
RUNGE, TALBOT, TSWETT, KUHN PIONIERS VAN DE CHROMATOGRAFIE

Wanneer we de leerplannen chemie voor het secundair onderwijs doornemen, stellen we vast dat hierin, als scheidingstechniek van mengsels, de mogelijkheid wordt geboden om aan chromatografie te doen.

In de handboeken vindt men ook eenvoudige experimenten over chromatografie die in een leerlingenpracticum kunnen uitgevoerd worden.

Het principe van de chromatografie komt neer op hetvolgende : bestanddelen van een mengsel worden gescheiden doordat ze in verschillende mate worden geadsorbeerd aan een vaste stof (stationaire fase) waarlangs men een oplosmiddel (mobiele fase) laat lopen, de zogenaamde adsorptiechromatografie. Actueel bestaan vele varianten van mobiele en stationaire fasen, zo bv. de gas-liquidchromatografie om er maar een te noemen

We willen nu - zij het op een summiere wijze - vanuit historische invalshoek, de chromatografie benaderen en hierbij het onderzoek van enkele pioniers eventjes in het daglicht stellen^[1].

Reeds lang wist men dat vaste stoffen componenten uit oplossingen en ook uit gassen konden adsorberen. De beroemde chemicus en apotheker Carl Wilhelm Scheele (1742-1786) ontdekte

dat houtskool gassen kon adsorberen^[2]. Beenderzwart werd ook omwille van zijn adsorptievermogen als ontkleuringsmiddel gebruikt voor opgeloste suiker, stroop, oliën, enz. Houtskool kon dus in haar poriën gassen en dampen adsorberen^[3].

Men kan dit ook gemakkelijk als leerlingenproef uitvoeren : breng in een erlenmeyer rode wijn en wat actieve kool, warm onder roeren even op en filtreer. Men stelt vast dat de kleur sterk afneemt en kan verdwijnen bij herhaalde behandeling.

Op het einde van de 18de eeuw was in de kleurstoffenindustrie, de druppelanalyse op bijvoorbeeld textiel of textielproducten, geïmpregneerd en niet geïmpregneerd papier, een ingeburgerde methode. Hierbij nam men goed notitie van de (concentrische) ringen die gevormd werden door de kleurstofcomponenten, te wijten aan de capillaire werking van het papier of de textiel^[4]. Omstreeks het midden van de 19de eeuw werd de druppelanalyse een analytische techniek. Bij druppelanalyse brengt men een druppel van de oplossing die men wenst te onderzoeken, op filtreerpapier in contact met een druppel van een oplossing van een welbepaald reagens. Het verschijnen van een typische kleur

is een aanwijzing dat een bepaalde component aanwezig is.^[5]

Runge Friedlieb Ferdinand (Rillwärdter bij Hamburg, 1795-Oranienburg, 1867) was apotheker en chemicus die belangrijke bijdragen heeft geleverd tot de chemie. Runge werd buitengewoon hoogleraar in de technologie in Breslau. Omstreeks 1830 verliet hij het academisch leven en werkte vanaf 1833 hoofdzakelijk in Oranienburg voor de zwavelzuurfabriek van Hempel^[6]. Runge publiceerde een belangrijk driedelig werk, zijn "Farbenchemie" (respectievelijk verschenen in 1834^[7], 1842^[8] en 1850^[9]). Vooral het derde deel was van grote betekenis omdat hierin voor de eerste maal op wetenschappelijke wijze de papierchromatografie wordt beschreven. Ook zette hij hier uiteen hoe men, door gebruik te maken van druppeloplossingen, kleurstoffen kon analyseren. In 1855 verscheen er nog een werk, getiteld "Der Bildungstrieb der Stoffe"^[10] dat hij illustreerde met afbeeldingen van papierchromatogrammen. Deze had Runge verkregen door filterpapier te impregneren met anorganische zouten, waarop hij vervolgens, na drogen, een welbepaald druppelreagens had aangebracht. Omwille van deze publicaties wordt Runge aangezien voor de man die de grondslagen heeft gelegd van de wetenschappelijke chromatografie.

De Amerikaan **Day David Talbot**^[11] (Ohio, U.S.A. 1859-Washington 1925) was na zijn studies aan de Johns Hopkins Universiteit (Baltimore), grotendeels actief als chemicus in de petroleumindustrie. Reeds in 1886 werd Day aangesteld tot directeur van de "Mineral Resources Division of the U.S. Geological Survey". Hij interesseerde zich sterk voor de vorming van de natuurlijke petroleum, vooral als men let op het aanzienlijk verschil van de organische inhoud van recente sedimenten^[12]. Day

nam als hypothese aan dat het verschil in samenstelling van natuurlijke oliën te wijten was aan het filtreren doorheen de verschillende geologische lagen. Om dit te staven deed hij experimenteel onderzoek. Zo liet hij ruwe petroleum met dit doel filtreren doorheen een kolom die gevuld was met volaarde, een soort klei met groot adsorptievermogen. Day stelde vast dat niet alleen het filtraat in samenstelling verschilde van de ruwe olie, maar op verschillende hoogtes van de kolom kon hij onderling verschillende fracties afscheiden. Hiermee lag hij aan de grondslag van de zogenaamde "kolomchromatografie". Day zag in dat deze methode niet alleen belangrijk was voor de petroleumindustrie, maar eveneens voor de analytische chemie. Op het "Eerste Internationale Petroleumcongres" in Parijs (20 augustus 1900), gaf hij een gedetailleerd verslag over zijn experimenteel onderzoek. Hij toonde daar ook de koolwaterstoffracties die hij had verkregen door differentiële adsorptie via kolomchromatografie^[13]. Vlug daarna werd zijn methode operationeel gemaakt door chemici in de petroleumsector (Duitsland, Rusland, V.S.A.).

Een wetenschapper die een grote bijdrage zou leveren tot de chromatografie was de Rus **Tswett Mikhail Semenovitch** (Asti, Italië 1872-Voronez, Rusland 1919). Tswett was een plantkundige die zich vooral wijdde aan fysiologisch onderzoek. Hij slaagde erin plantaardige kleurstoffen, ondermeer chlorofyllen, te scheiden. In 1903 publiceerde hij een rapport waarin hij uiteenzette welke methode hij ontwikkeld had om door adsorptie een extract van plantepigmenten te scheiden^[15]. Tswett maakte een extract van frisse bladeren en liet dit vloeien door een kolom die hij had gevuld met inuline (een polysaccharide dat ondermeer voorkomt in de knollen van dahlia's). Hij stelde vast dat hier adsorptie optrad. De vloeistof die onderaan uit de kolom vloeide, was eerst kleurloos,

vervolgens geel (caroteen) en aan de bovenkant van de kolom ontstond er een groene band. Onder deze groene band kwam er vlug een gele band tevoorschijn. Toen hij zuiver ligroïne door de kolom liet filtreren, begonnen de twee banden omvangrijker te worden en bewogen ze door de kolom naar beneden. Dit experiment verliep in feite in twee stappen. Eerst liet hij het mengsel door de kolom trekken waarbij bovenaan één band werd gevormd door adsorptie. Hij voegde dan zuiver oplosmiddel toe waardoor deze band in delen uiteenging. Op die manier trad er een scheiding op van de componenten die erin aanwezig waren. Onmiskenbaar valt de kolomchromatografie van Tswett te dateren in 1903 met als essentiële verbetering het scheiden van de kleurstoffen, het zogenaamd ontwikkelen van het chromatogram. In 1906 publiceerde hij weer artikels over zijn methode en de resultaten die hij verkregen had betreffende de pigmentsamenstelling, onder meer van bladgroen. In een eerste publicatie beschreef hij de gevolgde methode^[16]. Hij behandelde onder meer plantenbladeren met calciumcarbonaat om de plantenzuren te neutraliseren die erin aanwezig waren. Dan behandelde hij de bladeren met petroleumether die 10% alcohol bevatte. Hij goot de oplossing die hij verkreeg af en extraheerde ze verschillende malen met telkens vers oplosmiddel. Hij schudde de oplossing enkele keren uit met water in een scheitrechter en verwijderde op die manier de eventueel aanwezige sporen alcohol. Hij filtreerde de gekleurde vloeistof en schudde ze met calciumcarbonaat (in poedervorm en in overmaat aanwezig). De geadsorbeerde kleurstoffen elueerde hij met een mengsel van alcohol en petroleumether, vervolgens voerde hij een scheiding uit met alcohol (een oplossing van 80%). Tenslotte on-

derwierp hij ze aan een spectroscopisch onderzoek. In een tweede publicatie besprak hij eerst de adsorptieverschijnselen en weidde hij uit over de verschillende adsorbentia, vervolgens beschreef hij zijn methode^[17]. In een verticaal geplaatste kolom bracht hij als adsorbens calciumcarbonaat aan, dat hij goed aandrukte. Een oplossing van chlorofyl in petroleumether liet hij door het adsorbens filtreren. De opgeloste kleurstoffen werden in het bovenste deel van de zuil geadsorbeerd, zodat er een gekleurde zone ontstond. Vervolgens ontstonden er verschillende gekleurde zones omdat de sterkst adsorbeerbare component zich bovenaan bevindt en de componenten die in mindere mate worden geadsorbeerd, in de lagere zones worden afgescheiden. Als de oplossing geheel doorgelopen was, bracht hij op de zuil zuiver oplosmiddel en liet dit er doorheen vloeien. Er ontstond een duidelijke scheiding van de kleurstoffen. Hij verwijderde de adsorptiezuil uit de kolom en scheidde de zones mechanisch, waarna hij elke kleurstoffenlaag afzonderlijk waste. Tenslotte onderwierp hij deze aan een kwalitatief en kwantitatief onderzoek. In deze publicatie gebruikte Tswett voor de eerste maal de termen "chromatogram" en "chromatografie".

Al kan men hem niet de uitvinder noemen van de kolomchromatografie, toch heeft hij vele jaren later veel invloed gehad door zijn publicaties, die aanvankelijk weinig bekendheid genoten. In de dertiger jaren is de chromatografie fel verbeterd, vooral door **R. Kuhn** (1900-1967), die belangrijk onderzoek deed op het gebied van de organische chemie en biochemie, o.a. oerenzymen, carotenoiden en vitamines^[18]. Hij kreeg hiervoor de Nobelprijs in 1938 voor scheikunde, maar weigerde deze op bevel van de naziregering.

Literatuur

1. Weil, Die Anfänge der Chromatographie, *Chemiker Zeitung*, 78, (1954), 419-424, 496-499.
M. Snelders, Schets van de ontwikkeling van de chromatografie in de negentiende eeuw, *Verzamelde Opstellen*, 155-157.
2. Knight, Scheele C. W., *Biographical Dictionary of Scientists*, ed. T. Williams (1994), 434.
3. Römpp, *Chemie Lexicon*, (Stuttgart 1962), 122.
4. Szabadvary, *History of Analytical Chemistry*, (Oxford 1966).
M. Snelders, Schets van de ontwikkeling van de analytische chemie in de eerste helft van de negentiende eeuw, *Chemisch Weekblad*, 61 (1965), 315-324.
5. M. Snelders, Enige opmerkingen over de geschiedenis van de druppelanalyse, *Verzamelde Opstellen*, 152-154.
6. Anft, Friedlieb Ferdinand Runge : a forgotten Chemist of the Nineteenth Century, *Journal of Chemical Education*, 32 (1955), 566-574.
M. Snelders, Friedlieb Ferdinand Runge, 1794-1867, *Verzamelde Opstellen*, 107-111.
Daniel P. Jones, *Dictionary of Scientific Biography*, 11, 615-616.
7. Runge, *Farbenchemie*. I. Teil. Die Kunst zu färben gegründet auf das chemische Verhalten der Baumwollfaser zu den Salzen un Säuren. *Lehrbuch der praktischen Baumwollfärberei* (Berlin 1834).
8. Runge, *Farbenchemie*. II. Teil. Die Kunst zu drucken (Berlin 1842).
9. Runge, *Farbenchemie*, III. Teil. Die Kunst der Farbenbereitung (Berlin 1850).
10. Runge, *Der Bildungstrieb der Stoffe, Veranschaulicht in selbständig gewachsenen Bildern* (Oranienburg 1855).
11. E.N. Schor, Day David Talbot, *Dictionary of Scientific Biography*, 4, 609-610.
12. D.T. Day, *Proceedings of the American Philosophical Society*, 36 (1897), 112.
13. D.T. Day, Paper submitted to the First International Petroleum Congress at Paris, 20 August 1900, *Congres International du Petrole, Paris, Vol. I* (1903), 53.
14. Dhéré, Candollea, 10 (1943), 23-63.
Zechmeister, L. Mikhail Tswett : the inventor of chromatography, *Isis* 36 (1945-1946), 108-109.
Robinson, Michael Tswett, *Journal of Chemical Education*, 36 (1959), 144-147.
M. Snelders, Mikhail Semenovich Tswett (1872-1919) en de kolomchromatografie, *Verzamelde Opstellen*, 158-163.
Sencherkova, Tswett Mikhail Semenovich, *Dictionary of Scientific Biography*, 13, 486-488.
15. G. Hesse, H. Weil, Mikhail Tswett's first paper on chromatography, *Eschwege* 35 p., 2 pl., Reviewed by Aaron J. Ihde, *Isis* 47 (1956), 93-94.
16. Tswett, Zur Kenntnisse der Phaeocyeenfarbstoffe, *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, 24 (1906), 235-239.
17. Tswett, Physikalisch-chemische Studien über das Chlorophyll. Die Adsorptionen, *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, 24 (1906), 316-323.
18. E. Lederer, *Journal of Chromatography*, 73, (1972), 361.