

Die Anwendung vom Isatin-Cd-Komplex zum papierchromatographischen Nachweis von Aminosäuren

Chromatographischer Nachweis von Aminosäuren kan bei Anwendung verschiedener Entwicklungsreagenzien durchgeführt werden. Die meisten Entwickler aber, färben die Aminosäurenflecke in ähnliche Farbe, wenn man nicht über Ausnahmefälle spricht in denen manche Aminosäuren in verschiedene Farben gefärbt werden.

Die Intensität der angefärbten Flecke ist verschieden und hängt von der Konzentration der Aminosäuren ab, dabei ist die Dauerhaftigkeit der Flecke, bei der sie noch beurteilt werden können, bei Anwendung von verschiedenen Entwicklern nicht gleich, und nach kürzerer oder längerer Zeit dienen die angefärbten Flecke nicht mehr zum qualitativen sowie quantitativen Nachweis von Aminosäuren.

Gewisse Möglichkeiten einiger Modifikationen der Anfärbemethoden bieten die Arbeiten von BARROLLIER¹ und BODE². Diese Autoren haben zum genannten Zwecke Ninhydrin-Cd oder Ninhydrin-Cu-Komplexe angewendet. Die Entwicklung der Aminosäurenflecke mittels Ninhydrin gibt gute Resultate bei zweidimensionaler Trennung, jedoch bei chromatographischem Nachweis auf Rundfiltern bietet auch die Komplexfärbung Schwierigkeiten, die bei Untersuchung des biologischen Materials eine einwandfreie Identifizierung unmöglich machen.

Diese Chromatogramme können aber mit Erfolg mittels Isatins, 5-Bromisatins oder 5-Nitroisatins³ entwickelt werden. Ebenso gute Resultate erhielt KNAUT⁴ beim Anfärben der Aminosäurenflecke bei eindimensionaler Entwicklung, mittels eines Isatin-Cd-Komplexes. Das Entwicklungsreagens wurde als Acetonlösung hergestellt, die 0.2 % Isatin, 4 % Essigsäure und 0.06 % Cadmiumchlorid erhielt.

Die Aminosäurenflecke die nach dem Eintauchen des Bogens in das Reagens und nachfolgendem Austrocknen (bei 90° während 10 Min.) hervorgerufen wurden,

TABELLE I

<i>Folge</i>	<i>Aminosäure</i>	<i>Farbeton</i>	<i>Empfindlichkeit</i> ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	<i>R_F</i>
1	Cystein	lila-hellbraun	0.4	0.17
2	Cystin	rosa-violett	0.8	0.17
3	Lysin	karmin-lila	0.2	0.18
4	Histidin	violett-braun	0.4	0.19
5	Arginin	rötlich-rosa	0.4	0.19
6	Asparaginsäure	rosa-lila	0.2	0.31
7	Serin	siena	0.2	0.32
8	Glycin	rosa	0.2	0.33
9	Threonin	rosa-rot	0.4	0.36
10	Glutaminsäure	lila-rosa	0.2	0.37
11	Alanin	lila	0.1	0.39
12	Prolin	dunkelblau	0.05	0.41
13	Tyrosin	bläulich-grün	0.4	0.53
14	Methionin	rötlich-lila	0.4	0.57
15	Valin	rosa	0.2	0.57
16	Tryptophan	grau-braun	0.4	0.59
17	Norvalin	bläulich-lila	0.2	0.59
18	Phenylalanin	grau-blau	0.4	0.66
19	Isoleucin	rosa-lila	0.4	0.68
20	Leucin	karmin	0.4	0.72

haben den Farbton mehr ins Rot verschoben, als bei Entwicklung mit reinem Isatin-reagens. Es wurde die in Tabelle I folgende Reihe bei Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) nachgewiesen.

Die Farben entsprechen den Konzentrationen von 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Die entwickelten Bogen wurden mit Paraffin fixiert.

Gegenüber den mit reinem Isatin gefärbten Bogen wurde eine stärkere Intensität der mit Isatin-Cd-Komplex angefärbten Flecke beobachtet und eine grössere Farbdifferenz, besonders bei Mischungen von Aminosäuren mit naheliegenden R_F -Werten wie: Cys-SH, Cys-SS, Lys, Hist, Arg und Tyr, Met, Val, Try, Norval. Gewisse Schwierigkeiten bieten ähnliche Farben von Arginin, Glycin, Valin und Leucin, welche jedoch wegen ihrer grossen R_F -Unterschiede ziemlich leicht identifiziert werden können.

Die nebeneinander wandernden Aminosäuren weisen keinen gleichen Farbton in Konzentrationen von 0.8–4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ auf, und die Empfindlichkeit (siehe Tabelle I) der Farbreaktion ist gegenüber dem Isatin höher, und der Empfindlichkeit der Ninhydrinreaktion ähnlich⁵⁻⁷. Ausser obengenannten Eigenschaften, die dem besprochenen Isatin-Reagens einen Vorteil gegenüber reiner Isatin-Färbung geben, konnte festgestellt werden, dass die mit Isatin-Cd-Komplex gefärbten Bogen eine grössere Haltbarkeit aufweisen. Während die mit reinem Isatin gefärbten Flecke schon nach dreiwöchiger Aufbewahrung keine qualitative Auswertung gestatten, ist die mit Isatin-Cd-Komplex hervorgerufene Farbe noch nach derselben Zeit deutlich und die Flecke noch leicht erkennbar.

*Lehrstuhl Technischer Mikrobiologie der
Höheren Landwirtschaftsschule, Olsztyn (Polen)*

T. KNAUT

¹ J. BARROLLIER, *Naturwiss.*, 42 (1955) 416.

² F. BODE, *Biochem. Z.*, 326 (1955) 423.

³ J. NOWORYTKO UND M. SARNECKA-KELLER, *Acta Biochim. Polon.*, II, 1 (1955) 91.

⁴ T. KNAUT, 16. *Intern. Milchwirtschaftskongress*, II, 2 (1962) 828.

⁵ J. BLAETH-OPIENSKA, *et al.*, *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Lublin-Polonia*, D 11 (1956) 175.

⁶ A. SAIFER UND J. ORESKES, *Anal. Chem.*, 28 (1956) 501.

⁷ I. M. HAIŠ UND K. MAČEK, *Papírová chromatografie*, Praha, 1954.

Eingegangen den 3. Juli 1963

J. Chromatog., 13 (1964) 560–561

The exchange capacity of papers impregnated with zirconium phosphate

Papers impregnated with zirconium phosphate (ZP) have found extensive application in numerous problems¹; however, so far only two methods of preparation have been used.

ALBERTI AND GRASSINI² dipped papers into a 30 % solution of zirconyl chloride in 4 N HCl, while CABRAL³ used a 7 % solution; subsequent precipitation with excess H_3PO_4 and extensive washing with acid and water is practised in both methods.

J. Chromatog., 13 (1964) 561–564.