

CHEMISCH WEEKBLAD

ORGAAN VAN DE NEDERLANDSE CHEMISCHE VERENIGING

INHOUD

	Blz.		Blz.
Verhandelingen, Overzichten, Verslagen	1	Vraag en Aanbod.	15
Ir. J. Ylstra, De papierchromatografie I.		Aangeboden betrekkingen.	15
Personalia.	14	Gevraagde betrekkingen.	16
Verenigingsnieuws	14	Mededelingen van de Redactiecommissie.	16
Mededelingen van het Secretariaat. — Chemische Krin- gen.		Verzoek van de Redactiecommissie aan de schrijvers.	
Mededelingen van verwante verenigingen.	15	Agenda van Vergaderingen.	16
Mededelingen van verschillende aard	15		

Verhandelingen, Overzichten, Verslagen

De papierchromatografie

door J. Ylstra

545.844

De plaats van de papierchromatografie tussen de andere chromatografische werkwijzen wordt aangegeven, waarna de geschiedenis, de methodiek en de apparatuur van deze werkwijze worden besproken.

De betekenis van de papierchromatografie voor de bruikbaarheid van de chromatografische scheidingsmethode wordt besproken, waarnaast de waarde van deze bijzondere werkwijze met die van de andere chromatografische werkwijzen vergeleken wordt.

Ten slotte worden de eenvoud van de papierchromatografische recepten en de uitgebreide mogelijkheden welke de werkwijze op het moment reeds biedt, aan de hand van voorbeelden uit de literatuur gedemonstreerd.

Inleiding.

Zoals bij de bespreking van de grondbeginselen ¹⁾ gezegd werd, kan men het gebied van de chromatografie verdelen in: Adsorptie-, Uitwisselings- en Verdelingschromatografie. Die bijzondere werkwijze van de verdelingschromatografie, waarbij men papier als drager gebruikt, wordt „papierchromatografie” genoemd. Dit papier wordt in de vorm van repen, vellen en schijven gebruikt.

De vorm en de aard van dit dragermateriaal veroorzaken het gebruik van een methodiek en een apparatuur, welke afwijken van die van de klassieke werkwijzen.

Beschouwt men deze repen, vellen en schijven als geprefabriceerde kolommen, dan constateert men direct, dat men een dergelijke aangename vereenvoudiging van het recept bij de andere chromatografische werkwijzen uiterst zelden ontmoet. Gewoonlijk moet men toch de kolom door zorgvuldig vullen van een buis zelf maken. Bovendien moet een dergelijke kolom voor het verkrijgen van de vereiste rechte fronten goed homogeen zijn, hetgeen veelal niet gemakkelijk te bereiken is.

Uiteraard zijn deze repen en vellen papier niet in de klassieke cilindrische buisapparatuur onder te brengen. Dit zou echter geen bezwaar zijn, daar men zonder moeite een buisapparatuur kan bedenken, welke zich bij de vorm van het gebruikte dragermateriaal aansluit. De moeilijkheid is, dat deze apparaturen slechts met moeite *nauw omsluitend* zijn te construeren. En dit laatste is nodig, daar de loopvloeistof anders niet *door* het papier, doch tussen de wand van de buis en het papier, dus *over* het papier zal stromen. Daarom past men het andere uiterste toe en brengt de papierkolom in een ruime hermetisch gesloten ruimte onder, er voor zorg dragend, dat de atmosfeer van deze ruimte evenwichtig verzadigd is met de beide gebruikte fasen.

Een ander gevolg is, dat men het oplosmiddel, waarin men het te scheiden mengsel oplost, niet zorgvuldig hoeft uit te kiezen. Bij de klassieke apparatuur zal dit oplosmiddel tevens als elutiemiddel moeten worden gebruikt of het zal op geen enkele wijze op de kolom mogen inwerken. Het is toch zo, dat dit oplosmiddel slechts verwijderd kan worden door het met het elutiemiddel in de elutie-richting door de kolom te drukken, hetgeen dus

Tabel I.
Overzicht van de toepassingen van de papierchromatografie.

Het te scheiden Mengsel	Papiersoort en Onbeweeglijke phase	Loopvloeistof.		Correctiemiddelen Voorbewerking van mengsel of papier	Identificatie met behulp van	Toelichtingen
		oplosmiddel	correctiemiddelen plus toevoeging van			
Aminozuren ¹) ³⁰⁻³³) en peptiden ⁴²⁻⁴⁴)	Whatman No. 1 en Waterige opl.	Phenol Phenol Collidine n-Butanol Benzylalcohol ³⁰) Lutidine	ammonia + cupron of HCN azijnzuur ⁴) + cupron of HCN lutidine + diaethylamine ⁴) ammonia benzylalcohol ³⁰) amylalcohol ³⁴)	Ontvetten en electrolytisch ont- zouten van mengsel wanneer nodig ³³) ³⁵)	Ninhydrin Chloor en KI-stijfseloplossing ³⁹) Een jodiumplatinaat of ander reagens ³⁴) Radioactieve reagentia ⁴⁰) ⁴¹)	Quantitatieve methode
Dinitrophenyl derivaten van aminozuren ⁴⁵)	idem	Propanol Propanol n-Butanol	petroleumaether cyclohexaan benzylalcohol + aethanol		Eigen kleur	Normale oplosmiddelen geven slechte resultaten
Eiwitten ⁴⁶⁻⁴⁹)	idem en gebufferd ⁴⁶)	Waterige oplossingen van zouten en buffers ⁴⁶) ⁴⁹) Water, aceton, zout ⁴⁷) Water, aceton, aethanol ⁴⁸)		?	HgCl ₂ in aethanol en daarna broomphenolblauw ⁴⁸) „Benzidine-reagens” ⁴⁶)	Verdelingschromato- grafie met één phase
Suikers ⁵⁰⁻⁶⁴) en meerwaardige alcoholen ¹¹⁴)	Whatman No. 1 en Waterige opl.	Phenol Collidine n-Butanol n-Butanol n-Butanol Aethylacetaat ⁵¹) Aethylacetaat ⁵¹)	aethanol pyridine + benzeen ⁶³) azijnzuur pyridine	Ontzouten van het mengsel met ionenwisselaars ⁵²) of met basisch loodcarbonaat ⁵⁴) Methyleren v. d. componenten	Ammoniakale oplossing van Ag ₂ O Aniline plus zuren als phtaal- zuur, oxaalzuur en fosforzuur, en andere reagentia ⁵⁸) ⁶²)	Quantitatief doel
Purinen, pyrimidinen en derivaten ⁶⁵⁻⁷³)	Whatman No. 1 S. & S. 597 ⁶⁶) en Waterige opl.	n-Butanol ⁶⁸) n-Butanol ⁶⁸) n-Butanol ⁶⁵) ^{65a}) Propanol ⁶⁹) sec. Butanol ⁶⁹) tert. Butanol ⁶⁹) n-Butanol n-Butanol Isoboterzuur ⁷²) Collidine ⁶⁶)	ammonia mierenzuur mierenzuur mierenzuur zoutzuur dioxaan ⁷¹) diaethyleenglycol ⁷¹) ⁶⁶) ammonia		Kwikzouten en vervolgens Na ₂ S ⁶⁶) Hun sterke adsorptie van ultra- violet licht van 2500—2600 Å Chemische reagentia voor som- mige derivaten ⁷³)	Quantitatief bruikbaar Collidine en phenol e.d. storen de fysische aan- toning
Vluchtige aliphatische zuren ⁷⁴) ⁷⁵) ⁷⁶)	Whatman No. 1 en Waterige opl.	n-Butanol en andere aliphatische alcoholen		Componenten in de natrium- of ammoniumzouten omzetten	Broomkresolgroen of broom- phenolblauw en zure of basische dampen	
Niet-vluchtige aliphatische zuren ⁷⁴) ⁷⁵) ⁷⁶)	idem	idem idem Phenol ⁷⁶)	mierenzuur azijnzuur mierenzuur		Broomkresolgroen of broom- phenolblauw en andere dergelijke indicatoren	
Hogere vetzuren ²³)	S. & S. 595 en Rubber latex	Methanol Methanol	aceton	De zuren als esters scheiden	Sudan IV	Omgekeerde papier- chromatografie
Ketozuren ⁸⁰) ⁸¹)	S. & S. 597 Whatman No. 2 en Waterige opl. of	n-Butanol tert. Amyl alcohol	aethanol + buffer aethanol + buffer	Papier wassen of drenken in buffers ⁸¹) Componenten in de dinitro- phenylhydrazonderivaten omzetten ⁸¹)		

Aromatisch zuren en derivaten ⁸²) ⁸³) ⁸⁴)	Whatman No. 1 en Whatman No. 4 Waterige opl.	n-Butanol n-Butanol Chloroform ⁸⁵) Chloroform	ammonia + ammoniumcarbonaat ¹⁹) azijnzuur mierenzuur azijnzuur	pH-indicatoren en specifieke reagentia	
Antibiotica ¹²) ⁸⁵ — ⁸⁸)	Whatman No. 1 en Whatman No. 4 Buffers	Diaethylaether Isopropylaether	buffers isopropylalcohol + buffers	Microbiologische methodes, zelden chemische reacties ¹²)	Met n-butanol zonder meer gaat het soms ook zeer goed
Vitamines ⁸⁹ — ⁹¹) en andere groeistoffen ⁹² — ⁹⁸)	Whatman No. 1 Waterige opl.	n-Butanol Collidine Phenol n-Butanol n-Butanol Isopropanol	blauwzuur ⁹²) azijnzuur azijnzuur ammonia ammonia	Microbiologische methodes Havercoleoptielen ⁹⁵) ⁹⁶) Chemische reagentia	
Phosphaatesters ⁹⁷) ⁹⁸)	idem	tert. Amylalcohol Methanol Methanol	p-toluensulfonzuur + aethyleendiamine mierenzuur ammonia		Gaat volgens de suikerscheiding ook ⁹⁷)
Verbindingen met een phenolisch karakter ⁹⁹ — ¹⁰²)	Whatman No. 1 ¹⁰⁰) ^{100a}) Whatman No. 4 ⁹⁹) ¹⁰²) Waterige opl.	n-Butanol n-Butanol Phenol n-Butanol n-Amylalcohol ¹⁰¹) Phenol Phenol	pyridine + zout ⁹⁹) azijnzuur azijnzuur trichloorazijnzuur ¹⁰²)	Chemische reagentia zoals bijv. ferrizouten ¹⁰⁰) ^{100a})	
Porphyrienen en methyl-esters ervan ¹⁰³ — ¹⁰⁷)	Whatman No. 1 en Waterige opl.	Lutidine Chloroform n-Propylalcohol	Waterige alkali en geconcentreerde zoutoplossingen ¹⁰¹) kerosine ¹⁰⁶) ¹⁰⁷) kerosine ¹⁰⁶) ¹⁰⁷)	Fluorescentie in U.V.-licht	Papierchromatografie met één phase
Pyrimidederivaten ¹⁰⁸)	idem	n-Butanol n-Amylalcohol Benzylalcohol	ammonia ammonia pyridine	Chemische middelen	
Organische basen ¹⁰⁹)	idem	n-Butanol	azijnzuur	Chemische middelen	
Sulfonamiden ¹¹¹) ¹¹²)	idem	n-Butanol	azijnzuur of ammonia	Chemische middelen	
Alcoholen ¹¹³)	idem	n-Butanol	ammonia	idem en fluorescentie	
Steroiden ¹¹⁵)	idem	n-Butanol		Chemische middelen	Gewoonlijk met omgekeerde papierchrom.
Afbraakproducten van riboflavine ¹¹⁷)	Whatman No. 1 S. & S. 237 en Waterige opl.	n-Butanol n-Butanol	azijnzuur pyridine	Fluorescentie	
Optische antipoden van naphtholbenzylamine ²¹)	Whatman No. 1 en Phenol	Oplossing van d-Wijnsteenzuur n-Butanol n-Butanol			Dergelijke scheidingen zijn zeldzaam
Anorganische kationen ¹¹⁶ — ¹²⁵)	Whatman No. 1 soms ook Whatman No. 3 en Waterige opl.	n-Butanol Collidine ¹²⁵) Pyridine Diaethylaether Tetrahydroxyvaan Dioxaan n-Propylketon Aceton	zoutzuur ¹²⁰) ¹²⁴) azijnzuur + glycerol of acetylazijnester ¹²⁰) benzoylaceton ¹²⁵) KCNS ¹¹⁹) salpeterzuur ¹¹⁸) antipyrine ¹²⁵) zoutzuur ¹¹⁹)	Chemische middelen en deze tezamen met de fluorescentie	Het artikel van Pollard en Mc Omie ¹²⁵) is aanbevelenswaardig

tijdens de ontwikkeling geschiedt. Bij de papierchromatografie brengt men een hoeveelheid van het opgeloste mengsel op het papier aan, en wel op een door de gebruikte apparatuur vereiste plaats, waarna men het oplosmiddel door verdampen verwijderd. Tast het oplosmiddel de drager aan, dan betreft dit slechts een kleine hoeveelheid van die drager. Kan het oplosmiddel het phasenevenwicht verstoren, dan merkt men dat in het geheel niet, daar de onbeweeglijke fase eerst na het opbrengen van het mengsel op het papier gehecht wordt. Het een en ander levert tevens de mogelijkheid om het mengsel op het papier nog allerlei bewerkingen te doen ondergaan. Zo kan men neutraliseren, oxyderen⁴⁾ en misschien nog wel ingrijpender bewerkingen uitvoeren. Bij gebruik van de klassieke apparatuur kan dit laatste in het geheel niet op de kolom plaats vinden.

Ook behoeft men de elutie bij de papierchromatografie niet met een geheel met vloeistof gevulde kolom te beginnen. Capillaire krachten zuigen het elutiemiddel in het papier, terwijl de in de poriën aanwezige lucht zijdelings kan ontwijken. Daar bij gebruik van de klassieke apparatuur de eventueel aanwezige lucht niet op deze wijze uit de kolom kan verdwijnen (en zelfs hardnekkig wordt vastgehouden, wanneer men van beneden naar boven elueert), zal het drooglopen van de klassieke kolom een mislukt experiment leveren.

De bovengenoemde afwijkingen van de klassieke werkwijze bleken vereenvoudigingen en dus voordelen met zich mee te brengen. Het vermelde gebruik van papier heeft echter ook minder aangename gevolgen. Zo kan men de elutie niet versnellen door toepassing van een overdruk bovenop of een onderdruk onder aan de kolom. Bij de papierchromatografie moet men tevreden zijn met de capillaire zuigkracht van deze niet met vloeistof gevulde papierkolommen.

Wanneer men in de richting van de zwaartekracht elueert, dus van boven naar beneden, dan levert het gewicht van het elutiemiddel in het papier nog een extra krachtbron voor de stroming van de vloeistof door het papier. Op deze wijze werkend is het mogelijk om, evenals bij de klassieke apparatuur, de elutie voort te zetten, nadat het papier geheel met het elutiemiddel gevuld is.

Elueert men in omgekeerde richting, dan werkt de zwaartekracht tegen, zodat het proces zeer langzaam verloopt en bij gebruik van lange papierrepen praktisch geheel tot stilstand kan komen, voordat de reep volledig met vloeistof gevuld is. Slechts bij elutie in horizontale richting zou men een constante krachtbron voor de vloeistofstroming kunnen verwachten. Het papier blijkt echter door het contact met de normaliter gebruikte elutiemiddelen, langzaam minder poreus te worden, daar genoemd contact meestal een zwellen van de papiervezel veroorzaakt. Men ontmoet dus bij de papierchromatografie bijna altijd een geleidelijk afnemende vloeistof-snelheid.

In de praktijk levert dit alles het bezwaar, dat de eluties relatief veel tijd vergen en dit proces slechts belangrijk versneld kan worden door zeer korte repen — dus kleine kolommen — te gebruiken. Dit laatste is echter in het algemeen bij een chromatografische scheiding niet aan te bevelen, daar de toe-

laatbare concentraties van de componenten, waarmee men nog juist een goede scheiding bereikt, zeer laag worden. Men moet dus ook weer veel gevoeligere identificatiereacties gebruiken, hetgeen naast andere optredende moeilijkheden dikwijls een onoverkomelijk bezwaar is.

Daarnaast is het natuurlijk zonder meer duidelijk, dat de genoemde niet constante en bovendien op onbekende wijze veranderende stroomsnelheid van de beweeglijke fase de exacte berekening met behulp van fysische gegevens van de plaats van de componenten in het chromatogram en op het papier zeer moeilijk maakt.

De geschiedenis van de papierchromatografie.

De papierchromatografie ontwikkelde zich uit de verdelingschromatografie, toen men bij de laatste nog alleen silicagel als drager toepaste. Na vastleggen van de onbeweeglijke waterige fase op deze drager, bleek hij nog aanzienlijke adsorptieve eigenschappen overgehouden te hebben. Dit leverde een voordeel en een nadeel. Het voordeel bestond daarin, dat men naast de onbeweeglijke fase nog een indicator op de drager kon hechten en dat deze indicator de banden van de componenten op de kolom zichtbaar maakte. Deze indicator mocht echter niet in de beweeglijke fase terecht komen, zodat hij of irreversibel door de drager geadsorbeerd of onoplosbaar in de beweeglijke fase moest zijn. Blijkbaar was het een en ander niet altijd het geval, zodat deze elegante identificatiemethode niet algemeen toepasbaar was. Daarnaast was de drager nog altijd slechts ten dele geïnactiveerd, zodat men de componenten vóór de scheiding in slecht te adsorberen derivaten om moest zetten. Ondanks dit correctiemiddel bleken sommige componenten — men scheidde toen slechts aminozuren — toch nog sterk geadsorbeerd te worden en lange staarten aan hun banden te vertonen. Deze moeilijkheden veroorzaakten, dat men naar een andere drager ging zoeken. Papier bleek nu een drager te zijn, welke in hoge mate door de onbeweeglijke fase geïnactiveerd wordt. Het gebruik van papier als drager in de klassieke buisvormige apparatuur leverde dus het voordeel, dat men gemakkelijker dan voorheen de storende adsorptie van de componenten door het dragermateriaal kon vermijden. Helaas bracht het tevens twee nadelen met zich mede. Allereerst verviel de vermelde toepassing van een indicator, zodat de identificatie weer precies zo moeilijk werd als vóór de ontdekking van de verdelingschromatografie. Daarnaast werd het maken van een goed homogene kolom, hetgeen reeds lastig genoeg was, door de vezelige structuur van het gemalen papier nog moeilijker. Op het moment heeft men beide moeilijkheden wel enigszins ondervangen door in een vloeistofchromatogram te identificeren²⁾, ^{2a)}, ^{2b)} en door beter hanteerbare papierpreparaten te gebruiken (bijv. ³⁾. De daarbij vereiste verdeling van het effluent in vele fracties veroorzaakt ten minste evenveel analyses als er fracties zijn, terwijl de elutie zó lang duurt, dat men voor het opvangen van de fracties tamelijk ingewikkelde feilloos werkende automatische apparaturen nodig heeft. Daarom kan nog steeds gezegd worden, dat het van veel inzicht getuigende besluit om de klassieke apparatuur te verlaten en een nieuwe te ontwerpen, de inleiding

is geweest tot een onverwacht snelle groei van de bruikbaarheid van de chromatografische scheidingsmethode. Niet alleen werden de beide genoemde nadelen geëlimineerd, doch deze stap bracht een zodanige reeks van voordelen mede, dat de chromatografie van een bijzondere, doch zelden bruikbare analysemethode, groeide tot een zeer algemeen toepasbare werkwijze. In de biochemie werd „chromatografie” zelfs een gevleugeld woord. In een dergelijk geval is het niet te vermijden, dat zulk een werkwijze in de mode komt, hetgeen met zich meebrengt, dat dan wel eens vergeten wordt, dat slechts de papierchromatografie het wondermiddel voor vele problemen is. De rest van de chromatografie werd door de ondervonden aandacht wel verbeterd, doch bleef moeilijk, hetgeen evenals vroeger tot teleurstelling van hooggespannen verwachtingen leidt.

De groep van onderzoekers, die aan de wieg van de verdelingschromatografie gestaan hadden en waarvan de namen *Elsden*, *Consdon* en vooral *Martin* voorgoed met de werkwijze verbonden zullen blijven, gingen dus over naar een nieuwe apparatuur. De aanleiding hiervoor was het gebruik van de reeds vermelde papierrepen, welke men als geprefabriceerde kolommen kan beschouwen. De homogeniteit van deze kolommen was bij gebruik van een goed soort filtreerpapier verzekerd, terwijl de identificatie door de goede hanteerbaarheid eenvoudig werd. De essentiële voordelen van de werkwijze werden eerst geheel uitgebuit, toen *Martin* vellen filtreerpapier ging gebruiken en hiermee de grondslag legde voor de ontwikkeling van de z.g. tweedimensionale werkwijze.

Met deze veranderingen van de klassieke werkwijze was echter toch nog een nadeel binnengeslopen. De geringe hoeveelheden dragermateriaal welke nu gebruikt werden, lieten slechts de scheiding van geringe hoeveelheden van de componenten toe. De werkwijze is dan ook uitstekend geschikt voor kwalitatieve doeleinden, doch is voor kwantitatieve bepalingen veel minder bruikbaar. Daar de laatste toepassingsmogelijkheid geheel afhangt van de gevoeligheid van de beschikbare chemische en andere kwantitatieve bepalingsmethodes, terwijl de mogelijkheden van de werkwijze en de er mede verkregen scheidingen zo uitstekend waren, heeft men toch getracht om kwantitatieve doeleinden na te streven.

Gedeeltelijk is men daarin wel geslaagd, doch in vele gevallen was men gedwongen om weer naar de meer materiaal bevattende kolom terug te keren. Voor de preparatieve doeleinden was dit in elk geval nodig. Om nu niet naar de reeds vermelde lastige kolommen van papierpulp in een buisapparatuur terug te moeten gaan, heeft men die grotere kolommen uit papierschijfjes („chromatopile”) of uit vele opeen geperste papierrepen („chromatopack”) opgebouwd en hen in de nieuwe apparatuur opgesteld.

De nieuwe apparatuur bracht een nieuwe methode met zich mee en zo was het niet vreemd, dat men alle recepten van de verdelingschromatografie, waarbij men papier in de vormen van repen, vellen of schijven gebruikte, met een nieuwe naam nl. „papierchromatografie” ging omvatten.

Deze werkwijze bleek al spoedig buitengewoon bruikbaar te zijn. De recepten voor scheidingen van zeer uiteenlopende aard waren allen eenvoudig, ter-

wijl zij onderling weinig verschilden. Slechts een relatief beperkt arsenaal van oplosmiddelen was daarvoor nodig, zodat de empirie, die bij de rest van de chromatografische werkwijzen nog zulk een grote rol speelde, eenvoudiger en vooral rationeler, dus minder moeilijk werd. De groei van de papierchromatografie was daardoor stormachtig. Het gebied, dat door deze werkwijze bestreken wordt, is dan ook op het moment bijna niet meer te overzien, terwijl het zich nog steeds uitbreidt.

Methodiek.

Het algemene schema.

Men brengt een druppel van een oplossing van het te scheiden mengsel op het normaliter niet voorbehandelde papier en verwijdert het oplosmiddel door het te doen verdampen. Wanneer nodig, kan men vervolgens de ontstane mengselvlek op de een of andere wijze voorbehandelen. Daarna wordt het papier in een passend, hieronder te beschrijven apparaat ondergebracht en wordt dit apparaat hermetisch gesloten. In het apparaat zijn de beide chromatografische fasen aanwezig, terwijl de atmosfeer er in, verzadigd en in evenwicht is met die beide fasen. Normaliter moet nu het papier in dit apparaat de onbeweeglijke fase opnemen. Dit is de z.g. „accommodatie”. Al naar de aard van de beweeglijke fase – ook wel de loopvloeistof genaamd – vergt dit een meer of minder lange tijd. Nadat de accommodatie wordt geacht afgelopen te zijn, begint men met de elutie. Men brengt nu het papier op een plaats, niet ver van de mengselvlek gelegen, in contact met de loopvloeistof en laat deze door het papier opzuigen. Dit in contact brengen met de loopvloeistof kan nu nog op verschillende wijzen uitgevoerd worden.

Ten eerste kan men een rand in de vloeistof dopen, hetgeen impliceert, dat de mengselvlek zich in de nabijheid er van op het papier moet bevinden. Ten tweede kan men de vloeistof ergens midden op een vel aan het papier toevoeren.

Het indopen kan nu nog op twee wijzen geschieden. Men kan namelijk een apparaat gebruiken, waarin de cuvet met loopvloeistof laag, dus op de bodem geplaatst is, maar ook een, waarin deze cuvet hoog, dus bovenin het apparaat ondergebracht is.

In het eerste geval hangt men het papier aan het niet in te dopen einde zodanig op, dat de genoemde rand in de loopvloeistof hangt of men zet het papier, staande op de in te dopen rand, in de cuvet met loopvloeistof. Men gebruikt hier dan de z.g. stijgende methode⁵⁾.

In het tweede geval doopt men de genoemde rand in de loopvloeistof en laat men de rest van het papier over een extra ondersteuning omlaag hangen. Men gebruikt dan de z.g. dalende methode⁶⁾. Tenslotte kan men ook nog een horizontale methode toepassen, doch dit geschiedt zelden^{7) 7a)}.

De tweede wijze van in contact brengen van papier en loopvloeistof ontmoet men bij de z.g. „schijfchromatografie van *Brown*⁸⁾ ook wel circulaire papierchromatografie genaamd^{8a) 8b)}. Het papier wordt horizontaal opgesteld en de loopvloeistof in het midden er van toegevoerd, zodat deze zich centrifugaal in het papier uitbreidt.

Nadat de loopvloeistof het papier bijna geheel gevuld heeft, doch ook wel nadat deze gedurende

enige tijd van het papier is afgelekt, wordt de elutie beëindigd, het papier uit het apparaat verwijderd en snel gedroogd.

Het ontstane chromatogram moet nu meestal zichtbaar gemaakt worden. Dit kan met chemische, fysische, biologische of andere middelen van aantoning geschieden.

Een echte klassieke chromatografische methode is het verdelen van de kolom in kleine identieke stukken, elutie van deze partjes en reageren op de componenten in elk van de verkregen oplossingen. Op analoge wijze zou men dus het papier in kleine en gelijke stukjes kunnen knippen en verder op dezelfde wijze te werk kunnen gaan. Slechts wanneer geschikte reagentia ontbreken wordt dit gedaan. Men heeft hier immers een goed hanteerbare papierkolom, zodat men in staat is om de componenten op het papier in gekleurde derivaten om te zetten.

De nodige reagentia worden dan, opgelost in een snel verdampend oplosmiddel, over het papier verstoven. Is voor het aflopen van de reactie nog een verwarming of een andere behandeling nodig, dan kan meestal zonder enig bezwaar het gehele papier hieraan onderworpen worden.

Ook de niet chemische methodes van aantonen hebben tot doel het chromatogram op het papier zichtbaar te maken. Gaat dit niet, dan tracht men een of andere zichtbare *afdruk* van het gehele chromatogram te verkrijgen.

Het is duidelijk, dat de methodes van aantoning zich zullen richten op een gemeenschappelijke eigenschap van alle in het chromatogram aanwezige componenten. Is zulk een eigenschap niet aanwezig, dan zal men meer dan één reagens moeten toepassen, hetgeen wel niet altijd mogelijk zal zijn. Hoewel de recepten uit de praktijk laten zien, dat men zeer goed ongelijksoortige verbindingen met de papierchromatografie zou kunnen scheiden, gebeurt dit niet of slechts toevallig en past men de recepten aan bij de scheiding van groepen van homologe verbindingen. In principe heeft men dus alleen voldoende gevoelige methodes van aantonen nodig. Dat men in de praktijk specifieke groepsreagentia prefereert, vindt zijn oorzaak in de noodzaak om het aantal tevoorschijn komende vlekken te beperken. Men moet toch elke vlek afzonderlijk kunnen waarnemen en zijn plaats in het chromatogram kunnen bepalen, daar men daaraan de component herkent. Het heeft echter zin om er op te wijzen, dat het onderscheid tussen bijv. de papierchromatografische aminozuuranalyse en de dito purineanalyse niet reëel is. Men kan gemakkelijk een recept bedenken, waarmee men beide en nog veel meer soorten van verbindingen in één chromatogram scheidt. Helaas zal het dan echter meestal niet zo eenvoudig zijn om dit ene chromatogram aan al de vereiste bij elke groep behorende methodes van aantoning te onderwerpen.

De eigenlijke identificatie van de componenten geschiedt door bepaling van de plaats van de bijbehorende vlek. Elke component heeft zich namelijk tijdens de elutie over een voor zichzelf karakteristieke afstand van de plaats van de mengselvlek verplaatst. Dit wordt aangegeven door het quotient van de afstand, waarover de component zich verplaatst heeft en de afstand, waarover het front van de loopvloeistof zich verplaatst heeft. Dit quotient wordt de *Rf* genoemd en is kenmerkend voor de

component. Hij is slechts afhankelijk van apparaatconstanten en van de verdelingscoëfficiënt. Daar deze laatste onder bepaalde voorwaarden ¹⁾ slechts van de temperatuur afhangt, zal de *Rf* van een component bij constante temperatuur van de apparaatconstanten afhangen. Wenst men nu met behulp van waarden uit de literatuur een component te herkennen, dan zal dat door verschillen in de gebruikte apparaten dikwijls niet meevallen. Nu blijkt echter, dat de verhouding van de *Rf*'s van de componenten veel minder van deze apparaatconstanten afhangt. Heeft men dus in het chromatogram een verbinding, welke zich duidelijk van de anderen door een geïsoleerde plaats of een opvallende kleur onderscheidt, dan zal men meer nut hebben van de verhouding van de *Rf*'s van de andere componenten en de *Rf* van deze bijzondere component, die altijd teruggevonden kan worden. De waarden, die men op deze wijze verkrijgt, noemt men de *Rg*'s van de componenten. Tegenwoordig gebruikt men deze *Rg* steeds meer voor de identificatie.

De eendimensionale methodiek.

Men gebruikt hierbij een reep filtreerpapier en volgt het bovenstaande algemene schema van handelen.

Bij de stijgende werkwijze brengt men de mengselvlek zo dicht bij het in te dopen einde van de reep aan, dat deze vlek na het indopen even boven de loopvloeistof blijft. Bij de dalende werkwijze wordt de mengselvlek wat verder van de in te dopen rand aangebracht. De vlek moet namelijk in de richting van de elutie direct achter de vermelde ondersteuning van de reep vallen.

De meest frequent gebruikte afmetingen van de reep zijn: 2—3 cm breed en ongeveer 40 cm lang.

Gebruikt men het bijna altijd toepasbare filtreerpapier No. 1 van Whatman, dan veroorzaakt deze lengte een elutieduur, variërende tussen 15 en 30 uur bij de dalende methode en tussen 3 en 5 dagen bij de stijgende werkwijze. Deze tijdsduren zijn uiteraard grove schattingen, daar de elutieduur afhangt van de gebruikte loopvloeistof, het gebruikte papier, de temperatuur en de lengte van de reep. *n*-Butanol vertoonde de genoemde korte, lutidine de lange tijden bij een temperatuur van ongeveer 22 °C. Men ziet hier direct een van de twee belangrijke nadelen van de stijgende methode naar voren komen. Ondanks de dikwijls veel mooiere scheidingen, welke waarschijnlijk veroorzaakt worden door de geringe stroomsnelheid van de loopvloeistof, duurt de stijgende methode te lang. Men zou zelfs de dalende methode nog wel willen versnellen.

Reeds eerder werd er op gewezen, dat men veel tijd zou kunnen winnen door een kortere reep te gebruiken. De lengte van het uiteindelijk te verkrijgen chromatogram wordt daarmee echter ook weer kleiner, zodat elke vlek klein zal moeten zijn wanneer men deze vlekken gescheiden wil waarnemen. Dan komt daar nog bij, dat men de beste scheidingen verkrijgt, wanneer men loopvloeistoffen gebruikt, waarmee de *Rf*'s niet veel groter dan 0,5 worden. Tevens zegt een *Rf* van ongeveer nul al even weinig als een *Rf* van 1,0 en is er bovendien bijna altijd een vlek met een *Rf* van 0,0, omdat op de plaats van de mengselvlek een restje van het mengsel hardnekkig wordt vastgehouden. Men ziet

us, dat slechts de helft van de reeplengte voor het chromatogram beschikbaar is. Bij gebruik van een korte reep zal men dus slechts zeer kleine vlekken mogen toelaten. Dit impliceert, dat de mengselvlek nóg kleiner gehouden moet worden, daar de altijd optredende diffusie van de componenten tijdens de elutie, de grootte van de vlekken doet toenemen.

Dit alles brengt zodanige moeilijkheden met zich mede, dat men de korte reepen slechts voor eenvoudige mengsels kan gebruiken en in de verkregen chromatogrammen geen betrouwbare Rf- of Rg-waarden kan bepalen.

Om goede scheidingen te verkrijgen zal men dus lange reepen moeten benutten en men zal zich afvragen, waarom nog niet langere reepen dan de normaliter gebruikte, toegepast worden. Dit zou inderdaad voordeel opleveren, doch de elutie zou nog langer gaan duren, terwijl de apparatuur onhandelbaar groot zou worden. Men heeft echter een ander middel gevonden, waarmede men hetzelfde doel bereikt. Wanneer men namelijk de loopvloeistof, nadat deze de gehele reep gevuld heeft, van het papier laat afdruipeñ, zodat de elutie, als bij de langere reep, langer plaats heeft, dan kan men deze gang van zaken opvatten als een elutie op een reep met de gewenste doch nu imaginaire grotere lengte.

Om dit afdruipeñ te vergemakkelijken wordt dan aan de reep een punt geknipt. Desondanks krijgt men echter aan dat einde een teveel aan vloeistof, hetgeen storend werkt op dat deel van het chromatogram, hetwelk aan dat einde van de reep terecht komt. Een betere oplossing is dan ook het aanbrengeñ van een reep ontvette watten aan dat einde⁹). De gehele reep is, nu bruikbaar en men kan de elutie een willekeurig lange tijd voortzetten. Daardoor geraken ook de componenten met zeer kleine, onderling weinig verschillende Rf's ten slotte toch goed gescheiden.

Componenten met grote, zeer weinig verschillende Rf's worden echter op deze wijze niets beter gescheiden, want daarvoor zou men een reële reep van grotere lengte moeten gebruiken.

Het is duidelijk, dat men de bovenstaande variatie slechts bij de dalende methode kan toepassen en dit geeft dan tevens het tweede bezwaar van de stijgende methode aan. Deze variatie maakt namelijk dikwijls het gebruik van bijzondere oplosmiddelen overbodig, wanneer het normale arsenaal van oplosmiddelen bij een scheidingsprobleem te kleine Rf's levert. Het zoeken van andere oplosmiddelen is meestal tijdrovend, doch de langer durende elutie ook, zodat men bij elk nieuw scheidingsprobleem zal moeten vaststellen wat de voorkeur verdient.

Soms gebruikt men ook wel smallere reepen. In het algemeen zal men dan verstoring van de vorm van de vlekken kunnen ontmoeten, daar de stroomsnelheid van de loopvloeistof in de randen van de reep dikwijls anders is dan in het midden. Deze randeffecten ziet men vooral optreden, wanneer men de reepen niet met een scherp instrument geknipt heeft. Voor het knippen van het papier voor de papierchromatografie moet men dus een scherp knippend instrument gebruiken.

Ondanks de kans op randeffecten worden de smalle reepen wel gebruikt, wanneer men met een microbiologische methode identificeert. Men legt dan de reepen met het chromatogram op een voedingsbodem, waarin men een bepaald micro-organisme gesuspenderd heeft.

Wanneer de componenten de groei van het organisme remmen of wanneer ze de groei mogelijk maken, verkrijgt men na incubatie rondom de vlekken op de reep op de voedingsbodem respectievelijk heldere of troebele vlekken. De smalle reep bevordert de waarneming van deze vlekken, doch een bezwaar is, dat ze groter zijn dan die op de reep, zodat een goede scheiding zich als een slechte kan voordoen. Het maken van een afdruk van een normale reep verdient voor kwalitatieve doeleinden dan ook de voorkeur, daar het kortstondige contact met de voedingsbodem weinig stof doet overgaan, hetgeen weer een geringere diffusie tijdens de incubatie en uiteindelijk kleinere vlekken oplevert.

Ten slotte gebruikt men zeer frequent brede reepen, waarop men meer dan één mengselvlek aanbrengt. Elke vlek krijgt dan een breedte van 2—3 cm tot zijn beschikking. De voorkeur voor deze werkwijze houdt verband met de variabiliteit van de Rf's. Wanneer men toch enig idee van de aard van de componenten van het mengsel heeft en dit behoort zo te zijn, wanneer men de reep papier toe-past, dan chromatografeert men de in het mengsel verwachte verbindingen op afzonderlijke reepen in het zelfde apparaat tegelijk met het mengsel. Door vergelijking van de chromatogrammen kan men dan tenslotte zeer vlot identificeren. Daar het echter onverschillig is of de reepen losgeknipt zijn of nog aan elkaar zitten, is het laatste eenvoudiger.

De tweedimensionale methodiek.

Daar de Rf's van de verbindingen dikwijls te weinig van elkaar verschillen om een goede scheiding mogelijk te maken en men daardoor met een reep zeer zelden een volledige of ook maar een bevredigende onvolledige scheiding van een wat meer ingewikkeld mengsel kan bewerkstelligen, heeft *Martin* de tweedimensionale methodiek ontworpen⁶). Men gebruikt hierbij een zeer brede reep, namelijk een vel papier, waarvan de afmetingen normaliter ongeveer 45 bij 55 cm zijn. De mengselvlek wordt nu in een hoek van het vel op gelijke afstanden van de randen ervan aangebracht. Deze afstanden worden op dezelfde wijze als bij de eendimensionale methode door de aard van de apparatuur en het volgen van een dalende of stijgende werkwijze bepaald.

Men kan nu dit vel als een zeer brede reep beschouwen. Chromatografeert men nu met een loopvloeistof in de richting van een van de randen, die bij de genoemde hoek beginnen, dan verkrijgt men aan één kant van het vel een normaal eendimensionaal chromatogram. Men droogt zeer zorgvuldig om de loopvloeistof grondig te verwijderen, doch maakt het chromatogram nu meestal niet zichtbaar, daar dat de componenten als zodanig bijna altijd vernietigt.

Het chromatogram bestaat uit een aantal op één lijn liggende vlekken van zuivere verbindingen en van mengsels. Draait men vervolgens het vel over een hoek van 90°, dan kan men het wéér als een brede reep beschouwen. Op deze reep heeft men nu niet aan de bovenkant een aantal vlekken van zuivere verbindingen en mengsels op de voorheen beschreven wijze opgebracht, doch deze vlekken zijn daar aangebracht met behulp van het chromatografische proces, hetwelk op dit vel heeft plaats gehad. Chromatografeert men deze nu naast elkaar liggende

de vlekken vervolgens met een zorgvuldig gekozen loopvloeistof, welke ongelijk is aan de eerst gebruikte, dan ontstaan een aantal eendimensionale chromatogrammen naast elkaar. Het geheel vormt een diagram van vlekken, welke in een ideaal geval elk voor zich een zuivere verbinding bevatten.

Elke vlek heeft zich dus in twee loodrecht op elkaar staande richtingen verplaatst. Elke verplaatsing werd beheerst door een voor de desbetreffende component karakteristieke R_f . De uiteindelijke plaats van de vlek in het diagram is dus eveneens kenmerkend voor de bijbehorende component.

Het zal wel duidelijk zijn, dat bij goede keuze van de beide loopvloeistoffen weinig kans zal bestaan op over elkaar vallen van twee componenten. Men ontmoet in deze tweedimensionale chromatogrammen dan ook weinig gemengde vlekken.

Ook zullen de vlekken beter gescheiden kunnen zijn. Het tweedimensionale chromatogram levert dan ook meer gegevens dan twee eendimensionale chromatografische scheidingen met de beide gebruikte loopvloeistoffen op afzonderlijke repen. Het een en ander wordt geïllustreerd door figuur 1. Bij de een-

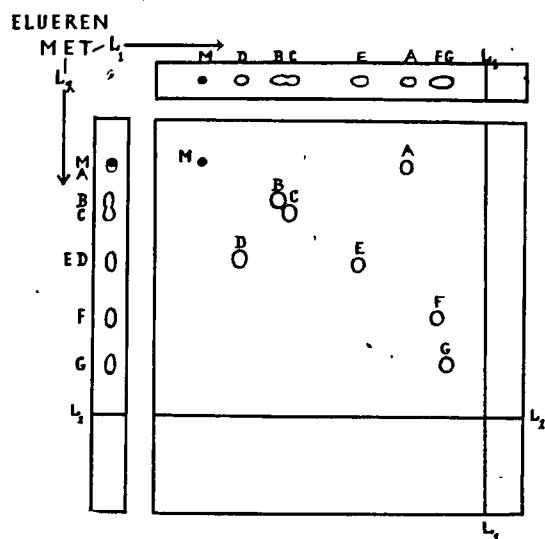


Fig. 1. Een schematische vergelijking van de resultaten van twee eendimensionale chromatografieën met de loopvloeistoffen L_1 en L_2 met het chromatogram van een tweedimensionale chromatografie met dezelfde loopvloeistoffen.

dimensionale chromatografie moeten de vlekken gescheiden worden door verdeling over een bepaalde lengte, bij de tweedimensionale is een oppervlakte en wel het kwadraat van die lengte beschikbaar. Over het algemeen kan de mengselvlek voor een tweedimensionaal chromatogram dus groter zijn, dus meer van het mengsel bevatten, dan die van een eendimensionaal chromatogram.

Tenslotte maakt men het verkregen chromatogram op de reeds vermelde wijze met een één of ander middel zichtbaar. Uit de plaats van een vlek moet men nu de aard van de desbetreffende component kunnen opmaken.

In principe past men ook hier weer twee methodes van identificatie toe: metingen van de R_f 's of de R_g 's en vergelijking met experimenten, waarbij men de zuivere verbindingen tegelijkertijd elk op een afzonderlijk vel in hetzelfde apparaat aan dezelfde chromatografie heeft onderworpen. Het laatste geval komt hier in deze vorm zelden voor. Het is ook

minder gemakkelijk uit te voeren, daar, afgezien van variaties in de beide R_f 's, de beide eluties op de verschillende vellen toch niet geheel gelijk zijn, zodat de plaats in dit ideale geval reeds niet constant is. Daarnaast wordt de apparatuur, waarin men een dergelijk groot aantal vellen moet onderbrengen onhandig groot. Men voert dit dan ook uit door de te verwachten zuivere verbinding aan het mengsel toe te voegen. Wordt een van de vlekken van het chromatogram dan groter en komt er geen nieuwe vlek bij, dan is de kans op gelijkheid van de zuivere verbinding en de component van de groter geworden vlek aanzienlijk ⁴⁾.

Ook chromatografeert men wel een mengsel van de verwachte zuivere verbindingen tegelijk met het onbekende mengsel in dezelfde apparatuur doch op een afzonderlijk vel. Kent men het resulterende chromatogram van het gemaakte mengsel, zodat men de componenten kan herkennen, dan is een vergelijking met het chromatogram van het onbekende mengsel mogelijk.

Omdat men in het laatste geval het chromatogram reeds moet kennen vormt deze werkwijze een overgang naar de metingen van de R_f 's of de R_g 's. Men meet namelijk de R_f 's van de vlekken van het onbekende chromatogram liever niet direct, doch zoekt van alle mogelijke verbindingen waarden uit de literatuur of waarden, welke zelf met eendimensionale chromatogrammen verkregen zijn, en zet deze waarden in een rechthoekig assenstelsel op doorzichtig papier uit. Elke plaats van elke verbinding kan op deze wijze op de zgn. vlekkenkaart van Dent ⁴⁾ aangegeven worden.

Ook hier moet men het gebruik van de R_g prefereren. Men kiest dus een goed herkenbare verbinding en geeft deze op de kaart een vaste plaats, welke zich gunstig bij de eigen experimenten aanpast en geeft nu de plaats van alle andere verbindingen met de R_g 's aan. Doordat de R_g 's nog altijd iets variëren zal elke verbinding binnen een bepaald gebiedje van de kaart vallen. Men kan dit of het middelpunt ervan op de kaart aangeven.

Voert men verschillende tweedimensionale chromatografieën na elkaar uit, dan zullen variaties in de duur van de eluties veroorzaken, dat een vlek in al deze experimenten niet op elk vel op dezelfde plaats terecht zal komen. De R_g 's veranderen echter niet. De consequentie is, dat al de verkregen chromatogrammen niet identiek, doch wel gelijkvormig van aanzicht zullen zijn. Het chromatogram gedraagt zich door al deze experimenten heen, alsof het op een vel rubber aangegeven was. Door een bepaalde rek (een vermenigvuldiging met een factor) in elk van de beide richtingen is elk chromatogram gelijk aan het andere of gelijk aan de vlekkenkaart te maken. Door de beide coördinaten van elke vlek op het filterpapier elk met een bepaalde factor te vermenigvuldigen verkrijgt men de plaats waarop op de kaart de verbinding met naam genoemd staat. De beide factoren verkrijgt men door vergelijking van de plaatsen van de goed herkenbare verbinding op het chromatogram en op de kaart. Om het gereken zo veel mogelijk te vermijden geeft men de vlekkenkaart gelijke afmetingen als de gebruikte vellen, zodat het diagram weinig van de verkregen chromatogrammen zal afwijken.

Slechts zelden zal men met één experiment kunnen volstaan. Men moet toch ten minste verschillende

hoeveelheden van het mengsel chromatograferen, wanneer men sporen van sommige componenten of componenten, welke met het gebruikte reagens slechts zwakke kleuren leveren, wil waarnemen. Wanneer nu al de verkregen chromatogrammen op de vlekkenkaart worden overgebracht, dan komt weer elke vlek in een gebiedje terecht. Vallen een gebiedje van een vlek en dat van een verbinding over elkaar, dan is er een grote kans, dat deze verbinding in die vlek aanwezig was.

Op deze wijze verkrijgt men na enige experimenten een idee van de mogelijke samenstelling. Een aan de hand hiervan gemaakt mengsel moet dan na chromatograferen het tot nu toe onbekende chromatogram leveren. Is er op sommige punten nog twijfel, dan grijpt men vervolgens naar het reeds vermelde middel van toevoegen van zuivere verbindingen aan het onbekende mengsel. Dat men dan zo mogelijk ook nog specifieke reagentia zal gebruiken is natuurlijk wel duidelijk.

Heeft men nu in het chromatogram nog vlekken, waarvan men weet dat zij mengselvlekken kunnen zijn — de vlekkenkaart heeft ook dit aangegeven — dan knipt men de desbetreffende vlek uit een niet zichtbaar gemaakt chromatogram. Men elueert dit stukje papier en analyseert de oplossing met een eendimensionaal chromatogram.

Tenslotte moet nog opgemerkt worden, dat men de vlekkenkaart slechts dan met behulp van eendimensionale gegevens mag construeren, wanneer de beide eluties van de tweedimensionale werkwijze geheel onafhankelijk zijn. Restjes van de eerstgebruikte loopvloeistof mogen de tweede elutie dus niet storen. Het heeft dus zin om de uiteindelijk verkregen kaart nog even met een enkel tweedimensionaal experiment te controleren.

Daarnaast moet opgemerkt worden, dat deze vlekkenkaart met de er op aangegeven experimenten een uitstekende documentatiemiddel is. Wanneer men het een en ander er duidelijk op aangeeft, is publicatie van dit beeld van de werkzaamheden verre te verkiezen boven de veelal niets zeggende foto's van de chromatogrammen.

Het is duidelijk dat de tweedimensionale chromatografie ook met kleine vellen uit te voeren is. De bij de eendimensionale werkwijze vermelde bezwaren van kleine repen gelden hier eveneens, zodat op de methodiek van deze micromethoden niet verder ingegaan zal worden.

De preparatieve methodiek.

Wenst men de een- en tweedimensionale scheidingen voor kwantitatieve bepalingen te gebruiken, dan past men over het algemeen dezelfde chromatografische methodiek toe, doch gebruikt voor de kwantitatieve bepaling van de verschillende componenten in het chromatogram passende kwantitatieve bepalingwijzen. De toelaatbare hoeveelheid van het te scheiden mengsel is in verband met de kleine hoeveelheid kolommateriaal slechts gering en bedraagt normaliter zelden meer dan 1 mg. Elke vlek van het chromatogram bevat dan ook slechts enige tot enige tientallen gamma's stof. Het laatste impliceert dat de gebruikte bepalingsmethodes zeer gevoelig zullen moeten zijn. Zijn deze methodes niet ter beschikking of wenst men meer stof in handen te krijgen, dan moet men een grotere kolom — dus

meer papier — gebruiken. Het eenvoudigste middel is het opeenpersen van vele repen papier („chromatopack”¹⁰). Men brengt dan op elke reep op de reeds beschreven wijze een hoeveelheid van het mengsel aan en perst vervolgens de repen op elkaar. Men elueert uiteraard volgens de stijgende werkwijze en gebruikt daarna één van de repen voor het opsporen van de componenten. Daarna krijgt men de verschillende componenten in handen door het pakket aan de hand van de verkregen gegevens in stukken te knippen en de desbetreffende delen met een passend oplosmiddel te extraheren.

Een veel elegantere werkwijze levert de kolom, welke is opgebouwd uit papierschijven („chromatopile”¹¹). Men drenkt nu een aantal schijfjes in de oplossing van het te scheiden mengsel en droogt hen. Dit pakje schijven wordt nu op de vermelde kolom gebracht. Hierna kan de elutie plaats hebben. Men kan daarbij de stijgende of de dalende werkwijze volgen.

Heeft men nu gezorgd, dat de loopvloeistof zich tijdens de elutie gelijkmatig over de kolom verdeelt en de vloeistofsnelheid overal even groot is, dan zal het volkomen rechte front, waarvan men uitgang, aanleiding geven tot het ontstaan van dergelijke rechte begrenzingen van elke band van elke component. Elke component zal tenslotte dus weer in een band in een pakket schijven terecht komen.

Men vindt nu deze pakketten op de kolom, door bijv. uit elk tiende schijfje een stukje te knippen en hierop op de bekende wijze op een component te reageren.

Bevat een dergelijk pakket meer dan één component en is het niet te dik geworden, dan kan men het direct weer op een nieuwe papierkolom brengen en de componenten met een ander elutiemiddel scheiden.

De gelijkmatigheid van de verdeling van de loopvloeistof over de kolom is bij deze methode essentieel. Deze wordt verwezenlijkt door de kolom op een passende wijze samen te persen en de loopvloeistof met behulp van extra-schijfjes filtreerpapier goed te verdelen, voordat de mengselband bereikt is.

Apparatuur.

I: Principes.

De principes van de papierchromatografische apparatuur zullen met die van de klassieke buisapparatuur overeenkomen, daar in beiden een normale verdelingschromatografie plaats moet kunnen hebben. De drager zal dus tijdens de elutie de onbeveeglijke fase moeten bevatten en in dit opzicht in evenwicht met de beide fasen moeten zijn. Tevens zal de samenstelling van de beide met elkaar in contact zijnde fasen, waarin de componenten aanwezig zijn, tijdens de elutie niet mogen veranderen.

Bij de papierchromatografie worden de papierreep, het papiervel, de papierschijf of -kolom door het apparaat niet nauw omsloten, zoals dat het geval is in de klassieke buisapparatuur. De vereiste evenwichtstoestand tussen het papier en de beide fasen kan dus slechts tot stand gebracht worden, wanneer men het papier in een atmosfeer brengt, welke verzadigd en in evenwicht is met de beide fasen. Dit evenwicht mag niet verstoord worden en de samenstelling van de fasen moet constant zijn, zodat het dus voor de hand ligt dat de ruimte, waarin de ge-

noemde atmosfeer aanwezig is, goed gesloten dient te zijn. Slechts wanneer de ruimte klein is en een voldoende grote toevoer van de beide fasen plaats heeft, zal de sluiting niet zo hermetisch behoeven te zijn.

Daar de samenstelling der fasen en dus ook het fasenevenwicht door veranderingen van de temperatuur beïnvloed worden, zal men de apparatuur het liefst in een kamer met een gelijkmatige temperatuur onderbrengen of de wanden van het apparaat goede isolerende eigenschappen geven. Het is duidelijk, dat ook temperatuurverschillen binnen de ruimte, waarin het papier is ondergebracht, een storende invloed zullen uitoefenen. Daarom zal men de apparatuur ver verwijderd van de ramen en de verwarming moeten plaatsen en het invallen van zonlicht moeten verhinderen.

Over het algemeen zijn de plaatselijk in het apparaat optredende temperatuurverschillen veel storender, dan veranderingen van de temperatuur van de gehele ruimte. Vooral wanneer de laatste langzaam en gelijkmatig optreden, zullen zij zelden als hinderlijk worden ondervonden.

Het een en ander maakt ook wel duidelijk, dat men de elutie zonder openen van het apparaat op de accommodatie moet kunnen laten volgen, zodat de accommodatie en de elutie in hetzelfde apparaat zullen moeten kunnen plaats hebben.

Uit het onderstaande volgt tevens, dat men het door beide fasen bevochtigde papier, wanneer men dit na de elutie uit het apparaat verwijderd heeft, snel moet drogen. Men verstoort toch het fasenevenwicht in het papier door het buiten het apparaat te brengen. Meestal is nog genóeg van de loopvloeistof op het papier aanwezig om het chromatografische proces enige tijd te doen doorgaan. Dit zal echter op een niet gewenste wijze plaats hebben, zodat snelle droging aan te bevelen is. Bovendien zal de altijd optredende niet gewenste diffusie ook doorgaan zolang de beide fasen op het papier zijn, waarnaast men nog moet opmerken dat het papier in deze vochtige toestand gemakkelijk te verontreinigen en kwetsbaar is. Een goede gelegenheid om het gebruikte papier snel te drogen is dan ook een onmisbare aanvulling van de papierchromatografische apparatuur.

II: Uitvoeringen.

Door de weinige en eenvoudige eisen, waaraan de apparatuur moet voldoen, zijn een groot aantal variaties er van beschreven en een nog groter aantal mogelijk. Zonder bezwaar kan een aanpassing aan allerlei behoeften worden verkregen en — wat bovendien zeer aangenaam is — men kan eenvoudige op elk laboratorium aanwezige materialen gebruiken voor de constructie van veel van de vereiste apparaten. In het algemeen vergt de papierchromatografie geen kostbare precisie-apparatuur. Deze aantrekkelijke eigenschap bezitten de meeste andere chromatografische werkwijzen eveneens, doch buiten het gebied van de chromatografie zal men zelden een dergelijke goedkope eenvoud bij een bijzondere analysemethode vinden.

Daar het zelfvervaardigen uitstekend uitvoerbaar is, wordt dan ook aanbevolen om de vereiste apparatuur zelf te maken. Met inachtneming van de essentiële voorwaarden kan een ieder deze appa-

tuur bovendien aan eventueel aanwezige speciale behoeften aanpassen. Het heeft dan ook in het geheel geen zin om bij deze beschouwing de vele variaties te beschrijven, zodat volstaan zal worden met de behandeling van een groep van algemeen bruikbare apparaten, waarmede men de papierchromatografie in een zeer uitgebreide zin kan uitvoeren. Hoewel deze apparaten aan de hand van veel literatuurgegevens werden ontworpen, wordt niet gepretendeerd, dat zij alle andere zouden overtreffen.

a) De eendimensionale apparatuur.

Figuur 2 geeft een idee van een apparaat, waarmede men een eendimensionale papierchromatografie kan uitvoeren. Het is een glazen pot, welke men met behulp van een rubber ring, een glazen deksel en een zwaar gewicht hermetisch kan afsluiten. In de pot bevindt zich een glazen statief, hetwelk een ronde glazen schaal, gevuld met loopvloeistof, draagt.

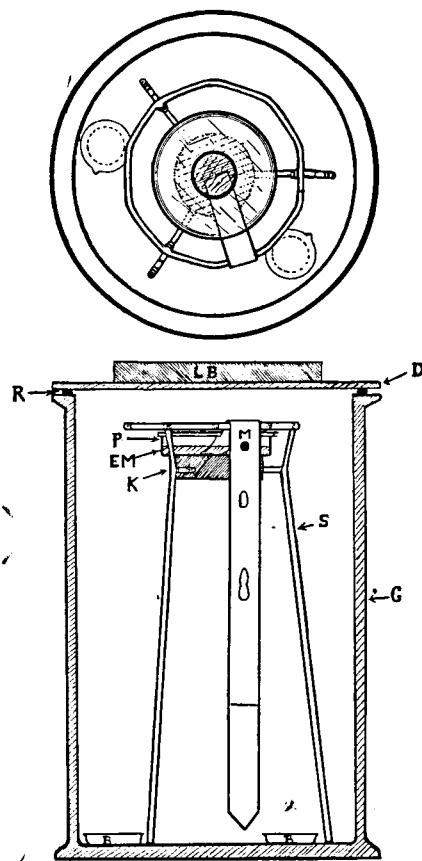


Fig. 2. Geopend boven- en vooraanzicht van het apparaat voor de eendimensionale dalende werkwijze. K is een aan het statief S bevestigde kurk, waarop de schaal P rust. M is de mengselvlek. Bij ongekleurde verbindingen is deze slechts moeilijk te zien.

De ronde vorm maakt het mogelijk om een dozijn papierrepen tegelijk in het apparaat te brengen. Deze repen worden dan straalsgewijs om het schaalteje gerangschikt, waarbij ze over een veelhoekige, aan het statief bevestigde glazen ring, omlaag hangen. De ring dient tot ondersteuning van de repen, hetgeen nodig is om contact tussen het papier en de buitenwand van het schaalteje — dus overhevelen van de loopvloeistof óver en niet dóór het papier — te verhinderen.

Een dergelijke steun mag zich niet op de weg van de zich verplaatsende vlekken bevinden, daar de goede vorm ervan verstoord zou worden. Men moet de mengselvlek dus zodanig op de reep aanbrengen, dat deze in de elutierichting achter de steun valt.

Een scheef en onregelmatig vloeistoffront kan eveneens de goede vorm van de vlekken bederven. Dergelijke fronten treden echter gemakkelijk op, wanneer men veel repen in het apparaat moet hangen. Om nu toch de gewenste rechte fronten te krijgen, wordt op de repen en op het schaalje een glazen plaat gelegd, welke in het midden van een gat voorzien is. Zodra de loopvloeistof de plaats op de reep bereikt heeft, waar het papier zich tussen het plaatje en de rand van het schaalje bevindt, dringt de vloeistof eerst tussen het glas en het papier, voordat ze zich verder in de elutierichting verplaatst. Dit betekent, dat van de genoemde plaats af het vloeistoffront praktisch recht is.

Bovendien verhindert het plaatje het omlaagvallen van de repen.

De grootte van de glazen pot wordt bepaald door de lengte van de reep, welke lengte normaliter 40 cm is, en door het aantal repen, welke er tegelijk ingebracht moeten worden. Is dat aantal — zoals hierboven — een dozijn, dan wordt de diameter van de pot ongeveer 30 cm.

De beide schaaltes op de bodem van de pot bevatten elk één van de gebruikte fasen en zorgen zo voor een evenwichtige verzadiging van de atmosfeer in het apparaat.

Gebruikt men loopvloeistoffen welke een langdurige accommodatie eisen, dan verwisselt men het vermelde deksel van de pot voor een, welke van een met een rubber stop afgesloten gat voorzien is. Men brengt de loopvloeistof dan eerst na volledige accommodatie door het gat in het apparaat.

Volledige accommodatie is natuurlijk ideaal, daar dan het papier zo inert mogelijk geworden is. Men krijgt dan vlekken, welke in vorm het minst van de mengselvlek zullen afwijken en zo veel mogelijk constante Rf.'s. De volledige accommodatie kan echter zeer veel tijd eisen. Over het algemeen hangt de accommodatieduur van de gebruikte loopvloeistof af. Zo eisen collidine en lutidine een veel langduriger accommodatie dan alcoholen als n-butanol. Bij de laatsten behoeft men zelfs slechts zelden aan enige accommodatie te denken, daar deze plaats heeft in de tijd, die de loopvloeistof nodig heeft om de mengselvlek op de reep te bereiken.

Veelal behoeft de accommodatie niet volledig plaats te hebben, omdat de dan resterende adsorptieve eigenschappen van het papier reeds te klein zijn om storende adsorptie van de componenten te veroorzaken. Het ligt voor de hand, dat men dus een bevredigende accommodatieduur proefondervindelijk moet vaststellen. Daar hier een bron van fouten aanwezig is en men dus beter te lang dan te kort kan accommoderen, wordt hier aanbevolen om het gebruikte papier te bewaren in een ruimte, waarin de atmosfeer gelijk is aan die van het chromatografische apparaat. Het door de accommodatie optredende tijdsverlies wordt hierdoor ook sterk gereduceerd.

Het is duidelijk, dat men in de bovenstaande apparatuur de dalende werkwijze volgt en dat de constructie van het apparaat relatief ingewikkeld is. Een

dergelijke ingewikkeldheid komt men echter bij de apparatuur van de stijgende werkwijze niet meer tegen. De eenvoud is dan ook zo groot, dat van het geven van een figuur afgezien werd. Men gebruikt namelijk de hierboven reeds beschreven pot, doch plaatst hierin op de bodem slechts één schaal, welke met de loopvloeistof gevuld wordt. Wanneer nodig, wordt een laagje van de onbeweeglijke fase om de schaal heen in de pot gegoten, zodat op deze wijze beide fasen aanwezig zijn. De repen worden nu op de een of andere wijze zodanig aan het deksel opgehangen, dat het in te dopen einde in de loopvloeistof hangt.

Figuur 3B geeft van deze stijgende methode een micro-uitvoering, waarbij de eenvoud en de snelheid ten top gevoerd zijn¹³⁾, doch een korte reep gebruikt wordt.

Tenslotte is er dan nog de apparatuur voor de horizontale werkwijze. Tot nu toe werd hier slechts zelden een reep gebruikt⁷⁾, ^{7a)}. Er lijken ook weinig redenen voor te zijn.

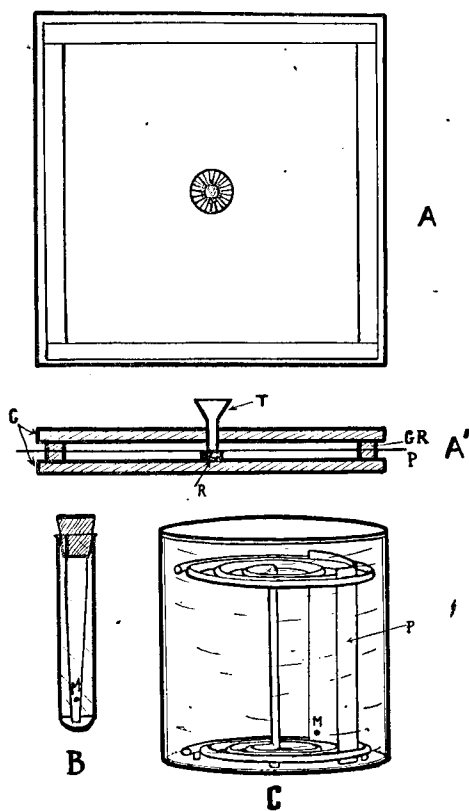


Fig. 3. Enige apparaten voor micromethodes.

A en A' geven resp. het bovenaanzicht en de verticale doorsnede van het apparaat voor de schijfchromatografie. B geeft het apparaat voor de eendimensionale uitvoering van de stijgende werkwijze met een reep van 13 cm. C geeft het apparaat voor de tweedimensionale uitvoering van de stijgende methode met een vel van 13 × 13 cm.

De toepassing van schijven papier, dus van de schijfchromatografie, levert wel een aantrekkelijke methode. Daar de diameter van de gebruikte schijven zelden groter dan 30 cm kan zijn, zal het vloeistoffront zich slechts over een 10—15 cm verplaatsen, zodat men hier met een korte reep, dus met een micromethode te doen heeft. Door de centrifugale verspreiding van vloeistof en componenten in het papier behoeft men hier niet de vermelde kleine vlekken en kleine hoeveelheden stof, inhaerent aan de micro-

methodes, te gebruiken. Verder gelden alle genoemde bezwaren en voordelen van de micro-werkwijze.

Figuur 3A geeft een mogelijk apparaat. De figuur spreekt voor zich zelf, zodat volstaan wordt met er op te wijzen, dat de vloeistofsnelheid wordt geregeld door de druk van het trechttertje op het papier. De loopvloeistof wordt in het trechttertje gegoten. Daar het apparaat niet geheel gesloten is, zodat het accommodatie-evenwicht niet bereikt wordt, is een bespuiting van het papier met de onbeweeglijke fase direct voor het begin van de elutie aan te bevelen.

Men kan de loopvloeistof ook met behulp van een rolletje of kegeltje filtreerpapier aan het vel papier toevoeren. Het staat dan in de loopvloeistof, terwijl het vel papier er op steunt. Het geheel kan in een exsiccator ondergebracht worden, wanneer men de porseleinen plaat verwijderd en het papier in diens plaats legt. De loopvloeistof komt dan onder in de pot. De eenvoud van dit apparaat is wel zeer groot, doch het is wat minder snel dan het voorgaande.

Deze werkwijze levert eerst aantrekkelijke resultaten, wanneer vlekken van het te scheiden mengsel en de erin verwachte zuivere verbindingen in een cirkel om de plaats van aanvoeren van de loopvloeistof worden aangebracht. Verkreeg men bij aanbrengen van de mengselvlek op de genoemde plaats een chromatogram van concentrische ringen, nu krijgt men een aantal sectoren van schijfchromatogrammen op één vel papier. Vergelijking van deze sectoren kan dus betrouwbare resultaten leveren.

b) De tweedimensionale apparatuur.

Hier ontmoet men slechts de dalende en de stijgende werkwijze. Figuur 4 geeft het apparaat, behorende bij de eerste methode. Het werd grotendeels volgens *Dent*⁴⁾ geconstrueerd. De langwerpige vorm er van wordt veroorzaakt door het werken met vellen papier. Deze eisen voor het indopen nu eenmaal een langwerpige cuvet. De afmetingen van de bak en de cuvet zijn respectievelijk: 80 × 80 × 30 cm en 60 cm bij 40 mm diameter. De afmetingen zijn ruim gekozen, doch dit vergemakkelijkt het hanteren van de vellen papier ten zeerste.

Het materiaal van de bak is meubelplaat. Dit bleek een zeer bruikbaar materiaal te zijn. De apparatuur werd hierdoor stevig en weinig kostbaar. De vernielende invloed van de loopvloeistoffen op het hout werd tegengegaan door alle houten oppervlakten in de bak met een dikke laag paraffine te bedekken. Helaas bleken de loopvloeistoffen niet uit het apparaat te verwijderen te zijn, zodat men voor elke gebruikte loopvloeistof een bak moest aanhouden. Daar het werkschema toch reeds een tweetal bakken vereist en men met een drietal loopvloeistoffen zeer veel kan bereiken, brengt dit echter toch minder kosten met zich mede, dan het toepassen van een goed te reinigen en corrosievrij materiaal met gelijke isolerende eigenschappen.

De cuvet werd uit een aan beide zijden dichtgesmolten pyrexhuis gemaakt, door deze overlans met een gesteentezaag open te zagen. De cuvet wordt ondersteund door een houten goot met zijwangen, waarin de cuvet met paraffine bevestigd wordt. De vellen worden met hun rand tussen de staven van de glazen klem vastgeklemd. Deze klem

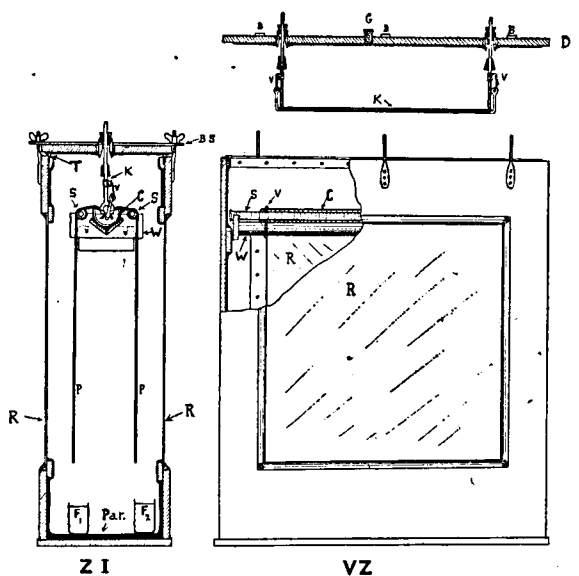


Fig. 4. Een verticale doorsnede en een gedeeltelijk geopend vooraanzicht van de tweedimensionale dalende apparatuur. K is een klem, welke met behulp van veertjes v klemt. W is een houten goot met zijwangen, waarin de cuvet C op een laag paraffine en bevestigd met veertjes v, ligt. S zijn glazen buizen, welke het papier P ondersteunen. T is tochtband en R zijn ruiten.

kan in twee standen, waarbij de bak steeds volledig gesloten is, gefixeerd worden. In de hoogste stand raakt het papier de vloeistof in de cuvet nog juist niet, zodat dan de accommodatie plaats kan hebben. In de laagste stand verloopt de elutie.

Het inbrengen van de vellen in en het uitnemen ervan uit het apparaat geschiedt, terwijl de vellen geklemd in de klem aan het deksel hangen.

De apparatuur voor de stijgende tweedimensionale werkwijze geeft figuur 5. Dit apparaat werd volgens *Williams & Kirby*⁵⁾ ontworpen. De figuur spreekt grotendeels voor zich zelf, zodat slechts vermeld wordt, dat het uit een grote rioolbuis gemaakt werd. De hoogte ervan is ongeveer een meter, terwijl de diameter een dertigtal centimeters bedraagt.

Bij deze werkwijze wordt nu gebruik gemaakt van het feit, dat een tot een cylinder omgevormd vel zonder enige steun in het apparaat kan staan. De papiermanchet wordt gefixeerd met een drietal glazen paperclips.

Een tweetal vellen kan tegelijk in het apparaat gezet worden. Dit aantal kan toenemen, wanneer men de vellen met een tweetal spiralen ondersteunt¹⁴⁾.

Het laatste principe vindt men toegepast in de micro-uitvoering, waarvan figuur 3C een beeld geeft. De voor- en nadelen hiervan zijn die van alle micro-methodes, zodat naar de desbetreffende passages verwezen wordt.

c) De apparatuur voor de preparatieve methodiek.

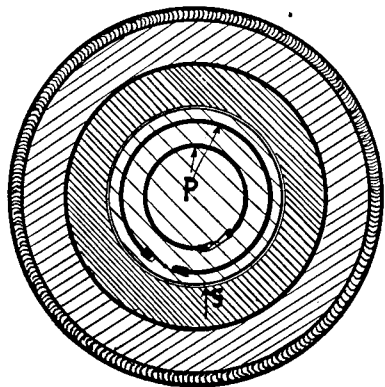
Over de „chromatopack”¹⁰⁾ is reeds iets gezegd. Er kan dus volstaan worden met de mededeling, dat het pak papierrepen met een eenvoudige metalen constructie samengeperst wordt en het geheel in het apparaat voor de stijgende eendimensionale papierchromatografie ondergebracht wordt.

De „chromatopile” werd het eerst door *Mitchell* en *Haskins*¹¹⁾ toegepast. Zij persten de stapel filtreerpapierjes met een metalen constructie samen.

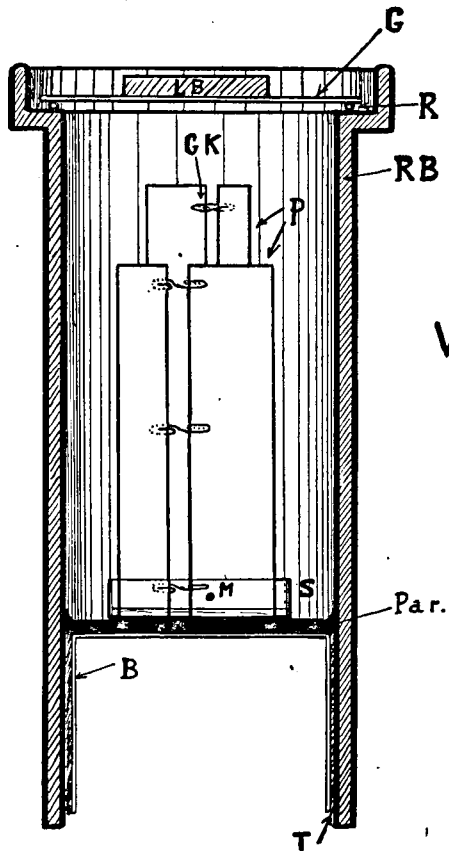
Dat dit onnodig is, blijkt wel uit de toepassing er van door *Strehler en McElroy* 17), die de stijgende werkwijze toepasten en de stapel, samengedrukt door een gewicht, in een gesloten pot opstelden. De loopvloeistof was op de bodem van de pot aanwezig.

Figuur 6 geeft een idee van het apparaat van de dalende werkwijze. Dit werd gebruikt bij een onderzoek door het Kunststoffen Instituut T.N.O., welk onderzoek binnenkort gepubliceerd zal worden.

Bij toepassing van zeer vluchtige loopvloeistoffen zijn de beschreven apparaten minder bruikbaar. Opstelling in kamers met constante temperatuur en aanbrengen van in de fasen gedrenkte vellen filtreerpapier tegen de binnenwanden van de apparaten geeft wel verbetering, doch in extreme gevallen zal men bijzondere maatregelen, zoals het rondpompen van de fasen, moeten nemen 12) 12a) 86).



BA



VD

Fig. 5. Geopend voor- en bovenaanzicht van de stijgende tweedimensionale apparatuur. De bodem is gemaakt door een blikken bus B met mastiek in de buis RB te kitten en de bovenzijde met een laag paraffine te bedekken.

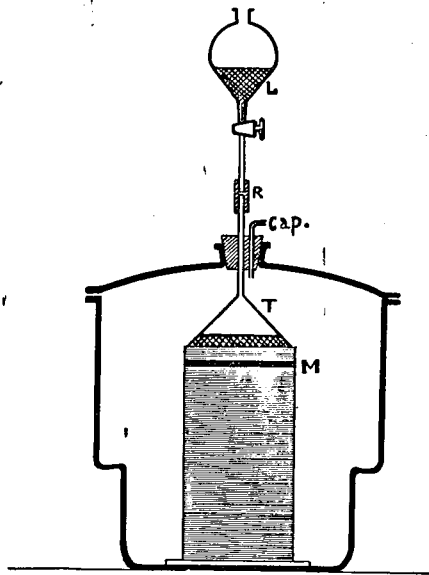


Fig. 6. Een apparaat voor de preparatieve dalende werkwijze met de „chromatopile”. L is de loopvloeistof. M is het pakket filtreerpapier met het mengsel er op.

d) *Het drogen van het papier en de identificatie.*

Hieraan wordt meestal slechts weinig aandacht geschonken, daar de papierchromatografie zelf in dit opzicht zelden bijzondere eisen stelt. Moet men echter grote hoeveelheden papier drogen en zijn de loopvloeistoffen niet zeer vluchtig, dan zal een normale zuurkast al gauw niet meer voldoen bij de verwijdering van de ontstane dampen, terwijl het proces ook bij gebruik van een haardroger te langzaam gaat.

Een goede oplossing levert het gebruik van een goed sluitende kast van voldoende grootte, waar men verwarmde lucht doorheen zuigt. Een automatische handhaving van de gewenste temperatuur zal in verband met de eventuele gevoeligheid van sommige componenten voor hoge temperatuur noodzakelijk zijn. Dit is vooral het geval, wanneer de verwarming zeer lang moet duren om de laatste sporen van de gebruikte loopvloeistof te verwijderen.

Een goede reiniging van de droogruimte moet mogelijk zijn, daar achtergebleven resten van loopvloeistoffen van vorige scheidingen het zichtbaar maken van het chromatogram kunnen storen, vooral wanneer dit met fysische of biologische methodes geschiedt. De uit de droogruimte afgezogen dampen moet men ten minste in de buitenlucht spuien. Wanneer men namelijk bedenkt, dat elk vel filtreerpapier tot 50 ml loopvloeistof kan bevatten, dat deze

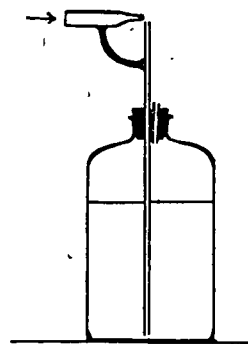


Fig. 7. Een eenvoudige verstuiwer van opgeloste reagentia.

veelal agressieve en stinkende verbindingen zich o.a. hardnekkig aan de kleding hechten en dat voor de schadelijke invloed op de gezondheid gewaar-schuwd wordt^{15), 16)}, dan is het duidelijk dat men de dampen inderdaad niet in de atmosfeer van het laboratorium mag toelaten.

Het aanbrengen op het papier van de reagentia, waarmee men de componenten in gekleurde verbindingen omzet, geschiedt normaliter door het papier met een oplossing van deze reagentia in n-butanol te bespuiten met behulp van een verstuiver. Een eenvoudige verstuiver, zoals figuur 7 aangeeft, levert reeds uitstekende diensten.

De bij het bespuiten ontwikkelde dampen moeten uiteraard eveneens weggezogen worden, terwijl het papier daarna in de vermelde droogkast gedroogd wordt. De voor het aflopen van de identificatie-reactie vereiste verwarming van het papier kan dan in hetzelfde apparaat plaats vinden.

Voor een beschrijving van de apparatuur, welke bij gebruik van fysische en biologische methodes vereist is, wordt naar de litteratuur verwezen^{67), 68), 86), 91)}, daar deze methodes toch relatief zelden worden toegepast.

(Wordt vervolgd.)

Personalia

Aan de Rijksuniversiteit te Groningen is bevorderd tot doctor in de wis- en natuurkunde op proefschrift „Alkaloïdenvorming en beïnvloeding van de nicotineproductie bij *Nicotiana rustica* L”, de heer R. Hofstra, apotheker te Meppel.

* * *

Aan de Rijksuniversiteit te Leiden is bevorderd tot doctor in de wis- en natuurkunde op proefschrift „Bijdrage tot de kennis van *Xylopa discreta*”, de heer E. N. Parabirsing, apotheker.

* * *

Aan de Universiteit te Leiden zijn geslaagd voor het doctoraal-examen wis- en natuurkunde, hoofdvak pharmacie, mejuffrouw E. de Zoeten en de heer A. van der Kuy.

* * *

Aan de Universiteit te Amsterdam is geslaagd voor het doctoraal-examen wis- en natuurkunde, hoofdvak scheikunde, de heer A. E. de Vries.

* * *

Aan de Universiteit te Utrecht zijn bevorderd tot apotheker de dames C. van den Berg, A. E. Oerlemans, G. J. M. Sturm en A. C. Yff en de heer A. W. M. J. Tendijck

* * *

Aan de Universiteit te Utrecht zijn geslaagd voor het doctoraal-examen wis- en natuurkunde, hoofdvak scheikunde, de heren P. W. C. M. van den Dungen, F. Jellinek, H. P. de Jongh, J. W. Keuskamp, C. F. G. Lehr, H. G. Peer en E. M. Theissing; idem voor het candidaatsexamen wis- en natuurkunde letter f, de heren G. H. M. Keller en L. C. Willemse; idem, letter g, de heer A. M. van de Ven.

* * *

Aan de Vrije Universiteit te Amsterdam zijn geslaagd voor het doctoraal-examen wis- en natuurkunde hoofdvak scheikunde, de heren L. Minnema en O. P. van der Werff; idem is geslaagd voor het candidaatsexamen wis- en natuurkunde, letter f, de heer P. J. Zandstra.

* * *

Dr. P. Schoenmaker, directeur van het C.I.V.I., Nederlands vertegenwoordiger voor militaire productie bij de NATO en buitengewoon lid van de Materieelraad van Oorlog en van Marine, is per 1 Januari 1953 benoemd tot directeur van de N.V. Machinefabriek „Artillerie Inrichtingen” Hembrug-Zaandam.

Verenigingonieuws

Mededelingen van het Secretariaat

(’s-Gravenhage, Lange Voorhout 5, tel. 110744, postrekening 7680).

Het Algemeen Bestuur is van 1 Januari af als volgt samengesteld:

- *Prof. Dr. J. H. de Boer, Kerensheide, voorzitter.
- *Prof. Dr. J. Kok, Amsterdam, ondervoorzitter.
- *Dr. T. van der Linden, Voorburg, secretaris.
- Dr. W. Meijer, ’s-Gravenhage, penningmeester.
- Dr. H. Gerding, Parijs.
- Dr. J. Hoekstra, Utrecht.

Dr. H. J. van Opstall, ’s-Gravenhage.
Ir. P. Schut, Amersfoort.
Ir. H. W. Slotboom, Naarden.

Nieuwe leden.

De in het Chemisch Weekblad van 1 November 1952 onder 1 t/m38 genoemde candidaat-leden zijn thans aangenomen als gewone of buitengewone leden van de Nederlandse Chemische Vereniging.

Candidaat-leden.

- 161: Haan (W. de), chem. stud., Groningen, Brink 4 A; voorgesteld door Prof. Dr. J. J. Hermans en Drs. H. J. L. Trap, beiden te Groningen.
- 162: Meurs (H. C. A. van), cand. scheik. ing., Schiedam, van Beverenstraat 1; voorgesteld door Ir. H. Talsma te Delft en Ir. G. E. ten Bokkel Huinink te ’s-Gravenhage.
- 163: Molier (Ir. G.), Eindhoven, Jonckbloetlaan 13; chemicus bij van Dissel en Zonen te Eindhoven; voorgesteld door Ir. D. A. Pijselman en Ir. S. Lont, beiden te Aalst.
- 164: Rang (H. J.), chem. cand., Amsterdam-Z., Rijnstraat 191 I; voorgesteld door D. J. Kooy en Drs. H. Houtgraaf, beiden te Amsterdam.
- 165: Das (H.), chem. stud., ’s-Gravenhage, Thorbeckelaan 176;
- 166: Hilgersom (A. J. C.), chem. stud., Leiden, Cobetstraat 50;
- 167: Pot (J.), chem. stud., Leiden, de Sitterlaan 77;
- 168: Vries (A. de), chem. cand., Zeist, C. Schellingerlaan 2; allen voorgesteld door Prof. Dr. C. J. F. Böttcher en Drs. F. C. de Vos, beiden te Leiden.

Voorgesteld als buitengewoon-geassocieerde leden:

- 169: Matzner (M.), ét. chim., Anvers, 16 rue Dragon.
- 170: Nazielsky (J.), ét. chim., Anvers, 98 rue du Verger, student-leden van de Société Chimique de Belgique.

Adreswijzigingen, enz. aan te brengen in de ledenlijst 1952.

- Blz. 57: Grever (Ir. A. B. G.), Rijswijk (Z.H.), Thierenskade 19.
- „ 67: Houtman (Prof. Ir. J. P. W.), Bandoeng, Java, Djalan Dago 110 B.
- „ 101: Prakke (Dr. Ir. F.), Emmen, Angelsloërdijk 100.
- „ 114: Steffelaar (Ir. J.), ’s-Gravenhage, Veenendaalsekade 216.

Chemische Kringen

Chemische Kring Breda. Vergadering op Vrijdag 9 Januari 1953 in Hotel „Het Wapen van Nassau”, Prinsenkade 7, aanvang 20.00 uur.

Dr. Joh. Booy (zenuwarts) zal spreken over *De invloed van chemische stoffen op de menselijke geest.*

* * *

Gooise Chemische Kring. Op 15 Januari 1953, ’s avonds om 8 uur, zal Prof. Dr. H. R. Kruyt (’s-Gravenhage) in „Het Hof van Holland, Kerkbrink te Hilversum, een voordracht houden over „*De organisatie van wetenschap in binnen- en buitenland*”.

* * *

Haagse Chemische Kring. Vergadering op Dinsdag 13 Januari 1953 om 20 uur in Diligentia, Lange Voorhout 5.

Ir. J. Verheus, scheikundige bij het Koninklijke/Shell-laboratorium te Amsterdam zal spreken over: *Toepassing van katalytische procédé’s bij de fabricage van motorbrandstoffen.*

De lezing zal om 19.45 worden voorafgegaan door een Huishoudelijke Vergadering.

Agenda: 1. Opening. 2. Jaarverslag secretaris. 3. Jaarverslag penningmeester. 4. Verslag kascontrolecommissie. 5. Mededeling van het bestuur. 6. Rondvraag en sluiting.

Nijmeegse Chemische Kring. Op 26 November j.l. heeft Prof. Ir. J. G. Hoogland voor de kring gesproken over „Bereiding van magnesium”. Voor bijzonderheden van het behandelde moge verwezen worden naar het Chemisch Weekblad van 20 December 1952, blz. 995. De met belangstelling gevolgde voordracht werd met een geanimeerde discussie besloten.

16 December 1952 sprak Dr. R. J. F. Nivard over „Chemie van groeistoffen”.

Wat men onder groeistoffen moet verstaan, hoe de eigenschap, bevordering van de groei, getest wordt en hoe men een en ander chemisch zou kunnen verklaren, passeerde de revue; door de spreker gedemonstreerde molecuulmodellen waren ten deze zeer verhelderend. Ondanks het zeer slechte weer op deze avond was de opkomst bevredigend.

Op 6 Januari 1953 zal Ir. E. Sweep in de bovenzaal van Restaurant Normandi een voordracht houden over „De betekenis van chemical-engineering studies voor proces-ontwikkeling”. Door bemiddeling van Dr. Ir. Hoog — die zelf in Januari a.s. buitenlands vertoef — werd Ir. Sweep tot het houden van deze voordracht bereid gevonden.

Introductie gaarne toegestaan.

Mededelingen van verwante verenigingen

Nederlandse Natuurkundige Vereniging.

Het Bureau van de Nederlandse Natuurkundige Vereniging wordt met ingang van 1 Januari 1953 overgeplaatst naar Utrechtseweg 210, Arnhem, Telefoon K 8300/21441.

Dr. K. J. Keller treedt van die datum af op als Bureaucommissaris.

Aan het Bureau richt men:

Aanmeldingen en bedanken voor lidmaatschap, begunstigerschap of abonnement;

Adreswijzigingen;

Betalingen van lidmaatschappen, begunstigers en gereduceerde abonnementen op Ned. T. v. N. en Physica.

De Penningmeester,
W. J. Beekman.

Nederlandse Astronomenclub.

Vergadering op Zaterdag 3 Januari 1953
in de Sterrewacht te Utrecht.

- 10 u. 30 m. Interacademiaal Sterrekundig Colloquium.
Prof. Dr. H. Zanstra: Condensaties in gasniveaus en in het interstellair gas.
- 12 u. 30 m. Gemeenschappelijke koffiemaaltijd; er zal koffie worden geschonken.
- 14 u. 0 m. Huishoudelijke vergadering van de Astronomenclub.
Opening — Notulen — Verkiezing derde bestuurslid — Jaarverslag van de penningmeester — Verkiezing nieuwe leden — Verslag Kascommissie — Rondvraag.
- ± 14 u. 45 m. Voordracht van Dr. A. Blaauw over „Ster-associaties”.

Mededelingen van verschillende aard

Internationale Technische Hulp.

Het bureau voor Internationale Technische Hulp, Alexanderstraat 14, 's-Gravenhage, vermeldt in zijn maandelijks publicatie van 10 December 1952, no. 20 o.a. de volgende aanvragen voor beschikbaarstelling van deskundigen.

- No. 1280. A.S.L.O. Research Officer (Mycologist). Australië.
No. 1281. S.Afr. O.S.I.R. Research Officer in the Biophysics Section. Zuid-Afrika.
No. 1296. A.S.L.O. Senior Organic Chemist (Div. of Biochemistry & General Nutrition). Australië.

Vraag en Aanbod

Plaatsing geschiedt alleen voor leden der Nederl. Chem. Vereniging.

Correspondentie wordt over deze rubriek niet gevoerd: de Redactie, Lange Voorhout 5, 's-Gravenhage, zendt alleen brieven door, waarvoor men porto insluit.

Ter overneming gevraagd:

Fieser-Fieser, Organic chemistry.
Hammett, Physical organic chemistry.

Ter overneming aangeboden:

- Lockwood, La meunerie.
Schulz, Milch als Nahrungsmittel (Man. Lactis) 1948.
Henrich, Les théories de la chimie organique.
A. H. Wilson, Semi-conductors and metals 1939.
Kolloid-Zeitschrift, 53 (1930).
J. Chemical Physics I (1953).
A. Electrochimie, 51 (1947) en 53 (1949).
H. S. van Klooster, Lecture and Laboratory experiments in phys. chemistry, sec. ed. 274 pp., 91 fig., geb.
J. Knox, Physico-chemical calculations, 188 pp., geb.
H. J. E. Beth, Inl. t.d. diff.- en integraalrekening, tweede druk, 1942, 408 pp.
F. W. Aston, Mass-spectra and isotopes, 1933, 248 pp., geb.
J. J. Thomson, Rays of positive electricity and their application to chemical analysis, sec. ed. 237 pp., geb.
F. Fritz, Leuchtfarben. Geschichte, Herstellung, Eigenschaften, Anwendung, 1940, 228 pp., geb.
A. J. Rutgers, Phys. scheikunde, 1939, 588 pp.
B. Bräuer, Aufgaben aus der Chemie u. d. physikal. Chem. nebst Auflösungen, 69 pp., geb.
J. Fages y Virgili, Die indirekten Methoden der analyt. Chem. 70 pp.
H. Kremann, Anwendung der thermischen Analyse z. Nachweiss chem. Verb., 76 pp.
R. Kremann, Die periodischen Erscheinungen i. d. Chemie, 28 pp.
J. J. van Laar, Lehrb. d. theor. Elektrochemie auf thermodyn. Grundlage, 307 pp.
M. Le Blanc, Lehrb. d. Elektrochemie. 9. u. 10. Aufl. 370 pp., geb.
K. Jellinek, Physik. Chem. d. homog. u. heterog. Gasreaktionen unter Berücksichtigung d. Strahlungs- u. Quantenlehre, sowie d. Nernstschen Theorema, 844 pp., 221 Abb., 104 Tabellen, geb.
H. Maché u. E. v. Schweidler, Die atmosph. Elektrizität, 247 pp., geb.
Chimie & Industrie 17 (1927 tot heden (lopend abonnement)).
Chem. Weekblad 38 (1941)—47 (1951) (1941—1945 geb.).
Ann. Rev. Biochemistry 6 (1937)—9 (1940).
Hk. de Vries, Beknopte differentiaal en integraalrekening 1929.
A. Findlay, The phase rule and its applications 1931.
W. Hückel, Theor. Grundl. d. org. Chemie I, 6de druk 1949.
A. J. Mee, Physical Chem., 3de druk 1947.
F. Feigl, Specific and special reactions, 1940.
J. G. Rutgers, Beknopte analytische meetkunde 1942.
J. Am. Chem. Soc. 1924 t/m 1927 geb. 1928 t/m 1930 ongebr.
Rec. trav. chim. 1928 t/m 1932 ongebr. + enige losse nummers 1944, 1945, 1946.
Z. physik. Chem. 143 A; 5 B en 6 B (ongeb.).
Chem. Abstr. 1924 t/m 1928 geb. (iedere jrg. in 3 delen). 1929 en 1930 geb. elk in 4 delen.
Chem. Zentr. 1903 t/m 1921 geb.

De opgaaf van het aangeboden en gevraagde wordt tweemaal geplaatst. Wenst men daarna nog plaatsing, dan is daarvoor een nieuwe opgaaf nodig. Men wordt dringend verzocht dadelijk kennis te geven, indien de plaatsing niet meer nodig is.

Aangeboden betrekkingen

Zie de advertenties in no. 52 (1952).

De Algemene Technische Afdeling T.N.O., Koningskade 5 te 's-Gravenhage vraagt Dr. of Drs. in de chemie en scheikundig ingenieur.

N.V. De Bataafsche Petroleum Maatschappij, 's-Gravenhage vraagt scheikundige en Natuurkundige ingeniërs resp. doctores/doctorandi Chemie/Physica.

Gevraagde betrekkingen

- 522: Scheikundig ingenieur, diploma-1927, met jarenlange industriële ervaring als kolloïdchemicus, bekend met analytische chemie en verfstoffen, goede talenkennis, zoekt verbetering van positie.
- 769: Scheikundig ingenieur, diploma Delft 1932, zoekt werk als adviseur. Genegen op elk terrein werkzaam te zijn.
- 818: Dr. in de chemie, 8 jaar ervaring in voedingsmiddelen-analyse en literatuurstudie, zoekt bijverdienste voor de avonden.
- 821: Chem. Dra., hoofdvak organische chemie, bijvakken microbiologie en physiologische chemie, met 3 jaar ervaring in literatuurstudie en research, goede talenkennis, wonend in Amsterdam, zoekt thuiswerk eventueel ook op ander gebied.
- 828: Chem. Drs., physico-chemicus, promotie voorbereidend, met onderwijservaring, (bevoegdheden natuurk., mechanica) zou gaarne enige avonden en eventueel een aantal uren overdag productief maken (Amsterdam of omgeving).
- 845: Scheikundig ingenieur, researchervaring water- en bodem-onderzoek, visserij-technologie, conservering e.d., met tropenervaring, zoekt werkzaamheden.
- 849: Dr. in de scheikunde, in het Zuiden van het land, wenst zijn vrije tijd (enige middagen en avonden en vacaties) productief te maken.
- 857: Chem. Drs. (phys. chem. en anal. chem.) wenst avonden productief te maken in Den Haag, Delft of omgeving, bijv. docent aan avondcursus, literatuurresearch, e.d. Veel ervaring in vertalen van chem. wetensch. artikelen van Nederl. in Engels en van Russisch in Nederlands.
- 860: Chemisch doctorandus zou gaarne zijn vrije tijd productief maken, liefst in het Westen van het land.

VERZOEK VAN DE REDACTIECOMMISSIE AAN DE SCHRIJVERS.

1. Men make de verhandelingen zo kort als mogelijk is, zonder aan de duidelijkheid te kort te doen. Men bespaart daarmee werk aan de beoordelende redacteuren en voorkomt de terugzending van het handschrift met het verzoek der Redactie de door haar aangegeven bekortingen aan te brengen. De leesbaarheid van lange verhandelingen wordt vergroot door splitsing in een paar korte.
2. Aan de tekst late men voorafgaan een beknopte inleidende samenvatting of overzicht van de inhoud, welke het de lezer mogelijk maakt het essentiële der publicatie te leren kennen, alvorens haar te lezen (deze inleiding wordt gezet met kleine letters). Door dit overzicht wordt een eventuele samenvatting der resultaten aan het einde der verhandeling niet uitgesloten.
3. Men gebruike de door de commissie uit de Union internationale de chimie vastgestelde regels voor de organisch-chemische nomenclatuur.
4. Men type slechts op ene zijde van het papier met ten minste een regel ruimte tussen de regels en late links een marge van ten minste 5 cm onbeschreven. Men zende het manuscript in duplo in. De bij uitzondering toegelaten met de hand geschreven manuscripten dienen (ook voor de zetter) duidelijk leesbaar te zijn.
5. Chemische benamingen en uitdrukkingen, die de zetter vermoedelijk niet bekend zijn, schrijve men **zeer** duidelijk.
6. Chemische en mathematische formules schrijve men, op een afzonderlijke regel, zo nauwkeurig mogelijk (men mag niet verwachten, dat de zetter chemisch en mathematisch geschoold is), opdat het de zetter duidelijk is, op welke wijze men de formules gezet wenst te zien. In structuurformules geve men **nauwkeurig** de plaats der streepjes aan.
7. Voor breuken, in de tekst geplaatst, gebruike men geen horizontale strepen; men schrijft dus $(a + b) / (c + d)$. Indices mogen niet zelf weer indices dragen.
8. De namen der schrijvers worden (voorzien van hun voorletters) in de noten herhaald.

9. De namen der tijdschriften korte men af, zoals dit geschiedt in de Chemical Abstracts (zie de List of Periodicals Abstracted). Deze afkortingen zijn in 1922 aangenomen in een vergadering van de Union internat. de chimie te Lyon. De voornaamste zijn opgenomen in tabel 1 op blz. 7—13 van de „Lijst van tabellen ten dienste van laboratoria” (1952). Men nummere de noten doorlopend.

10. Voor de symbolen gebruike men die, aangegeven in norm 333, verkrijgbaar bij de uitgeverij Waltman, Delft. Men vindt deze symbolen ook in tabel 4 op blz. 20—23 van de „Lijst van tabellen ten dienste van laboratoria” (1952).

11. Men tekene de figuren, die in het manuscript niet in de tekst mogen worden opgenomen, op ongeveer drie- of viermaal de gewenste grootte met zwarte inkt op wit papier, of zodanige wijze, dat de figuren zonder overtekenen fotografisch kunnen worden gereproduceerd. Men houde daarbij in het oog, dat de letters en cijfers na verkleining van de figuur op ca. $7\frac{1}{2}$ cm totale breedte ten minste nog 1.25 mm hoog moeten zijn. De letters en cijfers mogen echter ook met uitwisbaar potlood op de tekening geschreven worden. Van Redactiewege worden deze dan zonder kosten voor de auteur op de juiste grootte in inkt gezet.

Men beperke de bijschriften in de figuren zoveel mogelijk en neme gewenste verduidelijkingen in het onderschrift op.

12. Alle figuren en tabellen moeten worden voorzien van verklarende bijschriften. Die voor de figuren worden voorzien van de aanduiding „Onderschrift figuur” in het manuscript vermeld op de plaats waaraan de auteur voor het plaatsen der figuur de voorkeur geeft.

13. Men geve in de tekst ook duidelijk de plaats aan, waar de tabellen moeten worden opgenomen.

De tabellen stelle men bij voorkeur zo op dat de breedte van één kolom niet wordt overschreden.

14. Korte verhandelingen en voorlopige mededelingen kunnen veelal snel worden geplaatst, indien zij persklaar getypt in triplo worden ingezonden.

15. Bij de correctie van drukproeven gebruike men de tekens, aangegeven in norm 632, verkrijgbaar op dezelfde wijze, als aangegeven voor de symbolen. Zie ook Chem. Weekblad 28, 58, 59 (1931) en tabel 7 op blz. 58—60 van de „Lijst van tabellen ten dienste van laboratoria” (1952).

De kosten van alle correcties, welke niet het gevolg zijn van door een zetter gemaakte fouten, komen voor rekening van de schrijver.

16. Men vermeld op het manuscript titel, voorletters, naam en adres van de schrijver.

Indien manuscripten en/of figuren niet voldoen aan een of meer van de in bovenstaande punten aangegeven eisen, worden zij van Redactiewege gecorrigeerd, met dien verstande dat de Redactiecommissie zich het recht voorbehoudt de daarvoor te maken extra kosten in rekening te brengen of indien het gehonoreerde artikelen voor het Chemisch Weekblad betreft, op het honorarium in mindering te brengen.

Agenda van vergaderingen

- 3 Januari: Nederl. Natuurkundige Vereniging (Amsterdam). Symposium over mesonen. Zie het volledige programma in Chem. Weekblad pg. 975.
- 3 Januari: Nederlandse Astronomenclub (Utrecht). Interacademiaal Sterrekundig Colloquium. Zie het programma in Chem. Weekblad pg. 15.
- 6 Januari: Nijmeegse Chemische Kring (Nijmegen): Ir. E. Sweep. De betekenis van chemical-engineering studies voor proces-ontwikkeling. Zie Chem. Weekblad pg. 15.
- 9 Januari: Chemische Kring Breda (Breda): Dr. Joh. Booy. De invloed van chemische stoffen op de menselijke geest. Zie Chem. Weekblad pg. 14.
- 13 Januari: Haagse Chemische Kring ('s-Gravenhage): Ir. J. Verheus. Toepassing van katalytische procédés bij de fabricage van motorbrandstoffen. Zie Chem. Weekblad pg. 14.
- 15 Januari: Gooise Chemische Kring (Hilversum): Prof. Dr. H. R. Kruyt. De organisatie van wetenschap in binnen- en buitenland. Zie Chem. Weekbl. pg. 14.