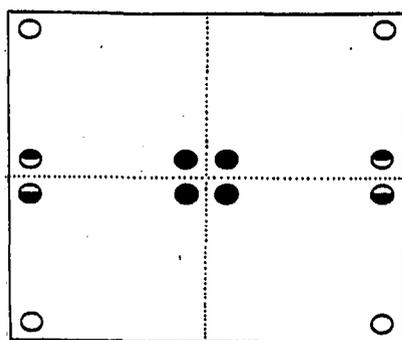


Ein Verfahren der zweidimensionalen quantitativen Papierchromatographie mit Eichstandards auf dem selben Papierbogen

Zur quantitativen papierchromatographischen Bestimmung von Aminosäuren wurde eine grosse Zahl von eindimensionalen¹⁻⁷ und zweidimensionalen⁸⁻¹² Verfahren entwickelt. Während die eindimensionale Papierchromatographie den Vorteil hat, dass leicht Vergleichsstandards auf dem selben Papierbogen aufgetragen werden können, ist es sehr nachteilig, dass etwa sechs Laufmittelsysteme gebraucht werden, um die in biologischem Material vorkommenden Aminosäuren auftrennen zu können. Beim zweidimensionalen Verfahren mit seinem weitaus grösseren Auflösungsvermögen muss man sich mit generell aufgestellten Eichkurven begnügen. Selbst unter möglichst konstanten Versuchsbedingungen ist es aber recht schwierig, eine gut reproduzierbare Farbentwicklung zu erreichen. Zu viele unkontrollierbare Einflüsse, wie Wassergehalt des Papiers⁴, Laufmittelrückstände im Papier⁴, Wasserdampfdruck im Heizofen⁴, und Oxydationszustand des Ninhydrinreagens⁷ beeinträchtigen die Reproduzierbarkeit.

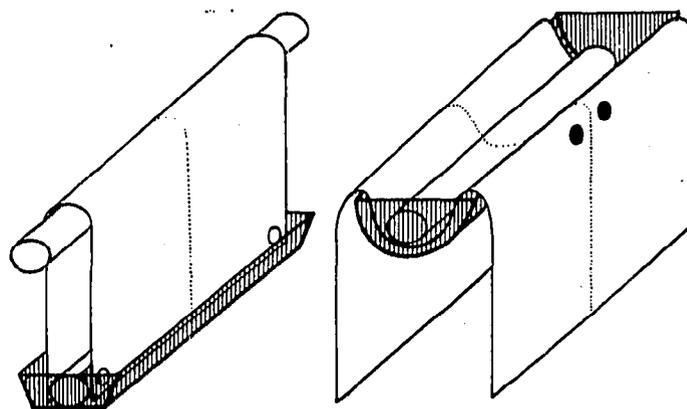
Um die Vorteile beider Methoden, nämlich hohes Auflösungsvermögen und individuelle Eichkurven für jedes Chromatogramm, zu kombinieren, werden auf etwa 65 × 65 cm grossen Bogen vier zweidimensionale Chromatogramme gleichzeitig hergestellt. Während ein oder zwei Startpunktet das zu untersuchende Gemisch auf-



○ aufsteigend ● absteigend
● kombiniert

Fig. 1.

Fig. 1. Lage der Auftragstellen für aufsteigende und absteigende Chromatographie, sowie für die Kombination beider Verfahren.



aufsteigend

Fig. 2a.

absteigend

Fig. 2b.

Fig. 2. Anordnung der Papiere im Trog bei aufsteigender und absteigender Chromatographie.

nehmen, dienen die zwei bzw. drei verbleibenden Startpunkte zum Auftragen des Vergleichsgemisches. (Zur Aufstellung einer Eichkurve bei spektralphotometrischer Auswertung des Ninhydrinkupferkomplexes sind minimal zwei Werte nötig⁴.) Je nach Lage der Startpunkte ist aufsteigende und absteigende Chromatographie, sowie eine Kombination beider Verfahren möglich (Fig. 1). Für aufsteigende Chromatographie wird das Blatt an einer Mittellinie gefaltet und über einen Glasstab gehängt (Fig. 2a). Die beiden herunterhängenden Seiten tauchen in die Wanne mit dem Laufmittel ein. Ein Glasstab in der Wanne verhindert, dass die beiden Seiten zusammenkleben. Für

absteigende Chromatographie wird der Bogen gemäss Fig. 2 b in eine Glaswanne eingelegt und mit einem Glasstab festgehalten. Nach dem ersten Lauf und Abdampfen des Laufmittels wird der Bogen senkrecht zur ersten Richtung gefaltet und der zweite Lauf erfolgt in analoger Weise. Durch Vergleich gleichgrosser Substanzmengen an den korrespondierenden Stellen der vier Teilchromatogramme konnte eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Farbbildung festgestellt werden. Während die Leerwerte des Papiers an verschiedenen Stellen eines Teilchromatogrammes recht charakteristisch verschieden sind, stimmen sie an korrespondierenden Stellen der vier Teilchromatogramme gut überein. Die Genauigkeit der Methode hängt natürlich davon ab, in welcher relativen Konzentration die zu bestimmende Aminosäure im Gemisch vorliegt. Unter Optimalbedingungen wurden bei jeweils vier Einzelbestimmungen Maximalabweichungen von etwa 5 % gefunden.

Das Verfahren hat sich in umfangreichen Serienuntersuchungen bewährt. Eine genaue Beschreibung der Methode, sowie Angaben über die Reproduzierbarkeit und über ein geeignetes Laufmittelsystem sollen einer grösseren Arbeit vorbehalten bleiben.

Die Arbeit wurde dankenswerter Weise durch eine DFG Sachbeihilfe unterstützt.

*Institut für Angewandte Zoologie der Universität Würzburg
(Deutschland)*

HANS BRUNNERT

- 1 E. F. MCFARREN, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 168.
- 2 R. R. REDFIELD UND E. S. GUZMAN BARRON, *Arch. Biochem. Biophys.*, 35 (1952) 443.
- 3 L. FOWDEN, *Biochem. J.*, 50 (1952) 355.
- 4 F. G. FISCHER UND H. DÖRFEL, *Biochem. Z.*, 324 (1953) 544.
- 5 J. R. ROLAND UND A. M. GROSS, *Anal. Chem.*, 26 (1954) 502.
- 6 I. DUBROVSKAIA, N. N. OSTROVSKAIA UND A. E. FLUBOKINA, *Biokhimiya*, 23 (1958) 489.
- 7 C. S. HANES, C. K. HARRIS, A. T. MATHESON, E. TIGANE, E. H. M. WACK AND J. TZE FEI WONG, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 39 (1961) 119, 141, 163, 417, 427, 439.
- 8 R. J. BLOCK, *Anal. Chem.*, 22 (1950) 1327.
- 9 R. A. BOISSONAS, *Helv. Chim. Acta*, 33 (1950) 1966, 1972, 1975.
- 10 A. L. LEVY UND D. CHUNG, *Anal. Chem.*, 25 (1953) 396.
- 11 F. TURBA, *Chromatographische Methoden in der Proteinchemie*, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1954.
- 12 L. B. ROCKLAND UND J. D. UNDERWOOD, *Anal. Chem.*, 26 (1954) 1557.

Eingegangen den 7. Juli 1964

J. Chromatog., 17 (1965) 620-621

Detection of chitin oligosaccharides on paper chromatograms

The chromatography of oligosaccharides in general has been reviewed by BAILEY AND PRIDHAM¹, and BARKER *et al.*² have presented some data on chromatography of chitin oligosaccharides using a pentan-2-ol-pyridine-water mixture followed by detection with alkaline silver nitrate. Many of the reagents which have been described for the detection of sugars on chromatograms depend upon a reaction with

J. Chromatog., 17 (1965) 621-623