

Kombinationsmethode von Papierelektrophorese und Papierchromatographie zur Bestimmung von Aminosäuren*

Bei der Analyse von Aminosäuregemischen, in denen im Vergleich zu den neutralen Aminosäureanteilen sehr grosse Mengen saurer oder auch basischer Aminosäuren enthalten sind, ergibt sich bei der papierchromatographischen Auftrennung eine starke Überlappung der Komponenten mit benachbarten R_F -Werten. Die qualitative und quantitative Auswertung derartiger Chromatogramme ist dadurch ausserordentlich erschwert.

Zur Analyse solcher extrem zusammengesetzter Gemische entwickelten wir eine Kombination einer von uns modifizierten Papierelektrophorese mit unserer Keilstreifenpapierchromatographie¹.

Filtrierpapier Schleicher & Schüll 2045b, 40 cm lang und 4 cm breit, wird in Anlehnung an die Keilstreifenform bei der Papierchromatographie so zugeschnitten, dass ein Streifen entsteht, der über eine keilförmige Zunge zu einer schmalen Brücke führt, die sich dann wieder über eine Zunge auf die obere Breite erweitert, aber auf beiden Seiten der Brücke verschieden lang ist (Fig. 1). Die zu trennende Untersuchungssubstanz wird auf der kleinen Brücke aufgetragen; durch Schlitze an beiden Enden des Papierstreifens wird je ein kurzer Glasstab geschoben und der längere Teil des Streifens soweit zusammengerollt, dass die Brücke etwa in die Mitte der Elektrophoresekammer zu liegen kommt (Fig. 2). Der gesamte Streifen wird mit einem als Puffer dienenden Gemisch aus Pyridin-Eisessig-Wasser (30:100:5000) durch Besprühen gleichmässig befeuchtet; anschliessend werden die mit dem Glasstab beschwerten Enden in die mit dem oben verwendeten Puffergemisch gefüllten Elektrodengefässe gegeben. Es wird ein Gleichstrom von 150 V angelegt. Nach 3–5 Stunden wird der Streifen entnommen und getrocknet; der kürzere Teil des Streifens mit den darauf befindlichen basischen Aminosäuren (Fig. 3a) wird abgeschnitten und ein gleichlanger Papierstreifen an dieser Stelle angenäht (s. punktierte Linie in Fig. 1). Der gesamte Streifen wird erneut mit Puffer gesprüht und wieder in die Elektrophoresekammer gegeben. Anode und Kathode werden umgewechselt, sodass sich nach einer Laufzeit von etwa 19 Stunden die sauren Aminosäuren auf dem kürzeren Teil des Streifens befinden (Fig. 3b). Dieser Teil wird wieder abgeschnitten und zwar so, dass der verbleibende längere Teil die Form eines Langfilter-Keilstreifens erhält (Fig. 1, gestrichelte Linie). Die im Bereich der Brücke liegendegebliebenen neutralen Aminosäuren werden auf diesem Streifen papierchromatographisch aufgetrennt.

Da die im Papier zurückbleibenden Reste des bei der Elektrophorese verwendeten Pyridinpuffers bei der papierchromatographischen Auftrennung eine Verschmierung der einzelnen Banden verursachen, müssen sie restlos aus dem Papier entfernt werden. Zu diesem Zweck werden die Streifen vor der Papierchromatographie in einem Vacuum-

* Quedlinburger Beiträge zur Züchtungsforschung No. 40.

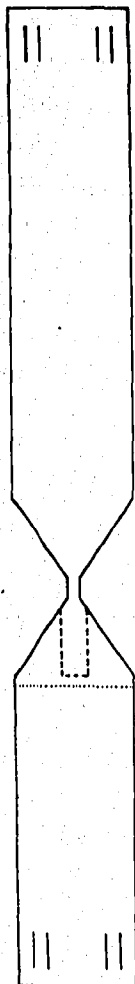


Fig. 1. Form des Papierstreifens zur Kombinationsmethode.

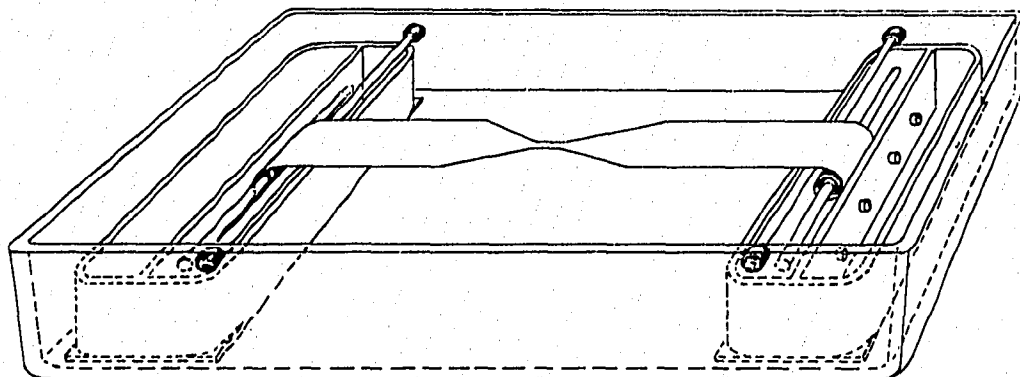


Fig. 2. Elektrophoresekammer.

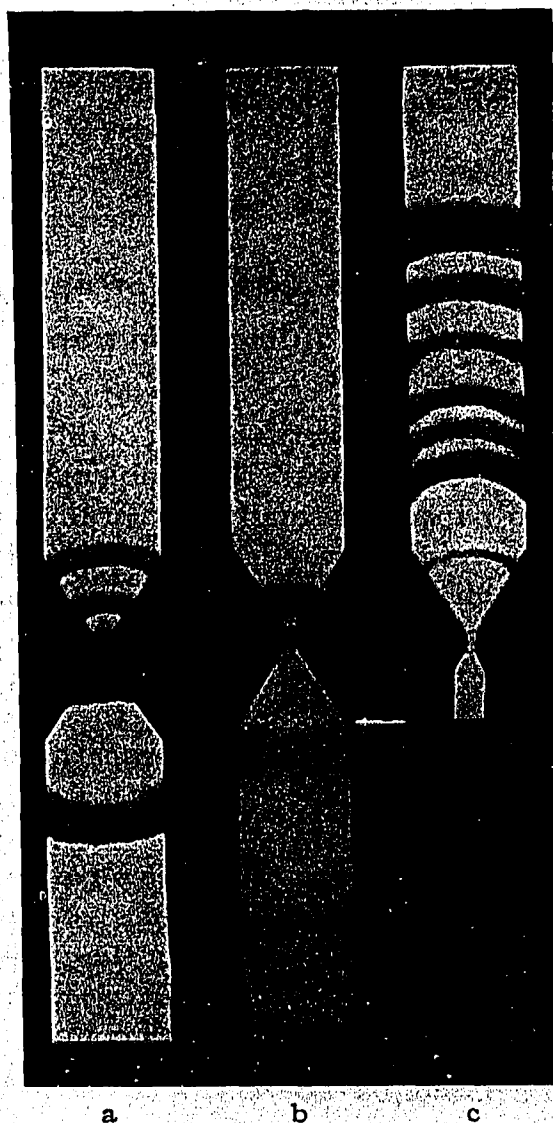


Fig. 3. (a) Papierelektrophoretische Auftrennung eines Aminosäure-Gemisches in saure, neutrale und basische Anteile. (b) Nach Umpolung saure Aminosäuren auf dem angenähten Streifen. (Nahtstelle = \Rightarrow). (c) Papierchromatographische Auftrennung der neutralen Aminosäuren.

Exsiccator unter öfterem Lüften $\frac{1}{2}$ Stunde lang abgesaugt. 3–5 Keilstreifen werden dann auf einen Glasbügel gezogen und in einer flachen Schale* mit Butanol–Eisessig–Wasser (4:1:1) als Laufmittel in 2×17 Stunden papierchromatographisch entwickelt. Soll eine grössere Anzahl von Keilstreifen gleichzeitig entwickelt werden, so werden mehrere Bügel in ein Glasaquarium gehängt; auf diese Weise können zur gleichen Zeit bis zu 100 Keilstreifen chromatographiert werden. Nach dem Trocknen der Streifen werden die neutralen Aminosäuren auf dem Keilstreifen (Fig. 3c), die sauren bzw. basischen auf den abgeschnittenen Streifen durch Ansprühen mit Ninhydrinreagens in üblicher Weise nachgewiesen.

*Institut für Pflanzenzüchtung der Deutschen Akademie der
Landwirtschaftswissenschaften, Quedlinburg (Deutschland)*

WERNER MATTHIAS

¹ W. MATTHIAS, *Naturwissenschaften*, 41 (1954) 17; *Der Züchter*, 24 (1954) 313.

Eingegangen den 17. Februar 1959

* Die Glasgeräte zur Keilstreifen-Papierchromatographie werden hergestellt von VEB Glaswerke Ilmenau, Ilmenau/Thüringen.

An apparatus suitable for applying fairly large quantities of solutions on paper chromatograms

For the quantitative determination of dilute solutions of steroids by paper chromatography, we were faced with the problem of applying exact 0.5 ml quantities of such solutions on paper in a small spot within a reasonable period of time.

Of the several devices described in the literature, that of VAN GULIK¹ seemed to us the most promising. However, the time required to complete the operation under our conditions was found to be too long.

In order to circumvent this drawback, a modification of the VAN GULIK apparatus was constructed, enabling us to dry the solution during application by passing a centripetal current of warm air underneath the paper, around the spot of application (Fig. 1). The air-flow is measured with a rotameter A (for quantities of 10–100 l/min), then passes through a copper tube B, provided with a 220 V–500 W heating coil (from a hair-drier). The warm air then passes a thermometer C and is led to the copper "blow-cup" D, details of which are given in Fig. 2. The air passes through inlet E, the outer tube F and (after passing the paper) the inner tube G (screwed into F) and leaves the apparatus at H (see arrows). The space in the inner and outer tube is divided into four channels by small copper vanes in order to prevent whirling of the air. The various parts are mounted on a "philitex" table (25 × 35 cm).