

## Zur Säulenchromatographie von Aminosäuren

### IV. Ein stabiles Ninhydrinreagenz für die automatische Aminosäurebestimmung

Für die Bestimmung von Aminosäuren durch die Säulenchromatographie nach MOORE UND STEIN<sup>1</sup> ist die Gegenwart von Hydrindantin im Ninhydrinreagenz erforderlich, um quantitative und reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen. Hierzu wird entweder dem Reagenz Hydrindantin zugesetzt, oder aber es wird ein Teil des Ninhydrins im fertigen Reagenz zu Hydrindantin reduziert. Diese Reduktion muss, wie STEGEMANN<sup>2</sup> zeigen konnte, unter bestimmten Standardbedingungen erfolgen, um ein gleichmässig wirksames Reagenz zu erhalten. Bei der automatischen Aminosäurebestimmung nach dem Prinzip von SPACKMAN und Mitarbeitern<sup>3</sup>, ist man gezwungen die Reduktion des Ninhydrins einzuschränken, um ein Auskristallisieren des schwerlöslichen Hydrindantins in den Kapillarschläuchen zu verhindern (vgl. z.B. KRAMPITZ<sup>4</sup>). Ausserdem kommt es, infolge der geringen Haltbarkeit des reduzierten Reagenzes, verhältnismässig schnell zu einer Abnahme der erzielbaren Farbintensität bei der Anfärbung von Aminosäuren.

Diese Umstände liessen die Entwicklung eines stabilen Ninhydrinreagenzes wünschenswert erscheinen. Die angeführten Schwierigkeiten lassen sich dadurch umgehen, dass man mit einer unreduzierten Ninhydrinlösung arbeitet und diese erst unmittelbar vor der Farbreaktion reduziert. Hierzu wird das Reduktionsmittel den jeweiligen Chromatographiepuffern zugegeben. Es wird dann erst in dem Augenblick wirksam, in dem die Vereinigung von Säuleneluat und Reagenz erfolgt, d.h. erst unmittelbar vor der Erhitzung im Wasserbad.

Wir arbeiten mit der automatischen Aminosäurebestimmungs-Apparatur nach HANNIG<sup>5</sup> und benutzen als Ninhydrinreagenz eine Lösung von 1 g Ninhydrin in einem Gemisch von Methylcellosolve und 4 M Acetatpuffer pH 5.5 nach MOORE UND STEIN<sup>1</sup> im Verhältnis 3:1. Diese Lösung ist (bei Schutz vor direktem Sonnenlicht) über längere Zeiträume ohne Aktivitätsminderung haltbar. Die Reduktion erfolgt

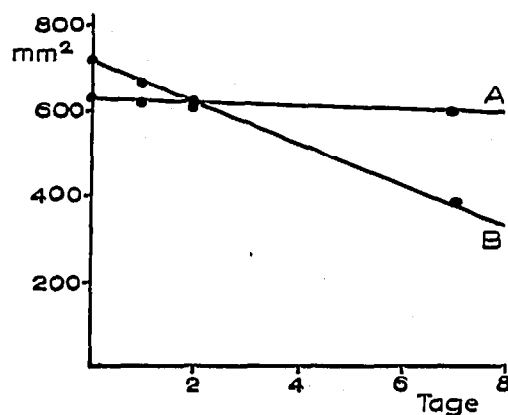


Fig. 1. Registrierte Flächenwerte für 1  $\mu$ Mol Lysin in Abhängigkeit von der Lagerung des Ninhydrinreagenzes: (A) Auswertung mit dem neuen Reagenz; (B) Auswertung mit dem Reagenz nach MOORE UND STEIN.

durch  $\text{CN}^-$ , das den für die Elution der Aminosäuren aus den Ionenaustauschersäulen benutzten Puffern zugesetzt wird. Die optimale Menge wurde durch eine Versuchsreihe zu 4 ml 0.01 M KCN-Lösung für 300 ml Puffer (entsprechend einer Pumpenfällung der automatischen Apparatur) ermittelt. In der Fig. 1 sind als Beispiel die Flächenwerte der für 1  $\mu\text{Mol}$  Lysin mit dem neuen Reagenz registrierten Kurven den entsprechenden Werten, die mit dem Reagenz nach MOORE UND STEIN<sup>1</sup> erhalten wurden, in Abhängigkeit von der Zeit, gegenübergestellt. Hierbei wurde die jeweilige Reagenzlösung während der angegebenen Zeitspanne unter Lichtabschluss bei Raumtemperatur, jedoch nicht unter Stickstoff aufbewahrt.

Die Figur zeigt die eindeutig bessere Lagerfähigkeit des neuen Reagenzes, die es ermöglicht, die Arbeiten an der automatischen Apparatur auch für mehrere Tage zu unterbrechen, ohne die Ninhydrinlösung ausfüllen zu müssen. Die beschriebene Methode lässt sich analog auch auf die Bestimmung von Aminosäuren in den durch Fraktionssammler gewonnenen Eluat anwenden.

*Oskar-Kellner-Institut für Tierernährung, Rostock,  
der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften  
zu Berlin (Deutschland)*

E. SCHWERDTFEGER

<sup>1</sup> S. MOORE UND W. H. STEIN, *J. Biol. Chem.*, 211 (1954) 907.

<sup>2</sup> H. STEGEMANN, *Z. physiol. Chem.*, 319 (1960) 102.

<sup>3</sup> D. H. SPACKMAN, W. H. STEIN UND S. MOORE, *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1190.

<sup>4</sup> G. KRAMPITZ, *Z. Tierphysiol., Tierernähr.u. Futtermittelk.*, 15 (1960) 40.

<sup>5</sup> K. HANNIG, *Clin. Chim. Acta*, 4 (1959) 51.

Eingegangen den 31. Juli 1961

*J. Chromatog.*, 7 (1962) 418-419

### **The sorption of phenols from arabogalactan solutions (*Larix occidentalis* Nutt.) by anion exchangers**

The anion exchange technique has been used for the recovery of phenols from phenolic wastes<sup>1,2</sup> and for the sorption of phenolic aldehydes<sup>3</sup>. It has also been reported<sup>4</sup> that strong anion exchangers in the hydrogen sulfite form can be used to separate guaiacyl phenols from catechol derivatives. Further studies<sup>5</sup> showed that various phenols are sorbed on anion exchangers saturated with oxyanions of some elements of groups III-VI of the periodic table. Attempts have also been made to use anion exchange resins for the uptake of tan-colored compounds<sup>6</sup>, mainly phenolic<sup>7</sup>, from aqueous arabogalactan solutions from *Larix occidentalis* Nutt., the Western Larch. However, the polysaccharide was still light colored on precipitation with ethanol.

This note reports an exploratory investigation of the purification of arabogalactan solutions from Western Larch by means of anion exchangers in the free base ( $\text{OH}^-$ ),

*J. Chromatog.*, 7 (1962) 419-421