

Tafel 4.

Adsorption des Threonins und Cystins  
in 10-proz. Formaldehydlösung an Aluminiumoxyd.

Versuchsbedingungen: Die Säule aus 10 g Aluminiumoxyd (anionotrop) wurde vor der Adsorption mit 50 ccm 10-proz. Formaldehydlösung von pH 7 gespült. Die Cystinlösung wurde vor der Adsorption mit H<sub>2</sub>S bei 60° reduziert. Als Elutionsmittel diente neutrale 10-proz. Formaldehydlösung, die bei dem Versuch mit Cystin mit H<sub>2</sub>S gesättigt war.

Aminosäuren	Menge in mg N	mg N in aufeinanderfolgenden Eluat				KOH-Eluat
		1 25 ccm	2 25 ccm	3 25 ccm	4 25 ccm	
<i>d,l</i> -Threonin	0.584	0.006 <sup>16)</sup>	0.00	0.00	0.020	0.564
Cystin	0.488	0.006 <sup>16)</sup>		0.036		—

## 76. Gerhard Schramm und Josef Primosigh: Über einige Versuche, die Adsorption der Aminosäuren sichtbar zu machen.

[Aus d. Arbeitsstätte für Virusforschung d. Kaiser-Wilhelm-Institute für Biochemie u. Biologie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 16. Mai 1944.)

Die in der vorangehenden Arbeit<sup>1)</sup> beschriebenen chromatographischen Trennungen der Aminosäuren arbeiten im allgemeinen sicher genug, so daß auf eine optische Kontrolle der Adsorption verzichtet werden kann. Bei anderen analytischen Aufgaben und zur Prüfung der benutzten Adsorbentien mag es aber hin und wieder erwünscht sein, den Adsorptionsvorgang sichtbar zu machen.

Der einfachste Weg hierzu ist die Bildung einer farbigen Verbindung der Aminosäuren in der Säule. So kann man die Aminosäuren dadurch sichtbar machen, daß man durch die Säule eine verdünnte Kupferacetatlösung fließen läßt. Hierbei bildet sich eine blaue Komplexverbindung der Aminosäuren, während in dem aminosäurefreien Teil der Säule kein Kupfer adsorbiert wird. Es läßt sich auf diese Weise zeigen, daß die sauren Aminosäuren sehr fest an das anionotrope Aluminiumoxyd adsorbiert werden und nach dem Auswaschen der übrigen Aminosäuren in einer schmalen blauen Zone am oberen Rand der Säule enthalten sind<sup>2)</sup>. Durch die Komplexbildung wird jedoch die Adsorption der Aminosäuren gelockert, so daß hierdurch nicht das wahre Verhalten der freien Aminosäuren wiedergegeben wird. Dies zeigt sich besonders deutlich, wenn man versucht, die an Silicagel adsorbierten basischen Aminosäuren, insbesondere das Histidin, nach diesem Verfahren sichtbar zu machen. Man erhält hierbei eine sehr breite, verwaschene, blaue Zone,

<sup>16)</sup> Der Wert ist nicht mit Sicherheit von Null verschieden.

<sup>1)</sup> G. Schramm u. J. Primosigh, B. 77, 417 [1944].

<sup>2)</sup> In ähnlicher Weise lassen sich die adsorbierten Aminosäuren durch die Rotfärbung mit Chinon nachweisen.

die nicht dem Verhalten der Aminosäuren in Abwesenheit von Kupfer-Ionen entspricht.

Zur Sichtbarmachung der adsorbierten Aminosäuren empfiehlt sich daher eine andere Arbeitsweise, die man als „Verdrängungsverfahren“ bezeichnen kann. Hierbei wird die Säule des Adsorbens zunächst mit einem farbigen Anion bzw. Kation besetzt, das schwächer adsorbiert wird als die Aminosäuren. Bei Zugabe der farblosen Aminosäuren findet dann in dem Teil der Säule, in dem diese adsorbiert werden, eine Verdrängung des Farbstoffes und damit eine Aufhellung statt. Als schwache farbige Säuren zur Sichtbarmachung der Adsorption der sauren Aminosäuren erwiesen sich Bromthymolblau und Methylrot<sup>3)</sup> als besonders geeignet. Für schwächere Säuren könnten auch Dinitro- oder Nitrophenole Verwendung finden, deren Dissoziationskonstanten aus der Literatur bekannt sind. In der mit Bromthymolblau gelb gefärbten Aluminiumoxydsäule erzeugen die freien Aminosäuren einen schmalen weißen Ring. Werden die Natriumsalze dieser Säuren zur Adsorption gebracht, so schlägt der Indicator am unteren Rand der Verdrängungszone durch die frei werdenden Kationen nach Blau um. Es ist nicht notwendig, die ganze Säule mit den Indicatoren anzufärben, sondern es genügt meist, einen schmalen Ring zu erzeugen, der die untere Grenze der Verdrängungszone markiert, indem man zu der Aminosäurelösung vor der Adsorption etwas von dem Farbstoff hinzugibt. Nach diesem Verfahren kann mit Bromthymolblau auch die Adsorption der Aminosäuren der 4. Gruppe in Formaldehydlösung sichtbar gemacht werden. Durch Formaldehyd allein, wenn dieser sorgfältig von Ameisensäure befreit ist, findet keine Verdrängung des Farbstoffes statt. Auch die Aminosäuren der 5. Gruppe bewirken in Gegenwart von Formaldehyd keine Verschiebung des blauen Markierungsringes. Wird dagegen eine mit Bromthymolblau versetzte Lösung von Glykokoll oder Serin chromatographiert, so wandert die blaue Ringzone abwärts, und die Analyse zeigt, daß die Hauptmenge dieser Aminosäuren oberhalb des Markierungsringes adsorbiert ist und der untere Teil der Säule keinen Stickstoff enthält.

Um nach diesem Verdrängungsverfahren auch die Adsorption der basischen Aminosäuren an Silicagel sichtbar zu machen, mußte ein sehr schwach adsorbierbares farbiges Kation ausfindig gemacht werden. Am besten bewährte sich das blaßrosafarbene Kobalt(II)-Ion, das auch durch das schwach basische Histidin glatt verdrängt wird. Quantitative Versuche zeigen, daß bei der Adsorption des Histidins an das vorher mit Kobalt angefärbte Silicagel der obere farblose Teil der Säule die gesamte Histidinmenge enthält.

Da die Chromatographie wäßriger Lösungen wegen der elektrostatischen Natur der hier zur Geltung kommenden Adsorptionskräfte wesentlich übersichtlicher ist als die Chromatographie in organischen Lösungsmitteln, wird es durch sinnvolle Abänderung der hier angegebenen Versuchsbeispiele leicht möglich sein, in gleicher Weise auch die Adsorption anderer farbloser organischer Ionen sichtbar zu machen.

<sup>3)</sup> Die Menge an Methylrot kann so klein gewählt werden, daß der N-Gehalt der Verbindung bei der Analyse nicht stört.