

Polyphosphat-Cellulose, ein neuer Kationenaustauscher Herstellung und Anwendung in der Dünnschicht-Chromatographie

Bei den handelsüblichen Cellulose-Kationenaustauschern handelt es sich ausnahmslos um sauer substituierte Cellulosen. Wir fanden, dass man Cellulose-Kationenaustauscher mit guter Trennfähigkeit erhält, wenn man basisch substituierte oder basisch imprägnierte^{1,2} Cellulosen mit Polyphosphat behandelt. Das Polyphosphat wird salzartig gebunden und haftet unter den üblichen Elutionsbedingungen sehr fest.

In der Dünnschicht-Chromatographie sind Kationenaustauscher bisher noch nicht verwendet worden. Die Herstellung von Polyphosphat-Cellulose (PP-Cellulose) für Dünnschicht-Chromatographie ist besonders einfach, wenn man das Polyphosphat an Polyäthylenimin-Cellulose^{1,2} bindet, wie das folgende Beispiel zeigt.

Herstellungsvorschrift

20 g Cellulosepulver MN 300 für Dünnschicht-Chromatographie* werden im Becherglas mit 120 ml einer 3 % Polyäthylenimin-Lösung** 5 min lang verrührt. Nach Zugabe von 200 ml dest. Wasser wird durch eine Glasfritte (G3) abgesaugt und zweimal mit je 120 ml dest. Wasser auf der Fritte gewaschen. Man kann auch auf der Zentrifuge waschen. Das noch feuchte Produkt wird im Becherglas mit 120 ml einer 20 % wässrigen Lösung von Grahamschem Salz*** 5 min lang verrührt. Man saugt wieder auf einer G3-Fritte ab, behandelt auf der Fritte mit 120 ml 0.25 % Salzsäure (ca. 2 min) und wäscht dann dreimal mit je 120 ml dest. Wasser. Man saugt die Waschflüssigkeit möglichst vollständig ab und schüttelt das noch feuchte Produkt in einem Erlenmeyerkolben mit 80 ml dest. Wasser 30 bis 45 sec lang kräftig durch. Die so erhaltene Suspension wird in üblicher Weise, entweder mit dem Stahlschen Streichgerät³ oder mit dem Serva-Streichstab†, auf entfettete Glasplatten aufgetragen. Bei einer Schichtdicke von 500 μ erhält man etwa 12 Platten (10 \times 20 cm). Man lässt die Schichten über Nacht bei Raumtemperatur trocknen. Um eine gerade Laufmittelfront zu erhalten, empfiehlt es sich, die Schicht an beiden Längsseiten mit einem Spatel etwa 5 mm breit abzustreifen. Ausserdem ritzt man am unteren Plattenrand parallel zu den Längsseiten etwa 2 cm lange und 0.5 mm breite Linien im Abstand von jeweils 5 mm in die Schicht ein.

Die so hergestellten PP-Cellulose-Schichten sind vollständig homogen und mechanisch so stabil, dass man auf ihnen wie auf Papier schreiben kann.

Trennbeispiele

Vor Ausführung der Chromatographie entwickelt man die Platten mit dest. Wasser vor und lässt sie anschliessend 15–20 Stunden lang an der Luft trocknen.

Die Kationenaustauscher-Schichten sind beispielsweise zur Trennung von Nucleobasen und Nucleosiden geeignet. Die Verbindungen werden 3 cm vom unteren Plattenrand entfernt aufgetragen.

* Fa. Macherey und Nagel, Düren, Rheinland, Deutschland.

** Eine 50 % Polyäthylenimin-Lösung ("Polymin P") wird von der Badischen Anilin- und Sodafabrik, Ludwigshafen a. Rh., Deutschland, hergestellt.

*** Natriummetaphosphat, Fa. Benckiser, Ludwigshafen a. Rh., Deutschland.

† Serva-Entwicklungslabor, Heidelberg, Deutschland.

Trennung von Nucleobasen. Laufmittel: 100 ml Citrat-HCl-Puffer nach Sørensen pH 3.7 [49,9 ml 0.1 N Salzsäure + 50.1 ml 0.1 M Natriumcitrat-Lösung (21.008 g Citronensäure-Monohydrat + 200 ml N-Natronlauge, aufgefüllt auf 1 l)] werden im Messkolben nach Zugabe von 0.01 Mol MgSO_4 (1.2039 g) mit dest. Wasser auf 500 ml aufgefüllt. Bei einer Laufstrecke von 7 cm (Laufzeit 25 bis 30 min im geschlossenen Gefäß) werden die Nucleobasen Uracil, Cytosin, Adenin und Guanin getrennt. Die R_F -Werte liegen zwischen 0.4 und 0.8, sie nehmen in der Reihenfolge Uracil > Cytosin > Adenin > Guanin ab. Nur Guanin zeigt eine gewisse Neigung zur Schwanzbildung; diese stört jedoch nicht, da Guanin die am langsamsten laufende Nucleobase ist.

Trennung von Nucleosiden. Laufmittel: 100 ml Citrat-HCl-Puffer nach Sørensen pH 3.7 (s. oben) werden nach Zugabe von 0.01 Mol MgSO_4 (1.2039 g) mit dest. Wasser auf 300 ml aufgefüllt. Bei einer Laufstrecke von 7 cm werden die Nucleoside Uridin, Cytidin, Adenosin und Guanosin getrennt. Die R_F -Werte liegen zwischen 0.5 und 0.9, sie nehmen in der Reihenfolge Uridin > Cytidin > Adenosin > Guanosin ab.

Zum Nachweis der Verbindungen betrachtet man das Chromatogramm im kurzwelligen U.V.-Licht*. Noch etwa $3 \cdot 10^{-4}$ μmol (0.04 μg) Adenin lassen sich unter den angegebenen Bedingungen in einem vollständig dunklen Raum mit blossem Auge erkennen. Die untere Nachweisgrenze von Adenin liegt bei der Papier-Chromatographie dagegen bei etwa 1 μg (Photoprintverfahren); bei Betrachtung mit blossem Auge ist die Empfindlichkeit noch geringer⁴. Bei Dünnschicht-Chromatographie auf nichtmodifizierter Cellulose lassen sich etwa 0.1 μg Adenin (mit blossem Auge) eben erkennen⁵.

Besonders vorteilhaft ist, dass sich auf PP-Cellulose-Schichten wesentlich grössere Mengen ohne Schwanzbildung chromatographieren lassen als auf Schichten aus nichtmodifizierter Cellulose. Die Chromatographie an den Kationenaustauscherschichten ist deshalb besonders zum Spurennachweis geeignet.

*Institut für Organische Chemie, Technische Hochschule,
Darmstadt (Deutschland)*

ERIKA RANDERATH**
KURT RANDERATH**

¹ K. RANDERATH, *Angew. Chem.*, 74 (1962) 780; *Intern. Ed.*, 1 (1962) 553.

² K. RANDERATH, *Biochim. Biophys. Acta*, 61 (1962) 852.

³ E. STAHL, *Chemiker-Z.*, 82 (1958) 323.

⁴ R. MARKHAM, in K. PAECH UND M. V. TRACEY (Herausgeber), *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, Bd. 4, 1955, S. 260 u. 263.

⁵ E. RANDERATH UND K. RANDERATH, unveröffentlichte Versuche.

Eingegangen den 8. Januar 1963

* Mineralight-Lampe der Fa. Ultraviolet Products, Inc., San Gabriel, Calif., U.S.A.

** Gegenwärtige Adresse: Huntington Laboratories of Harvard University, Massachusetts General Hospital, Boston 14, Mass., U.S.A.