

CHROM. 4055

Dünnschichtchromatographie von Uronsäuren, Uronsäurelactonen und Uroniden

Die Auftrennung von Uronsäuren, Uronsäurelactonen und Uroniden ist mittels Elektrophorese^{1,2}, Papier-¹, Ionenaustausch-^{1,3} oder Gaschromatographie⁴ möglich. Auch durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel⁵⁻⁷ oder an Cellulose^{8,9} lässt sich eine Differenzierung von Uronsäuren und Uronsäurelactonen erreichen.

Wir haben gefunden (Fig. 1), dass gute und reproduzierbare dünnschichtchromatographische Auftrennungen an "DC-Fertigplatten Kieselgel F 254" der Firma E. Merck AG (Darmstadt) zu erzielen sind bei Verwendung des Fliessmittels Aceton-Wasser-Benzylalkohol-Eisessig (65:26:22:5). Unter diesen Bedingungen sind allerdings D-Glucuronsäure und D-Iduronsäure sowie 1-Naphthyl- β -D-glucuronid und 2-Naphthyl- β -D-glucuronid nicht voneinander zu trennen.

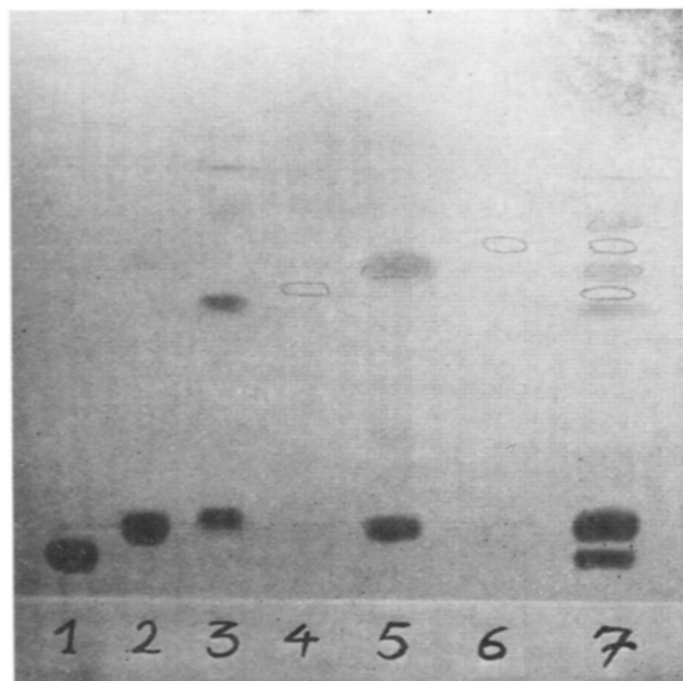


Fig. 1. Trennung von Uronsäuren, Uronsäurelactonen und Uroniden. (1) = D-Galakturonsäure; (2) = D-Glucuronsäure; (3) = D-Iduronsäure + D-Iduronsäurelacton + Isopropyliden-D-Iduronsäurelacton (in der Reihenfolge der R_F -Werte); (4) = 1 Naphthyl- β -D-glucuronid bzw. 2-Naphthyl- β -D-glucuronid; (5) = D-Glucuronsäure + D-Glucuronsäurelacton (in der Reihenfolge der R_F -Werte); (6) = *p*-Nitrophenyl- β -D-glucuronid; (7) = Gemisch.

Der Nachweis der Uronsäuren und der Lactone auf den entwickelten Chromatogrammen erfolgt durch Besprühen mit Naphthoresorcin-Trichloressigsäure (1 Raumteil einer 0.2% Lösung von Naphthoresorcin in Äthanol wird kurz vor Gebrauch mit 1 Raumteil einer 20% Lösung von Trichloressigsäure in Wasser vermischt) und 10-15 min Erhitzen auf 70-80°, wobei man blaue Flecken auf weissem Grund erhält. Bis 1 μ g Uronsäure bzw. Lacton kann so noch eindeutig nachgewiesen werden. *p*-Nitro-

phenyl- β -D-glucuronid, 1-Naphthyl- β -D-glucuronid und 2-Naphthyl- β -D-glucuronid, die häufig als Substrate zum Nachweis und zur Aktivitätsbestimmung von Glucuronidase dienen, ergeben mit dem Sprühreagenz keine Blaufärbung. Diese Glucuronide löschen aber die bei 254 nm anregbare Fluoreszenz der DC-Platten und können so auf den Chromatogrammen vor dem Besprühen mit dem Naphthoresorcin-Reagenz einwandfrei erkannt werden.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für eine Sachbeihilfe sowie Herrn Dr. E. A. DAVIDSON (Duke University) für die Überlassung von Isopropyliden-D-iduronsäurelacton.

*Institut für Physiologische Chemie der Universität
des Saarlandes, Homburg/Saar (B.R.D.)*

HERMANN JOSEF HAAS
GERD SCHWIERSCH

- 1 G. J. DUTTON, *Glucuronic Acid*, Academic Press, New York, London, 1966.
- 2 H. MAYER UND O. WESTPHAL, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 514.
- 3 L. A. FRAUSSON, L. RODEN UND L. M. SPACH, *Anal. Biochem.*, 23 (1968) 317.
- 4 A. CHEMINANT UND M. BRINI, *Bull. Soc. Chim. France*, (1966) 80.
- 5 G. W. HAY, B. A. LEWIS UND F. SMITH, *J. Chromatog.*, 11 (1963) 479.
- 6 Y. S. OVODOV, E. V. EVTUSHENKO, V. E. VASKOVSKY, R. G. OVODOVA UND T. F. SOLOV'eva, *J. Chromatog.*, 26 (1967) 111.
- 7 W. ERNST, *Anal. Chim. Acta*, 40 (1968) 161.
- 8 A. A. HORNER, *Can. J. Biochem.*, 45 (1967) 1015.
- 9 H. GÜNTHER UND A. SCHWEIGER, *J. Chromatog.*, 34 (1968) 498.

Eingegangen am 28. Februar 1969

J. Chromatog., 42 (1969) 124-125

CHROM. 4051

Mono- and bidimensional separation of oxyacids by thin-layer chromatography*

In the course of investigations, while trying to identify the degradation products of γ -irradiated D-glucose, a method was required for the analysis of a mixture of mono- and dicarboxylic oxyacids. Acid mixtures are easily separated using thin-layer chromatography. Some reports have been made on this subject: PASTUSKA¹ uses plates of 0.1 M boric acid-impregnated Kieselgel for the separation of galacturonic and glucuronic acids; dicarboxylic and carboxylic acids have been separated on silica gel by BRAUN AND GEENEN² and by PASTUSKA AND PETROWITZ³; a mixture of Kieselgel and Kieselguhr has also been used⁴; better separations have been obtained using highly purified cellulose⁵⁻⁷.

Experimental

Preparation of plates. A slurry of Cellulose MN 300 HR (Macherey, Nagel & Co.) in water (20 g/100 ml) was mechanically shaken for 2 min and applied to 20 × 20 cm

* Contribution No. 208 from the Laboratorio per le Applicazioni in Agricoltura del C.N.E.N., Centro Studi Nucleari della Casaccia S. Maria di Galeria, Rome, Italy.

J. Chromatog., 42 (1969) 125-128