

Trennung einfacher Zucker auf Cellulose-Schichten

Auf verschiedenen Gebieten der Naturstoffchemie wurde die Dünnschicht-Chromatographie bereits mit Erfolg angewandt¹. Eine Spurenanalyse von Zuckern an Schichten von Kieselgel ist kürzlich publiziert worden². Die vorliegende kurze Mitteilung bringt einen Beitrag zur chromatographischen Trennung von Zuckern an der Dünnschicht von Cellulose-Pulver. Das Verfahren wurde ausgearbeitet zur Identifizierung der Hydrolyse-Produkte pflanzlicher Polysaccharide. Über Zielsetzung und Ergebnisse dieser Versuche wird an anderer Stelle berichtet³.

Beschreibung des Verfahrens

Es wurde im allgemeinen nach den Angaben eines Prospektes der Firma Macherey, Nagel u. Co., Düren gearbeitet. Von dieser Firma stammte auch das verwendete Cellulose-Pulver (Cellulose-Pulver MN 300). 15 g Pulver werden mit 90 ml aqua dest. ca. 30 sec im Starmix homogenisiert. Ein Zusatz von Gips oder anderen Bindemitteln erwies sich nicht als notwendig. Der Cellulose-Brei wird in einer Schichtdicke von 0.25 mm aufgetragen. Wir benützten hierbei Platten und Streichgerät der Standardausrüstung für Dünnschicht-Chromatographie der Firma Desaga, Heidelberg. Die feuchte Schicht wird 10 min bei ca. 100° im Trockenschrank getrocknet.

Die Substanzen werden zur Chromatographie in Abständen von 2 cm auf einer Startlinie 3 cm vom unteren Rand der Platten aufgetragen.

Als Laufmittelgemische wurden verwendet:

- I. Essigsäureäthylester-Pyridin-Wasser (2:1:2), beide Phasen⁴.
- II. Phenol gesättigt mit Wasser-1% Ammoniak⁵.
- III. Isopropanol-Pyridin-Eisessig-Wasser (80:80:10:40)⁶.

Man chromatographiert in Glaströgen der Firma Desaga bei "Kammerübersättigung"⁷. Die Platte wird aus dem Trog genommen, wenn die Laufmittelfront den oberen Rand erreicht hat und getrocknet. Bei Verwendung von Gemisch I wurde die Platte meist zu einem zweiten Lauf in gleicher Richtung und mit dem gleichen Laufmittel nochmals in den Trog gestellt. Das Verfahren benötigt bei zweimaliger Chromatographie etwa 4 Stunden.

Die Zucker lassen sich mit Anisidinphthalat (0.1 M Lösung *p*-Anisidin und Phthalsäure in 96% Äthanol) anfärben⁸. Dabei färben sich Hexosen grün, Pentosen rotviolett, Methylpentosen gelbgrün, Uronsäuren braun.

Ergebnisse

In den untersuchten Polysaccharid-Hydrolysaten kamen hauptsächlich die in der Tabelle I aufgeführten Zucker und Uronsäuren vor.

Wie die Laufwerte, bezogen auf die von der Glucose zurückgelegte Strecke (R_G -Werte) zeigen, lassen sich die Monosaccharide Galactose, Glucose, Mannose, Xylose, Ribose, Rhamnose bei Verwendung von Laufmittel I gut trennen (vergl. Fig. 1). Lediglich die Flecken von Mannose und Arabinose liegen sehr dicht beisammen. Diese Zucker können jedoch durch Rechromatographie mit Laufmittel II völlig getrennt werden.

Für die Papierchromatographie der Uronsäuren schlug SULSER das Laufmittelgemisch III vor⁶. Wir übertrugen es auf die Dünnschicht und erreichten eine befriedigende Trennung von Glucuronsäure, Mannuronsäure und Galacturonsäure. Das

TABELLE I

R_G -WERTE DER ZUCKER NACH ZWEIMALIGER CHROMATOGRAPHIE AUF
EINER SCHICHT VON CELLULOSE-PULVER (SYSTEM I)

| | |
|----------------------|------|
| D(+)-Glucose | 1.00 |
| D(+)-Galactose | 0.90 |
| D(+)-Mannose | 1.09 |
| L(+)-Arabinose | 1.11 |
| D(+)-Xylose | 1.25 |
| D(-)-Ribose | 1.42 |
| L(+)-Rhamnose | 1.52 |
| D(+)-Glucuronsäure | — |
| D(+)-Galacturonsäure | — |
| D(+)-Mannuronsäure | — |

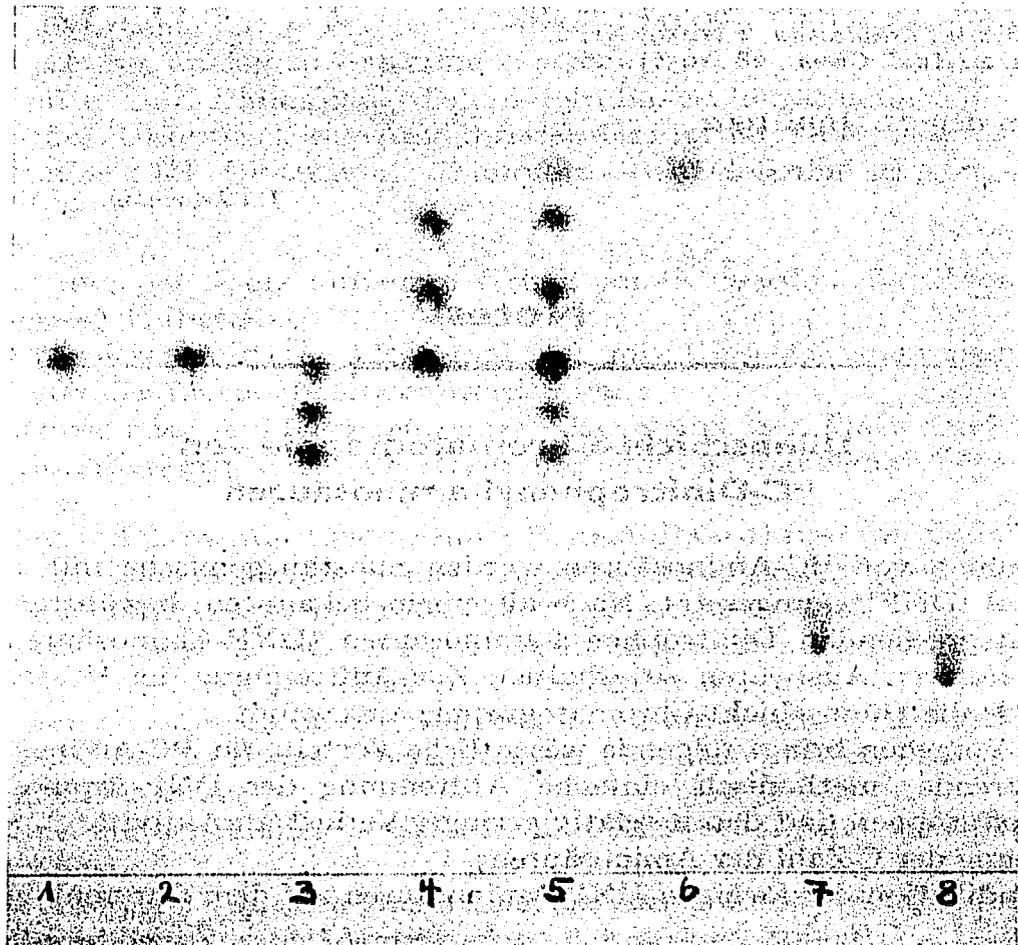


Fig. 1. Dünnschicht-Chromatographie von Zuckern auf einer Schicht von Cellulose-Pulver (2malige Chromatographie im System I). (1) Mannose; (2) Arabinose; (3) Galactose, Glucose, Mannose; (4) Arabinose, Xylose, Ribose; (5) Gemisch von 3,4 und 6; (6) Rhamnose; (7) Glucuronsäure; (8) Galacturonsäure. Von den Pentosen wurden je $1.25 \mu\text{g}$ aufgetragen, von den übrigen Zuckern je $2.5 \mu\text{g}$. Die Anfärbung erfolgte mit Anisidinphthalat.

Cellulose-Pulver kann hierbei mit einer 0.5%igen Lösung von Versen (Äthylendiamintetraessigsäure) vorbehandelt werden (Entfernung von Kationen).

Mit Hilfe des Verfahrens können sehr kleine Substanzmengen identifiziert werden. Die Nachweisgrenze bei Anfärbung mit Anisidinphthalat lag für Hexosen und Methylpentosen bei 0.5 μg , für Pentosen und Uronsäuren bei 0.1–0.2 μg . Optimal sind Konzentrationen von ca. 2 μg für Hexosen und ca. 1 μg für Pentosen.

Versuche zu einer quantitativen Auswertung der Chromatogramme sind im Gange.

Institut für Chemie und Physik,
Bundesanstalt für Fleischforschung,
Kulmbach (Deutschland)*

A. SCHWEIGER

- ¹ E. STAHL, *Z. Anal. Chem.*, 181 (1961) 311.
- ² E. STAHL UND U. KALTENBACH, *J. Chromatog.*, 5 (1961) 351.
- ³ R. GRAU UND A. SCHWEIGER, *Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch.*, (in Vorbereitung).
- ⁴ F. A. ISHERWOOD UND M. A. JERMYN, *Biochem. J.*, 48 (1951) 515.
- ⁵ S. M. PARTRIDGE, *Biochem. J.*, 42 (1948) 238.
- ⁶ H. SULSER, *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.*, 48 (1957) 19.
- ⁷ E. STAHL, *Pharm. Rundschau*, 1 (1959) Nr. 2.
- ⁸ J. B. PRIDHAM, *Anal. Chem.*, 28 (1956) 1967.

Eingegangen den 21. Juni 1962

* Direktor: Prof. Dr. R. GRAU.

J. Chromatog., 9 (1962) 374–376

Notes

Dünnschicht-Chromatographie von ¹⁴C-Dinitrophenyl-aminosäuren

Zur Abtrennung von ¹⁴C-Aminosäuren wurden Substanzgemische mit 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol (DNFB) umgesetzt. Nach allgemein bekannten, bewährten Verfahren sind die entsprechenden Dinitrophenyl-aminosäuren (DNP-Aminosäuren) in praktisch quantitativen Ausbeuten zu erhalten. Zur Auftrennung der ¹⁴C-DNP-Aminosäuren wurde die Dünnschicht-Chromatographie angewandt.

Dieses Vorgehen bringt folgende wesentliche Vorteile für ¹⁴C-Aminosäuren:

Zeitsparende, methodisch einfache Abtrennung der DNP-Aminosäuren von anderen Stoffgruppen und damit relativ geringer Verlust an Aktivität;

Erhaltung der C-Zahl der Aminosäuren;

Eigenindikation der farbigen DNP-Aminosäuren auf dem Chromatogramm.

Methoden

Aus Gäransätzen von Traubenmost mit Weinhefe unter Zusatz von L-¹⁴C-Glutaminsäure* isolierten wir neben ¹⁴C-Alkoholen unter anderen auch ¹⁴C-Aminosäuren. Die

* CFB 10 uniformly labelled, Radiochemical Centre, Amersham.