seine Verwendbarkeit wird von der Gleichmäßigkeit der Textur und der auf dem ganzen Bogen einheitlichen Saugfähigkeit bestimmt. Diese Voraussetzungen werden von den verschiedenen Sorten Chromatographie-Papieren «Whatmann» oder «Schleicher & Schüll» erfüllt.

### *Lösungsmittel*

Die Lösungsmittel müssen wenigstens teilweise mit Wasser mischbar sein. Vorherige Reinigung ist in der Regel erforderlich. Je nach den zu analysierenden Stoffen sind die Lösungsmittel zu wählen. Doch sind die Variationsmöglichkeiten nahezu beliebig. Das am meisten verwendete Lösungsmittel ist Butanol. In Butanol allein sind die $R_f$-Werte sehr klein, daher arbeitet man mit verschiedenen Zusätzen, zum Beispiel Essigsäure. Hiezu mischt man zum Beispiel 40 ccm Butanol mit 10 ccm Eisessig und 50 ccm Wasser.

So wird zum Beispiel für Zucker als Lösungsmittel wassergesättigtes Phenol gebraucht, oder n-Butanol mit Wasser, oder n-Butanol–Aethanol–Wasser (4 : 1 : 5), n-Butanol–Propionsäure–Wasser (10 : 5 : 7).

Für Aminosäuren werden verwendet: m-Kresol wassergesättigt, Collidin, n-Butanol–Eisessig–Wasser (4 : 1 : 5), Butanol–Methyläthylketon–Wasser (4 : 4 : 2), Isopropanol–Wasser–$NH_3$ (80 : 18 : 2 konz.), und andere.

Die Trennung von Aminosäuren ist das zeitlich erste und wohl eines der wichtigsten Anwendungsgebiete der Papierchromatographie, da es vorher kein wirklich geeignetes Mikroverfahren gab, um die ca. 30 Eiweißbausteine zu trennen. Im allgemeinen wird es sich bei der Papierchromatographie der Aminosäuren um die Analyse der Bausteine eines Eiweißkörpers handeln. Das betreffende Eiweiß muß deshalb zunächst hydrolisiert werden.

Für die Trennung von Anthocyanen und Flavonoiden eigneten sich: Butanol–Eisessig–Wasser (4 : 1 : 5), m-Kresol–Eisessig–Wasser (50 : 2 : 48), Essigester–

Ameisensäure–Wasser (10 : 2 : 3), Chloroform–Isobutanol–Wasser (2 : 4 : 4), Isopropanol–Wasser (60 : 40) und andere.

Organische Säuren konnten getrennt werden mit: n-Butanol–Ameisensäure–Wasser (4 : 1 : 5), Mesityloxyd–Ameisensäure–Wasser (75 : 36 : 75), n-Butanol–Benzylalkohol–Ameisensäure–Wasser (7 : 7 : 1 : 2) usw.

Für Aldehyde und Ketone wurden unter anderen folgende Lösungsmittel verwendet: Cyclohexan–Methanol–Essigsäure–Wasser (6 : 12 : 1 : 2), Butanol–Methanol–Ameisensäure (83 : 15 : 2), Petroläther–Methanol–Aethylacetat (65 : 15 : 20) usw.

Phenole und Gerbstoffe ließen sich trennen mit m-Kresol–Eisessig–Wasser (50 : 2 : 48), Methyläthylketon–Diäthylamin–Wasser (921 : 2 : 77) usw.

Lösungsmittelsysteme, die bei Zimmertemperatur mit Wasser gesättigt sind, sind sehr temperaturempfindlich, weil bei geringer Abkühlung meist eine Trennung der Phasen, das heißt eine Ausscheidung von Wassertropfen eintritt. Voraussetzungen für die Reproduzierbarkeit der $R_f$-Werte sind einmal Temperaturkonstanz $\pm$ 0,5 °C im Chromatographieraum. Die Lösungsmittelgemische sollen unter den gleichen Temperaturbedingungen hergestellt werden. Das Chromatogramm ist vor Beginn des Trennvorganges mit der Atmosphäre des Lösungsmittels zu aqulibrieren. Im allgemeinen reichen dazu 2 Stunden aus.

Zur Unterscheidung zweier Stoffe anhand der $R_f$-Werte ist eine Differenz von 0,05 notwendig. Es ist sinnlos, den $R_f$-Wert auf die dritte Stelle hinter dem Komma auszurechnen.

### *Aufbereitung*

Extraktionsmethode und Extraktionsmittel richten sich weitgehend nach der Natur der zu untersuchenden Substanzen. Zur Vorbereitung eines pflanzlichen Extraktes für die Papierchromatographie gehört die Entfernung von störenden Substanzen. Die zum Teil recht umständlichen Verfahren sind jedoch nicht in allen Fällen erforderlich. Man überzeugt sich daher durch Vorversuche, ob man ohne solche Vorsichtsmaßnahmen auskommen kann.

Biologische Flüssigkeiten und Extrakte enthalten meist eine größere Menge von Neutralsalzen, die bei papierchromatographischer Trennung sehr stören können. Entsalzen ist daher manchmal notwendig. Dies kann erfolgen durch Fällung mit $Ba(OH)_2$, AgOH, durch Abdampfen und durch Ionenaustausch. Bei kleinen Extraktionsmengen sind jedoch die Verluste relativ groß. Nützlich kann auch eine Vorchromatographie in geeigneten Lösungsmitteln sein. Weiterhin sind Apparaturen zur Entsalzung durch Elektrodialyse beschrieben worden, wodurch sich zum Beispiel Aminosäuren-Lösungen weitgehend von Ionen befreien lassen. Zuckerlösungen können von Ionen befreit werden, indem man sie mit Pyridin behandelt, welches die Zucker aufnimmt und die anorganischen Salze ungelöst zurückläßt.

Liegen die Komponenten unterhalb der Nachweisgrenze im Extrakt vor, so muß durch Eindampfen im Vakuum eine Konzentrierung vorgenommen werden, oder man kann die Substanz in einfacher Weise auf dem Papier konzentrieren, indem man in zeitlichen Abständen mehrere Tropfen aufbringt und dazwischen immer wieder verdunsten läßt. Zu diesem Zwecke ist auch eine einfache Apparatur angegeben worden.

### *Schlußbetrachtung*

Außer den erwähnten Methoden der Papierchromatographie – absteigende und aufsteigende – sind noch andere Techniken bekannt, wie Rundfilter-Papierchromatographie, zweidimensionale und mehrdimensionale Verfahren sowie Säulenchromatographie. Als Weiterentwicklung der Papierchromatographie können genannt werden die Papierelektrophorese und die Dünnschichtchromatographie. Für diese Verfahren sowie auch weiteres über Theorie und Arbeitsweise der Papierchromatographie selbst muß auf die Spezialliteratur verwiesen werden.

In der Pilzkunde ist die Papierchromatographie außer für chemisch-analytische Untersuchungen auch in systematischer Hinsicht von Nutzen. Es sei darauf hingewiesen, daß sich mit dieser Methode in Fragen der Farbpigmente für die Systematik auswertbares Material gewinnen läßt. Der Vergleich der $R_f$-Werte der Pigmente wird manche verwandtschaftliche Probleme lösen können. Artenbegriffe werden sich besser abgrenzen lassen und zweifelhafte Artenkombinationen lassen sich klären. Bereits wurde bei *Cortinarius uliginosus* Berk. eine zitronengelbe Varietät mit dieser Methode gefunden. Madame Denise Lamour, Lyon, hielt an der Mykologischen Dreiländertagung in Klagenfurt 1965 einen Vortrag über die Auffindung dieser Varietät mit Hilfe der Papierchromatographie. In verschiedenen Gattungen wurden vom Schreibenden und andern Forschern Versuche unternommen, deren Ergebnisse entweder schon veröffentlicht wurden oder auf ihre Veröffentlichung warten. Aber auch die weitere Erforschung der Giftpilze und Pilzgifte kann vielleicht mit dieser Methode zu neuen Resultaten führen. Zusammenfassend eröffnet die Papierchromatographie ein weites Gebiet der Anwendung in der Pilzforschung und wird sicherlich zu vielen neuen Erkenntnissen führen.

*Literatur:*

*Cramer, F.*, Papierchromatographie. 1954.

*Linskens, H. F.*, Papierchromatographie in der Botanik. 1959.

## MITTEILUNG DER GESCHÄFTSLEITUNG

Personelle Änderung innerhalb der Geschäftsleitung: Neuer Registerführer ist Herr Gottfried Füllemann, Trieschweg 22, 5033 Buchs AG, Telephon 064 22 01 45. Mutationsmeldungen sind ab sofort an Herrn Gottfried Füllemann zu richten.

---

### *Ein gutes Pilzgericht: Spaghettipfanne mit Kronenbecherlingen*

Zutaten für 2 Personen: Etwa 150 g Becherlinge, etwa 30 g Nussella oder Butter, Zwiebel, Salz, Pfeffer, etwa 300 g Spaghetti, Reibkäse. Die Becherlinge werden gereinigt und in reichlich Wasser abgebrüht. Wasser fortschütten, Pilze abtropfen lassen und schnetzeln, in eine große Pfanne in heiße Butter mit reichlich gelb gedünsteten Zwiebeln geben, würzen und etwa eine Viertelstunde lang dünsten. Noch etwas Butter oder Fett dazugeben und die gekochten, gesalzenen und vom Wasser befreiten Spaghetti hineinschütten, gut mit dem Holzlöffel vermischen und noch einige Minuten über dem Feuer schwenken. Mit Reibkäse überstreut servieren.

*M. Schenker, Suhr*