

Papierchromatographie

VON P. v. TAVEL

THEODOR-KOCHER-Institut, Universität Bern

Es gibt in der modernen Chemie kaum eine Methode, die zugleich so einfach und so leistungsfähig ist wie die chromatographische Trennung auf Filtrierpapier. Kleine Mengen von Gemischen empfindlicher niedermolekularer Stoffe lassen sich damit in relativ kurzer Zeit schonend trennen. Das Verfahren kann mit einfachsten Mitteln in jedem Laboratorium auch von Nichtchemikern leicht gehandhabt werden.

Arbeitsweise

Die originelle Methode stammt von CONSDEN, GORDON und MARTIN, die sie erstmals zur Trennung von Aminosäuren in Wollhydrolysaten verwendet und 1944 veröffentlicht haben¹.

Ein Tropfen von 5–10 mm³ der Lösung des Gemisches, enthaltend 10–300 µg Aminosäuren, wird auf einem Streifen Filtrierpapier einige Zentimeter vom Ende entfernt aufgetragen und getrocknet. Das Ende des Papierstreifens taucht man in einen kleinen Trog mit Lösungsmittel, z. B. n-Propanol, so, daß die Stelle mit dem Gemisch ca. 2 cm außerhalb des Randes des Gefäßes zu liegen kommt. Der Trog wird in einem verschließbaren

Kasten derart befestigt, daß das Papier frei herunterhängt (Abb. 1). Die Luft, die den Streifen umgibt, muß mit dem Dampf des Lösungsmittels gesättigt sein. Das Papier saugt nun die Flüssigkeit aus dem Trog, die im Verlaufe von 12–18 Stunden etwa 30 cm weit hinunterfließt. Dabei werden die Komponenten des Gemisches je

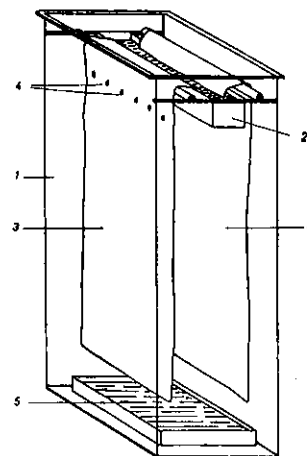


Abb. 1. Entwickeln eines Chromatogramms. 1 Glaskasten mit Deckel, 2 Trog mit Lösungsmittel, 3 Filtrierpapier, 4 Gemischproben, 5 Schale mit Lösungsmittel zum Sättigen der Luft

¹ R. CONSDEN, A. H. GORDON und A. J. P. MARTIN, *Biochem. J.* 38, 224 (1944).

nach ihren Löslichkeitseigenschaften mehr oder weniger weit mitgespült. Dieser Vorgang heißt «Entwickeln» des Chromatogramms. Nun trocknet man das Papier bei guter Lüftung bei 60–100° und bestimmt die Lage der Aminosäuren mit Hilfe der Ninhydrinreaktion. Zu diesem Zwecke wird der Streifen aus einem Zerstäuber mit der Ninhydrinlösung besprengt, getrocknet und erhitzt. Die einzelnen Aminosäuren geben sich an ziemlich scharf begrenzten Farbflecken zu erkennen. Die Strecke, welche eine Verbindung auf dem Chromatogramm zurücklegt, ist für diese charakteristisch und kann zu ihrer Identifizierung dienen.

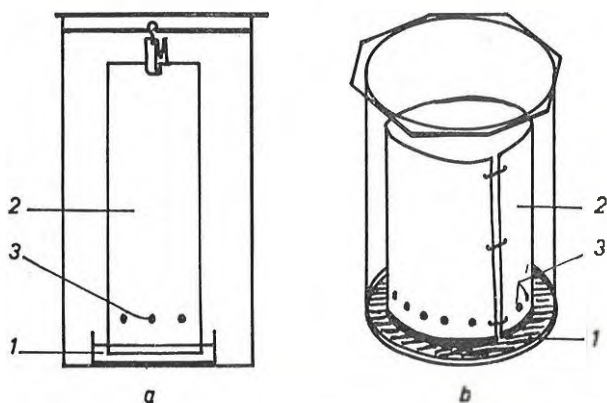


Abb. 2. Aufsteigende Chromatographie. 1 Lösungsmittel, 2 Filterpapier, 3 Gemisch

Statt das Lösungsmittel im Papier hinunterfließen zu lassen, kann der Streifen mit seinem untern Ende in die Flüssigkeit gehängt werden, damit es wie in einem Docht hinaufsteigt (Abb. 2a). Das Gemisch wird etwa 2 cm über dem Lösungsmittel aufgetragen. Diese «aufsteigende» Papierchromatographie läßt sich mit einfacheren Geräten ausführen. Das Entwickeln nimmt auf diese Weise kaum mehr Zeit in Anspruch. Meist entwickelt man mehrere Gemische und Vergleichssubstan-

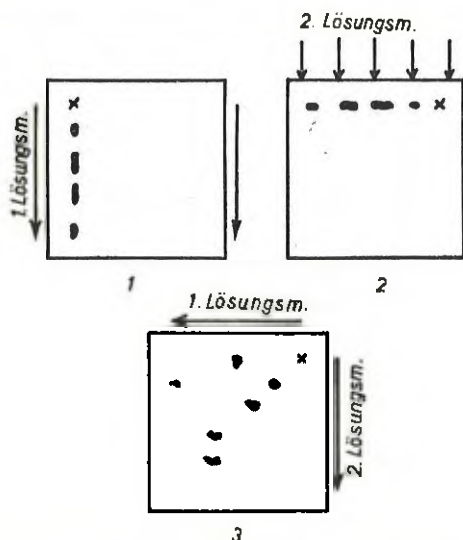


Abb. 3. Herstellung eines zweidimensionalen Chromatogramms
x Ausgangspunkt des Gemisches 30 x 30 mm

zen gleichzeitig auf einem Bogen, den man zu einem Zylinder gerollt in das Lösungsmittel stellt (Abb. 2b).

Wo mit einem Lösungsmittel keine genügende Trennung erwirkt werden kann, entwickelt man nach dem Trocknen mit einem zweiten Lösungsmittel senkrecht zur ersten Richtung, wobei die Komponenten zweidimensional über das ganze Blatt verteilt werden (Abb. 3). Auf diese Weise gelingt es, mehr als 20 Aminosäuren in einem Chromatogramm voneinander zu trennen.

Grundsätzlich kann gewöhnliches Filterpapier verwendet werden, da es aber zu dicht ist, wandert das Lösungsmittel für praktische Zwecke zu langsam. Heute haben sich allgemein die WHATMAN-Filterpapiere Nr. 1 und 4 eingeführt. Nr. 1 ist «langsamer», gibt aber etwas schärfer begrenzte Flecken. Diese Papiere sind auch weitgehend von störenden Verunreinigungen (Schwermetallen) befreit.

Der Trennungsvorgang

Die Trennung beruht bei den bisher untersuchten Mischungen auf Verteilungschromatographie². Die Adsorption an der Papierfaser beeinflusst die Trennung nur in Ausnahmefällen (Farbstoffe, hochmolekulare Verbindungen). Das an die Cellulose gebundene Wasser, das bei lufttrockenem Papier bis zu 20 % betragen kann, wirkt als stationäre, das Lösungsmittel als mobile Phase. Die Länge des Weges, die eine Verbindung im Chromatogramm zurücklegt, hängt vom Verhältnis ihrer Löslichkeit in den beiden Phasen ab. Je mehr das Verhältnis zugunsten der Löslichkeit in Wasser verschoben ist, um so weniger weit wandert die Komponente. Umgekehrt bedingt eine gute Löslichkeit im Entwicklungsmittel eine Verschiebung über eine lange Strecke. Im allgemeinen läßt sich die Wanderung einer Verbindung nicht aus den Verteilungskoeffizienten im voraus berechnen, außer bei einigen homologen Reihen, wo gewisse empirische Regeln bekannt sind. Das beste Lösungsmittel muß, soweit es nicht in der Literatur angegeben ist, von Fall zu Fall ermittelt werden.

R_F-Werte, Trennschärfe

Das Verhältnis $\frac{\text{Weg der Komponente}}{\text{Weg der Lösungsmittelfront}}$ nennt man den R_F-Wert einer Komponente. Als «Lösungsmittelfront» bezeichnet man die Trennlinie zwischen trockenem und nassem Papier. Die R_F-Werte sind von der Entwicklungsdauer und der Länge des Papierstreifens unabhängig, dagegen für jedes Lösungsmittel verschieden. Sie bedeuten für jede Verbindung eine charakteristische Konstante, die heute für die meisten Aminosäuren^{1,3}, Zucker¹, Carboxylverbindungen und zahlreiche andere Stoffe in der Literatur gefunden werden können.

Genaue Bestimmungen von R_F-Werten müssen bei definierter Temperatur vorgenommen werden. Die Tem-

² R. SIGNER, *Chimia* 5, 245 (1951).

³ C. E. DENT, *Biochem. J.* 43, 169 (1948).

¹ S. M. PARTRIDGE, *Biochem. J.* 42, 238 (1948); *Nature* 158, 270 (1946).

peraturkonstanz ist für die Trennung nur dann wesentlich, wenn die Verteilungskoeffizienten deutlich temperaturabhängig sind. Im allgemeinen reicht eine Konstanz von $\pm 2^\circ$ aus.

Zwei Verbindungen lassen sich ohne spezifische Nachweisreaktionen im Chromatogramm im allgemeinen noch einwandfrei nebeneinander erkennen, wenn sich ihre R_F -Werte um mindestens 10% unterscheiden. Je länger das Chromatogramm ist, desto größer wird der Abstand zwischen zwei benachbarten Flecken. Man kann die Trennung aber nicht durch Verlängern des Entwicklungsweges beliebig steigern, weil die Flecken um so diffuser werden, je weiter sie wandern. Bei kleinen R_F -Werten läßt man gelegentlich das Lösungsmittel beim Entwickeln vom Papier abfließen, um trotz beschränkter Papierlänge eine Vergrößerung der Entwicklungsstrecke zu erreichen. Freilich muß dafür Sorge getragen werden, daß die Komponenten auf dem Chromatogramm verbleiben.

Lösungsmittel

Zur Trennung der Aminosäuren haben sich als Lösungsmittel Phenol, Kollidin, n-Butanol, n-Propanol, Benzylalkohol u. a. gut bewährt, wenn man sie mit Wasser nahezu sättigt. Trotzdem zu erwarten ist, daß sich nur Lösungsmittel eignen, die mit Wasser zweiphasige Systeme bilden können, haben mit Wasser unbeschränkt mischbare Lösungsmittel in vielen Fällen sehr gute Trenneffekte ergeben. Zur Erklärung dieses Verhaltens nimmt man an, daß sich das System Cellulose-Wasser in bezug auf das Lösungsvermögen anders als reines Wasser verhält und die Bildung einer zweiten Phase ermöglicht.

Phenol gibt oft eine braune Lösungsmittelfront, die das Chromatogramm stören kann. Wenn es über einigen Aluminiumspänen destilliert und mit einer Spur Kaliumcyanid zur Bindung von Schwermetallen im Papier versetzt wird, tritt die Verfärbung weniger stark auf. Die Verwendung von reinstem Papier trägt wesentlich zur Vermeidung dieser Störung bei.

Kollidin muß stets lutidinhaltig sein. Die Mischung ist im Handel erhältlich, muß aber mit Brom, dann mit Natriumhydroxyd und durch Destillation gereinigt werden.

In neuerer Zeit werden Alkohole und Mischungen von verschiedenen Lösungsmitteln, wie Ketone und Ester, statt Phenol oder Kollidin empfohlen^{5,6}.

Diese Lösungsmittel eignen sich nicht nur zur Trennung von Aminosäuren, sondern auch für die Zerlegung von Mischungen von Zuckern, Zuckerderivaten, anorganischen Ionen, Carboxylverbindungen und vielen andern Stoffen.

Der pH

Der pH des Entwicklungsmittels kann die Trennung von ionisierbaren Substanzen beeinflussen. Die Vertei-

lungskoeffizienten der undissoziierten Verbindung sind von denen des Ions verschieden und bedingen unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten beim Entwickeln. Befinden sich beide Formen im Gleichgewicht, so erhält man statt der scharfen Flecken verwaschene Streifen längs des zurückgelegten Weges. Der pH des Lösungsmittels muß deshalb so gewählt werden, daß die Verbindungen praktisch vollständig oder gar nicht dissoziiert sind.

Die Carboxylionen der Monoaminodicarbonsäuren, z. B. der Glutaminsäure oder Asparaginsäure, sind in Phenol weniger löslich als die Säuren selbst und wandern deshalb im Chromatogramm langsamer. Durch Zusatz von Ammoniak zum Phenol werden diese Säuren in die langsameren Carboxylionen übergeführt und lassen sich von den Monoaminomonocarbonsäuren, die als innermolekulare Salze wenig pH-abhängig sind, besser abtrennen. Umgekehrt werden die basischen Aminosäuren durch saure Zusätze, z. B. Essigsäure zu Butanol, verzögert.

Neutralsalze

Größere Mengen von Neutralsalzen stören die Entwicklung von Chromatogrammen zur Trennung von Aminosäuren und Zuckern. Nicht völlig geklärte Aus-salzvorgänge verursachen unscharfe, langgezogene Flecken. Die Gemische müssen daher vor der Trennung von größeren Mengen Neutralsalzen gereinigt werden (z. B. mit Ionenaustauschern).

Die Lokalisierung und Identifizierung der getrennten Verbindungen

Um die getrennten Stoffe auf dem Papier nachzuweisen, bedient man sich geeigneter Farbreaktionen. Bei Aminosäuren z. B. besprengt man den Bogen mit 0,1% Ninhydrinlösung in Butanol. Nach dem Trocknen und Erhitzen auf 100° geben sich Aminosäuren und primäre Amine durch blaue bis violette Flecken zu erkennen, außer Prolin und Oxyprolin, die eine gelbe Färbung bilden. Die Reaktion ist sehr empfindlich und ermöglicht noch $1 \mu\text{g}$ Aminosäure zu erfassen.

Substanzen, die im Ultraviolettlicht fluoreszieren, z. B. Aminosäuren nach kurzem Erhitzen, können unter der Quarzlampe lokalisiert werden. Purine und Pyrimidine, die ultraviolettes Licht stark absorbieren, lassen sich im Chromatogramm nachweisen, indem man eine photographische Kontaktkopie des Chromatogramms im Ultraviolettlicht herstellt. Auf der Kopie erzeugen die Verbindungen weiße Flecken auf dunklem Grund⁷.

Wenn die Komponenten nicht durch spezielle Farbreaktionen identifiziert werden können, entwickelt man Markiersubstanzen neben der Mischung auf demselben Blatt oder auf einem zweiten Chromatogramm unter gleichen Bedingungen. Unbekannte Stoffe können allenfalls durch Vergleich der Lage ihrer Flecken mit derjenigen der Markiersubstanzen identifiziert werden.

⁵ R. A. BOISSONNAS, Helv. Chim. Acta 33, 1966 (1950).

⁶ H. R. BENTLEY und J. K. WHITEHEAD, Biochem. J. 46, 341 (1950).

⁷ R. MARKHAM und J. D. SMITH, Biochem. J. 45, 294 (1949).

Quantitative Papierchromatographie

Papierchromatogramme kann man quantitativ auswerten, indem man die Größe der Farbflecken mit solchen bekannter Proben vergleicht. Die Methode gestattet jedoch die Menge bestenfalls auf $\pm 15\%$ abzuschätzen. Meistens werden die getrennten Komponenten ausgeschnitten, einzeln abgewaschen und in Lösung analysiert. Um die Lage der Flecken festzustellen, ohne die Substanzmenge zu vermindern, verwendet man Fluoreszenz oder Absorption im Ultraviolett. Wo das nicht geht, müssen die Chromatogramme im Doppel erstellt werden. Ein Blatt dient zum Lokalisieren der Flecken, das andere für die quantitative Bestimmung. Eine größere Genauigkeit als $\pm 5\%$ läßt sich in der Regel nicht erreichen.

Neuerdings hat WIELAND⁸ die sogenannte Retentionsanalyse entwickelt. Das eindimensionale Chromatogramm eines Aminosäuregemisches wird nach dem Trocknen mit einer Längsranne in eine Reagenslösung von Kupferacetat gestellt, die im Papier quer zur Entwicklungsrichtung hochsteigt. Aminosäuren binden die Kupferionen der aufsteigenden Lösung komplex und halten sie zurück. Nachdem die Reagenslösung bis nahe an die obere Kante gestiegen ist, wird getrocknet und das Kupfer durch die Braunfärbung mit Rhubeanwasserstoff sichtbar gemacht. Über den Aminosäuren, die das Kupfer gebunden haben, zeigt die Front des Reagens Einbuchtungen, deren Fläche proportional der Aminosäuremenge ist (Abb. 4). KAUFMANN⁹ hat diese Analyse-methode zur mikroanalytischen Untersuchung von Fetten herangezogen.

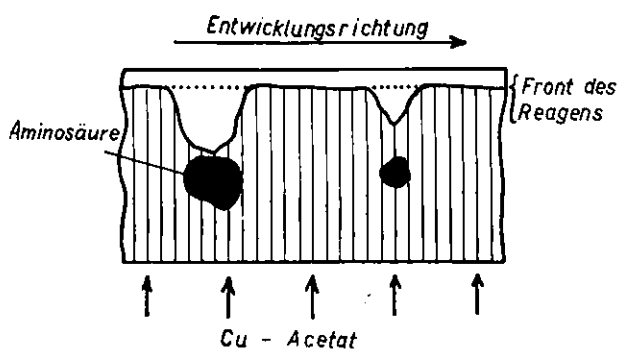


Abb. 4. Retentionsanalyse

Trennung von Zuckern und Derivaten

PARTRIDGE⁴ hat erstmals das Verfahren von CONDEN zur Trennung von Zuckern erfolgreich angewandt. Als Lösungsmittel erwiesen sich Phenol-Wasser, Kollidin-Wasser, n-Butanol-Essigsäure u. a. als zweckmäßig. Später¹⁰ sind auch Mischungen von Äthylacetat-Essig-

säure-Wasser und Äthylacetat-Pyridin-Wasser empfohlen worden. Besonders bei Zuckern hat die Erfahrung gelehrt, daß unbekannte Mischungen mit mindestens drei verschiedenen Lösungsmitteln getrennt werden müssen, weil sonst Beimischungen anderer Verbindungen durch ihre Lage leicht Zucker vortäuschen können.

Um reduzierende Zucker auf dem Papier sichtbar zu machen, besprengt man den Bogen mit ammoniakalischer Silbernitratlösung. Die Lage der einzelnen Verbindung gibt sich durch braune Flecken nach dem Trocknen und Erhitzen zu erkennen. Die Silbernitratreaktion ist aber keineswegs spezifisch für Zucker; so geben Polyphenole und zahlreiche andere reduzierende Verbindungen ebenfalls eine positive Reaktion. Zum Nachweis einzelner Gruppen von Zuckern und ihren Derivaten gibt es eine große Zahl spezifischer Farbreaktionen¹¹. Die wichtigste beruht auf der Spaltung mit starken Säuren, wobei Furfurol und andere Abbauprodukte entstehen, die mit aromatischen Aminen und Phenolen Farbreaktionen zeigen, welche für die Zucker charakteristisch sind. Bei der Anwendung dieser Reaktion auf dem Chromatogramm verwendet man an Stelle der sonst üblichen Salzsäure besser Trichloressigsäure, um einen Abbau der Cellulose des Papiers zu vermeiden. Die aromatische Komponente wird zusammen mit der Säure aufgetragen, getrocknet und kurz erhitzt. Naphtoresorcin liefert z. B. eine spezifische Reaktion auf Keto-hexosen, Rohrzucker und Raffinose. m-Phenylendiamin gibt Flecken, die im Ultraviolett Fluoreszenzerscheinungen zeigen, welche durch ihre Farbnuance eine weitere Differenzierung der Zucker gestatten. Mit saurem Anilinoxalat können Aldosen neben Ketosen, die nicht reagieren, erkannt werden.

Für quantitative Bestimmungen werden die Komponenten einzeln vom Papier gewaschen und die Lösung nach SOMOGYI mit Kupfer¹² oder mit Kaliumjodid bei gewissen pH¹³ bestimmt. Die Lokalisierung der Flecken nimmt man anhand eines Doppels des Chromatogramms vor, das unter gleichen Bedingungen entwickelt und mit ammoniakalischer Silbernitratlösung behandelt worden ist.

Optische Isomeren lassen sich durch Verteilungschromatographie zerlegen. Dagegen bietet die Trennung optischer Antipoden Schwierigkeiten. BONINO und CARASSITI¹⁴ gelang die Trennung der racemischen Mischung von d- und l- α -Naphtholbenzylamin mit Phenol als stationäre und l-Weinsäurelösung als mobile Phase.

¹¹ E. L. HIRST und J. K. N. JONES, Disc. Faraday Soc. Nr. 7, 269 (1949); S. M. PARTRIDGE, Biochem. Soc. Symposia Nr. 3 (1949); L. HOUGH, J. K. N. JONES und W. H. WADMAN, J. Chem. Soc. 1950, 1702; J. G. BUCHMAN, C. A. DEKKER und A. G. LONG, J. Chem. Soc. 1950, 3162.

¹² A. E. FLOOD, E. L. HIRST und J. K. N. JONES, Nature 160, 86 (1947).

¹³ J. R. HAWTHORNE, Nature 160, 714 (1947).

¹⁴ G. B. BONINO und V. CARASSITI, Nature 167, 569 (1951).

⁸ TH. WIELAND, Z. angew. Chem. 60 A, 313 (1948).

⁹ H. P. KAUFMANN, Fette u. Seifen 52, 713 (1950).

¹⁰ A. JEANES, G. S. WISE und R. J. DIMLER, Anal. Chem. 23, 415 (1951).

Trennung von organischen Säuren

Die Trennung von Mono- und Dicarbonsäuren, die oft bei der Untersuchung von Pflanzen und Fruchtsäften erforderlich ist, läßt sich mit Papierchromatographie ausführen. Hier ist es wesentlich, entweder die Dissoziation der Säuren beim Entwickeln durch Zugabe anderer Säuren zum Lösungsmittel ganz zu unterbinden¹⁵ oder die Säuren als Carboxylionen zu trennen. BROWN¹⁶ hat die Natriumsalze von Monocarbonsäuren mit Butanol, das mit 1,5-n-Ammoniak gesättigt worden war, getrennt. Die Dicarbonsäuren sind in Wasser besser löslich und wandern im Chromatogramm zu langsam, wenn nicht das Butanol durch Äthylalkohol ersetzt wird¹⁷. Zum Nachweis der Säuren auf dem Papier besprengt man den Bogen mit einem Indikator, z. B. Bromkresolgrün (40 mg in 100 cm³ 95prozentigem Alkohol). Die Säureflecken erscheinen gelb auf blauem Grund.

KAUFMANN¹⁸ hat die höheren Fettsäuren (Stearin-, Öl- und Linolsäure) getrennt. Zum Entwickeln verwendet er Methylalkohol mit 1% Wasser. Die Säuren lassen sich mit Kaliumpermanganat nachweisen.

Trennung anorganischer Ionen

Die Papierchromatographie ist nicht auf organische Verbindungen beschränkt, sondern eignet sich vorzüglich zur Zerlegung von anorganischen Kationengemischen. POLLARD und Mitarbeiter¹⁹ haben einen chromatographischen Analysengang ausgearbeitet, mit welchem 22 der häufigsten Metalle getrennt und nachgewiesen werden können. Zum Entwickeln dient eine Mischung von Butanol und Benzoylacetone. Letzteres bildet mit vielen Metallen Komplexe, die sich im Papierchromatogramm besser trennen lassen als die Kationen selbst. Mit vier verschiedenen Nachweisreaktionen werden die Metalle auf parallelen Chromatogrammen gruppenweise nachgewiesen. Dieselben Autoren haben Halogen- und Cyanidionen chromatographisch getrennt. Trennungen einzelner Kationengruppen sind schon früher von LEDERER²⁰ sowie von BURSTALL und Mitarbeitern²¹ beschrieben worden.

Weiterentwicklung der Papierchromatographie

Die Papierchromatographie wird hauptsächlich in drei Richtungen weiterentwickelt:

1. Die Methode wird für quantitative Analyse verfeinert.
2. Man versucht, das Papier durch flächenförmige

¹⁵ J. W. H. LUGG und B. T. OVERELL, *Nature* 160, 87 (1947); J. B. STARK, A. E. GOODBAN und H. S. OWENS, *Anal. Chem.* 23, 413 (1951).

¹⁶ F. BROWN, *Nature* 167, 441 (1951).

¹⁷ F. BROWN und L. P. HALL, *Nature* 166, 66 (1950).

¹⁸ H. P. KAUFMANN, *Fette u. Seifen* 52, 331 (1950).

¹⁹ F. H. POLLARD und Mitarbeiter, *J. Chem. Soc.* 1951, 466-74, 771-4.

²⁰ M. LEDERER, *Nature* 163, 598 (1949), 162, 776 (1948).

²¹ BURSTALL und Mitarbeiter, *Nature* 162, 692 (1948); *J. Chem. Soc.* 1949, 311, 1950, 516.

Träger für die stationäre Phase zu ersetzen, die ermöglichen, statt Wasser organische Lösungsmittel zu verwenden, und hofft, auch Stoffe trennen zu können, die in Wasser nur sehr wenig löslich sind. KIRCHNER, MILLER und KELLER²² ist es so gelungen, mit einer neuen Technik eine große Zahl von Terpenen zu trennen.

3. Die Papierchromatographie wird mehr und mehr zur Untersuchung biologischer Systeme herangezogen und zur Trennung von Peptiden, Proteinen, Hormonen und andern biologisch wichtigen Verbindungen verwendet.

Eine interessante Untersuchung, welche die Möglichkeiten und die Leistungsfähigkeit der Papierchromatographie zeigt, haben ROBERT und KAY FINK²³ durchgeführt. Sie belichteten 1 mg der Alge *Chlorella* in Gegenwart von Kohlendioxyd, das radioaktives Isotop C¹⁴ enthielt. Im alkoholischen Extrakt der Alge wurden diejenigen Verbindungen mittels Papierchromatographie isoliert, in die das assimilierte Kohlendioxyd übergeführt worden war. Im zweidimensionalen Phenol-Kollidin-Chromatogramm wurden einige nichtaktive Aminosäuren als Markiersubstanzen in Mengen mitentwickelt, die sich mit Ninhydrin nachweisen ließen. Die in kleinsten Spuren vorhandenen β -strahlenden aktiven Verbindungen wurden an der Schwärzung eines Films erkannt, der drei Tage lang auf das Chromatogramm gepreßt worden war. Durch Vergleich mit den Flecken der Markiersubstanzen wiesen die Autoren Glutaminsäure, Glycin, Alanin, Arginin, Valin und Prolin als Assimilationsprodukte nach. Daneben waren im Chromatogramm eine Anzahl Verbindungen sichtbar, vermutlich Zucker und Peptide, die nicht sicher identifiziert werden konnten.

Zusammenfassung

Aus der kurzen Skizzierung der Trennungsmethode der Papierchromatographie und einiger ihrer Anwendungen ergibt sich, daß das Verfahren zur Trennung von Mischungen löslicher, niedermolekularer, nichtflüchtiger organischer und anorganischer Stoffe angewendet werden kann. Das geeignetste Lösungsmittel zum Entwickeln des Chromatogramms muß von Fall zu Fall empirisch ermittelt werden, sofern nicht die nötigen Angaben in der umfangreichen Literatur zu finden sind. Um die farblosen getrennten Komponenten sichtbar zu machen, ist eine Farbreaktion erforderlich, die auf dem Papier ausgeführt werden kann, wenn sich die Substanzen nicht im Ultraviolettlicht erkennen lassen.

Die Papierchromatographie ist zur Trennung von Aminosäuren, Zuckern, anorganischen Kationen und organischen Säuren sowie zahlreichen andern Verbindungen erfolgreich verwendet worden. Sie eignet sich besonders zur Untersuchung biologischer Probleme, weil sie kleinste Gemischmengen schonend und verhältnismäßig schnell zu trennen gestattet.

²² J. G. KIRCHNER, J. M. MILLER und G. J. KELLER, *Anal. Chem.* 23, 420 (1951).

²³ R. M. FINK und K. FINK, *Science* 107, 253 (1948).