

## Bestimmung von Asparagin und Glutamin in einem automatischen Mehrsäulenanalysator\*

In einem Standardchromatogramm mit einer Laufzeit von 6 St. ist mit einem Technicon Fünfsäulengerät (Durchmesser der Säulen 0.63 cm, Länge 75 cm, Füllung Technicon Chromobeads Type B) eine Trennung der Amide von Threonin und Serin nicht zu erreichen. Die genaue Bestimmung von Glutamin und Asparagin ist unbedingt erforderlich, da sie in fast jedem biologischen Material vorkommen.

Nach einem Vorschlag von MANGAN<sup>1</sup> können die Amide in einem Arbeitsgang abgetrennt werden, wobei allerdings der vordere Teil des Chromatogramms bei einer Temperatur von 30° entwickelt werden muss; die nach 2.5 St. erscheinenden Aminosäuren werden bei 60° eluiert. Der von MANGAN vorgeschlagene Puffergradient wurde für ein Einsäulengerät mit einer 120 cm langen Säule entwickelt.

Da bei einem Mehrsäulengerät eine Elution bei verschiedenen Temperaturen nicht durchführbar ist, wurde aus den für ein Sechsstundenchromatogramm benötigten Puffern (nur ein Puffer wird zusätzlich benötigt) ein geeigneter Gradient zusammengestellt, womit in einem 2.5 Stundenchromatogramm eine saubere Trennung

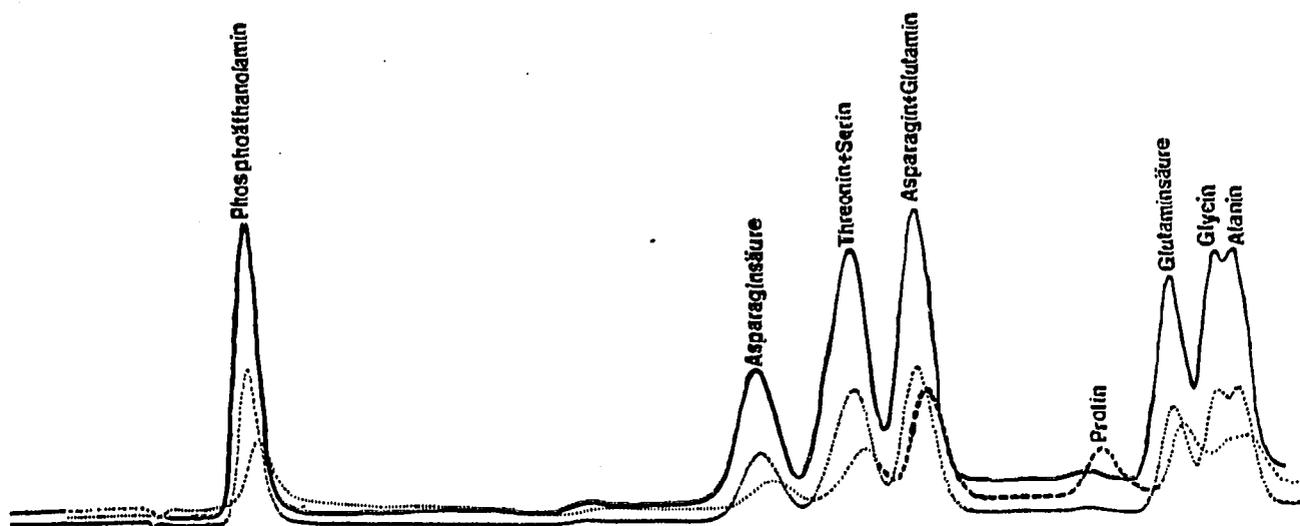


Fig. 1. Standardchromatogramm (0.1  $\mu$ Mol/Aminosäure).

### TABELLE I

#### PUFFERGRADIENT ZUR TRENUNG VON ASPARAGIN UND GLUTAMIN VON THREONIN UND SERIN

Die Puffer 2.75–3.8 sind 0.2 N bezogen auf Na<sup>+</sup>, Puffer pH 5.0 ist 0.8 N bezogen auf Na<sup>+</sup> (nach einem Rezept der Firma Technicon). Puffer 2.75 enthält 10 % Methanol. In jede Kammer werden 20 ml des angegebenen Puffers gefüllt. Die Durchsatzgeschwindigkeit betrug 0.5 ml/Min. Die Säulentemperatur war auf 26° eingestellt.

	Kammer								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Puffer pH	2.75	2.875	3.34	3.8	3.8	5.0	5.0	5.0	5.0

\* Die Untersuchungen wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

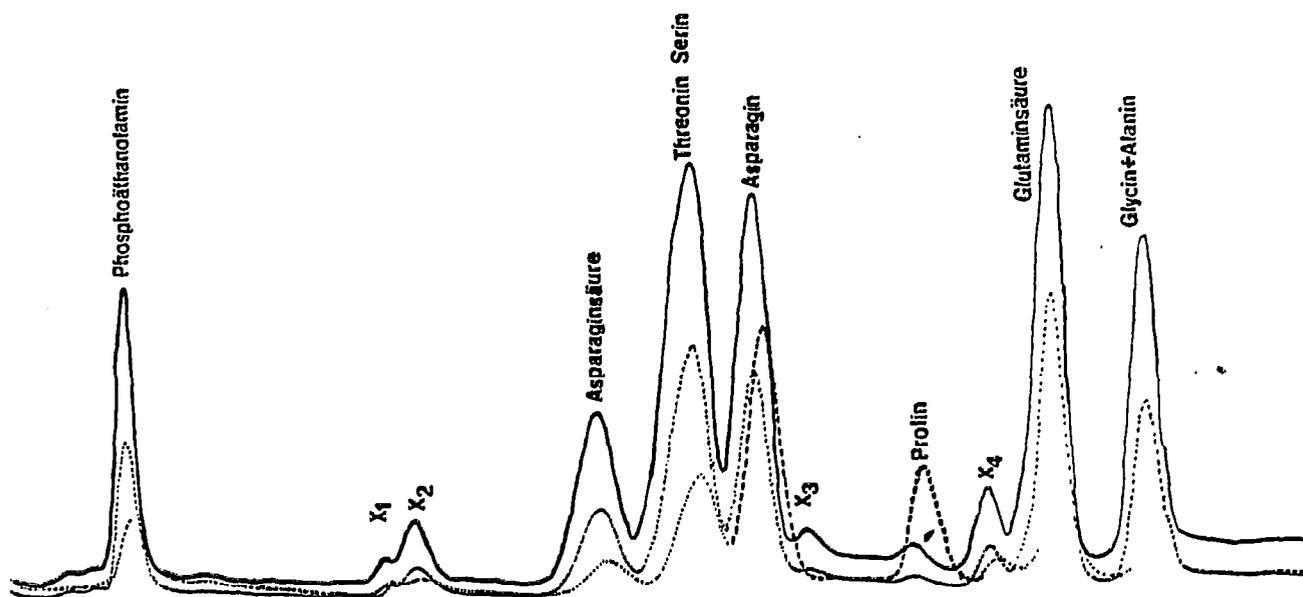


Fig. 2. Chromatogramm eines Pflanzenextraktes.  $X_1$ – $X_4$  sind unbekannte ninhydrinpositive Substanzen.

der Amide von Threonin und Serin gelingt. Darüber hinaus können Komponenten, die vor der Asparaginsäure liegen gut erfasst werden.

Fig. 1 zeigt ein Standardchromatogramm, wie es mit dem Gradienten (Tabelle I) erreicht wurde. Fig. 2 ist das Diagramm eines Pflanzenextraktes. Phosphoethanolamin wurde als interner Standard benutzt, da es mit Sicherheit nicht in dem zu untersuchenden Material vorkommt und an einer Stelle liegt, die von keiner anderen mit Ninhydrin reagierenden Substanz eingenommen wird.

Asparagin und Glutamin werden zusammen eluiert. Aus den Relationen der gemessenen maximalen Extinktionen bei 570 m $\mu$  und 440 nm lässt sich der Anteil an Asparagin und Glutamin errechnen (nach HOLY<sup>2</sup>).

*Institut für Bodenkunde der Universität,  
von Sieboldstr. 4, 34 Göttingen (Deutschland)*

H. LORENZ

<sup>1</sup> J. L. MANGAN, *4th Amino-Acid Colloq.*, Technicon Instr. Co., Ltd., 1966, S. 42.

<sup>2</sup> H. W. HOLY, *4th Amino-Acid Colloq.*, Technicon Instr., Co., Ltd., 1966, S. 40–41.

Eingegangen den 19. August 1966