

CHROM. 4589

Zur Dünnschichtchromatographie von Zuckergemischen

Bei der Untersuchung von Zuckergemischen stiessen wir auf unvorhergesehene Schwierigkeiten. Für eine exakte Trennung der Gemische bestand nur Aussicht auf Erfolg durch Anwendung chromatographischer Methoden. Hierfür schieden für unsere Zwecke papierchromatographische Methoden wegen der äusserst langen Laufzeiten als Schnellmethoden aus. Die zahlreichen in der Literatur beschriebenen dünn-schichtchromatographischen Verfahren befriedigten unsere an die Schärfe der Auftrennung gestellten Anforderungen nicht. Aus technischen Gründen konnte auch die gaschromatographische Schnelltrennung der Zucker als Trimethylsilylverbindungen nicht durchgeführt werden. Es musste daher in systematischer Arbeit nach neuen Kombinationen der stabilen bzw. der mobilen Phase zu einer besseren Auftrennung der Zuckergemische gesucht werden. Hierbei fanden wir, dass als stabile Phase die Verwendung von Kieselguhr nach STAHL UND KALTENBACH¹, Kieselgel nach PREY *et al.*² sowie PASTUSKA³, mit Borsäure vorpräpariertes Kieselgel nach PASTUSKA³, Magnesiumsilikat nach GRASSHOFF⁴, mit Natriumsulfit vorbehandelte Schichtplatten nach ADACHI⁵ oder mit Phosphat vorpräparierte Platten nach WALDI UND STAHL⁶ unseren Vorstellungen von einer ausreichenden Auftrennung nicht entsprachen.

Nach einigen nicht sehr erfolgreichen Versuchen mit Alusil Platten⁷ wurde eine neue Kombination für ein Laufmittel für Kieselgel Fertigplatten, das den Vorteil einer sehr kurzen Entwicklungszeit besitzt, nun in dem Lösungsmittelgemisch Acetonitril-Schwefelkohlenstoff-Wasser (85:5:10) gefunden. Die einfache Laufzeit beträgt etwa 15–20 Min. Allerdings ist es zur Erreichung einer guten Trennung zweckmässig, das Chromatogramm mehrere Male, am besten viermal, hintereinander zu entwickeln. Der geringe Zeitverlust durch das mehrmalige Entwickeln spielt gegenüber dem erzielten guten Trenneffekt keine Rolle. Bei dem System besteht eine nicht zu vernachlässigende Temperaturabhängigkeit der R_F -Werte. Temperaturen über 20° führen zu überhöhten R_F -Werten und unscharfen, diffusen Flecken. Um dies zu vermeiden, stellt man das Chromatographiergefäss in einen grossen Topf mit auf unter 15° vorgekühltem Wasser.

Das neue Laufmittelsystem gestattet es, Zuckergemische aus Ribose, Rhamnose, Arabinose, Xylose, Mannose, Glucose und Lactose aufzutrennen. Disaccharide wandern nur wenig vom Start weg (Fig. 1), karamellisierte Zucker verbleiben am Start.

In Tabelle I werden die auf Xylose = 100 bezogenen hR_{Xy1} -Werte der von uns untersuchten Zucker angegeben; die ermittelten Werte waren stets gut reproduzierbar.

Liegen einfachere Zuckergemische vor, z.B. Rhamnose, Xylose, Arabinose und Glucose, genügt eine zweimalige Entwicklung der Platte, um eine ausreichende Auftrennung mit scharf begrenzten Flecken zu erreichen.

Arbeitsvorschrift

Das verwendete Schichtmaterial war: (1) DC-Kieselgel-Fertigplatten (Fa. E. Merck) ohne Vorbehandlung und (2) selbstgefertigte "Alusil"-Platten aus Kieselgel G und Aluminiumoxid G (Fa. E. Merck).

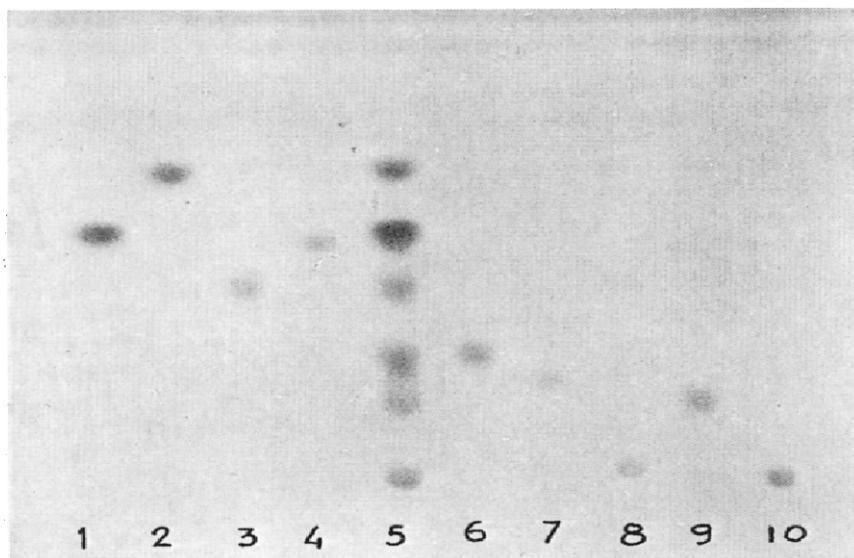


Fig. 1. Trennung eines Zuckergemisches auf DC-Fertigplatten (Merck). Laufmittel: Acetonitril-Schwefelkohlenstoff-Wasser (85:5:10). Kammersättigung. Laufhöhe: 14 cm (viermalige Entwicklung). Sprühreagenz: Anisaldehyd + H_2SO_4 in Äthanol. 1 = Ribose; 2 = Rhamnose; 3 = Arabinose; 4 = Xylose; 5 = Zuckergemisch aus 1-4 und 6-10; 6 = Mannose; 7 = Glucose; 8 = Maltose; 9 = Galactose; 10 = Lactose.

TABELLE I

DC-Fertigplatten Kieselgel (Merck). Laufmittel: Acetonitril-Schwefelkohlenstoff-Wasser (85:5:10). Sprühreagenz: Anisaldehyd + H_2SO_4 in Äthanol.

Zuckersubstanz	$hR_{X_{ut}}$ -Wert
Rhamnose	140
Ribose	107
Xylose	100
Arabinose	77
Mannose	46
Glucose	37
Galactose	30
Maltose	10
Lactose	8

Das Kieselgel G wird zur Entfernung von Eisenspuren, die sich sonst sehr störend bemerkbar machen, einer Vorreinigung mit Salzsäure nach einer Vorschrift von SEILER UND SEILER⁸ und RANDERATH⁹ unterworfen. Von dem gereinigten Kieselgel werden 15 g mit der gleichen Menge Aluminiumoxid unter Weglassung des Gipszusatzes⁷ gemischt, mit 60 ml Wasser in einem Erlenmeyerkolben zu einer homogenen Suspension geschüttelt und dann mit Hilfe eines Beschichtungsgerätes (Fa. Desaga) auf Glasplatten (Grösse 20 × 20 cm bzw. 10 × 20 cm) aufgetragen. Die verwendeten Mengen an Sorbens reichen für die Beschichtung von fünf Platten der Grösse 20 × 20 cm bzw. zehn Platten 10 × 20 cm bei einer Schichtdicke von 250 μ . Die Trocknung erfolgt über Nacht an der Luft. Die fertigen Platten bewahrt man zweckmässig in einem Schrank über einem Trockenmittel auf. Es ist tunlichst darauf zu achten, die Platten nicht längere Zeit der Laborluft auszusetzen.

Als Testlösungen wurden 1%ige Lösungen der Zucker in Wasser — besser löst man in Pyridin, da dann die Lösungen wochenlang im Kühlschrank ohne Veränderung haltbar sind, wie wir feststellen konnten — angesetzt und jeweils 3 μ l aufgetragen. Das Zuckergemisch war so angesetzt worden, dass in 10 ml von jedem Zucker 100 mg enthalten waren. Auch von dieser Lösung wurden jeweils 3 μ l aufgetragen. Als Laufmittel verwendet man das Lösungsgemisch Acetonitril-Schwefelkohlenstoff-Wasser (85:5:10). Die Gesamtlaufzeit beträgt bei viermaliger Entwicklung etwa 2 St.

Bei Verwendung von DC-Kieselgel-Fertigplatten erfolgt die Entwicklung bei Zimmertemperatur. Die Laufhöhe soll ohne Berücksichtigung des Schichtmaterials etwa 14 cm betragen. Verwendet man "Alusil"-Platten stellt man die Entwicklungskammer in ein Wasserbad von $<15^{\circ}$.

Als Sprühmittel verwendet man eine Lösung nach STAHL UND KALTENBACH¹ aus 9 ml Äthanol (98%ig), 0,5 ml Schwefelsäure conc. und 0,5 ml Anisaldehyd. Die besprühten Platten erhitzt man in einem Trockenschrank auf 100–105 $^{\circ}$, wobei eine Kontrolle des Fortschreitens der Farbentwicklung notwendig ist. Die Zuckerflecke treten deutlich mit Eigenfärbungen hervor¹⁰. Der Untergrund ist meist stark verfärbt, verblasst aber rasch nach dem Abkühlen. Zu einem besseren Erfolg führt das Nachsprühen mit wenig Wasser und Stehenlassen. Auch das Einstellen der Platten in eine Kammer mit wassergesättigter Atmosphäre führt zu dem gleichen Erfolg. Zu beachten ist, dass der Rhamnose-Fleck erst sehr verzögert sichtbar wird und daher leicht übersehen werden kann.

Die Färbungen der Zuckerflecke sind nicht lange haltbar und lassen sich leider auch nicht fixieren. Unter diesen Umständen ist man für die Dokumentation gezwungen, von den Chromatogrammen sofort Farbaufnahmen oder Farbskizzen anzufertigen.

*Analytisches Hauptlaboratorium der Kali-Chemie A.G.,
Hannover (B.R.D.)*

HEINZ WIELE
EDWIN HORAK

- 1 E. STAHL UND U. KALTENBACH, *J. Chromatog.*, 5 (1961) 351.
- 2 V. PREY, H. BERBALK UND M. KAUSZ, *Microchim. Acta*, (1961) 968.
- 3 G. PASTUSKA, *Z. Anal. Chem.*, 179 (1961) 427.
- 4 H. GRASSHOFF, *Deut. Apotheker-Ztg.*, 103 (1963) 1396.
- 5 S. ADACHI, *J. Chromatog.*, 17 (1965) 295.
- 6 D. WALDI UND E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer-Verlag, Berlin, 1962, S. 473ff.
- 7 D. WALDI, *J. Chromatog.*, 18 (1965) 417.
- 8 H. SEILER UND M. SEILER, *Helv. Chim. Acta*, 43 (1960) 1909.
- 9 K. RANDEATH, *Dünnschichtchromatographie*, Verlag Chemie, Weinheim, 1962, S. 223.
- 10 E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie, ein Laboratoriumshandbuch*, 2. Aufl., Springer-Verlag, Berlin, 1967, S. 773.

Eingegangen am 21. November 1969; geänderte Fassung am 12. Januar 1970

J. Chromatog., 47 (1970) 527–529