

CHROM. 5564

## Eine Möglichkeit zur Identifizierung von Zuckern aus kleinsten Mengen von Glykosiden oder aus Zuckergemischen

Über die Auftrennung und Identifizierung von Zuckern mittels Dünnschichtchromatographie (DC) wird im Schrifttum mehrfach berichtet. Bei der dünnschichtchromatographischen Analyse von Zuckergemischen, wie sie in Glykosiden gebunden häufig vorkommen, zeigt sich besonders die Unterscheidung von Ribose, Xylose, Rhamnose und Fucose auf den üblichen Kieselgelschichten als schwierig. Durch die Verwendung von Zellosoeschichten<sup>1</sup> oder Kieselgelschichten mit einem geringen Zusatz von Natriumbisulfit<sup>2</sup> können auch diese vier Zucker getrennt werden.

Zur Identifizierung der Zuckerkomponenten kleinster Glykosidmengen schlagen wir die Hydrolyse des Glykosides auf der DC-Platte mittels HCl-Dampf-Behandlung, wie sie von BAGGIOLINI UND DEWALD<sup>3</sup> für Ester, Amide und Hydrazide mitgeteilt wurde, vor, sowie die anschliessende dünnschichtchromatographische Trennung. Da die HCl-Dampf-Hydrolyse jedoch weder auf Zellosoeschichten noch auf Schichten mit Bisulfitzusatz durchgeführt werden kann, ohne dadurch die Trenneigenschaften der genannten Schichten zu verändern, verwenden wir zur hydrolytischen Abspaltung

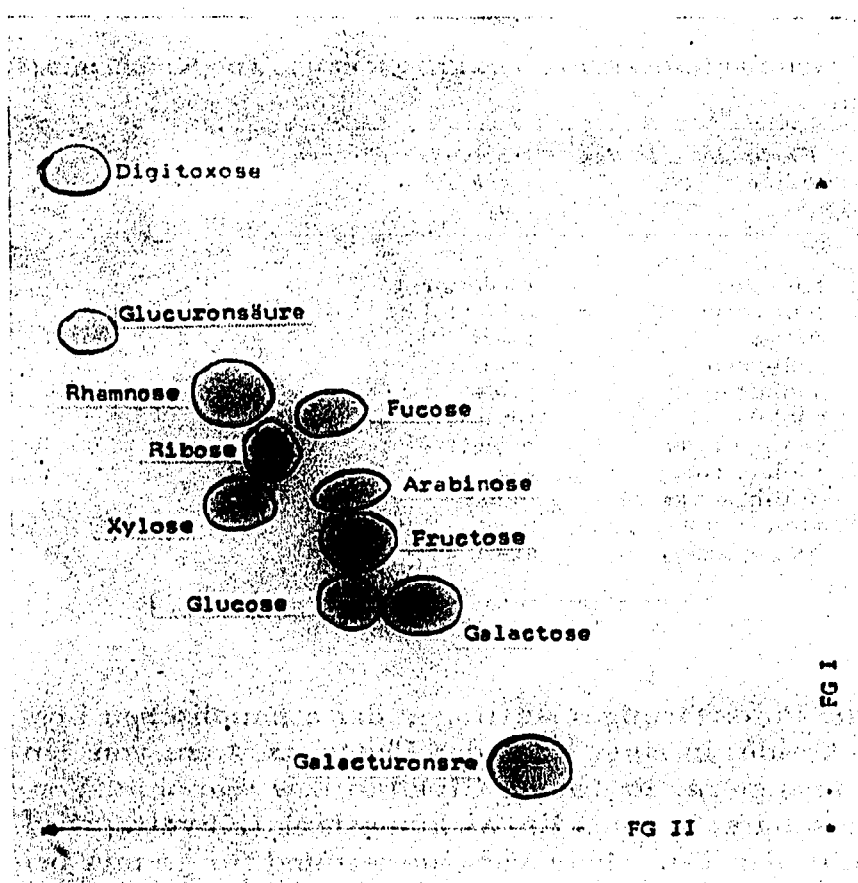


Fig. 1. Auftrennung verschiedener Zucker durch zwei-dimensionaler DC auf Kieselgel H. FG I = Chloroform-Methanol-Wasser (64:36:8); FG II = Äthylacetat-Methanol-Eisessig-Wasser (60:15:15:10).  $hR_F$ -Werte siehe Tabelle I.

und anschliessenden Identifizierung der Zucker unbehandelte Kieselgel-H-Schichten, von denen die HCl-Dämpfe im Luftstrom ohne Beeinflussung vertrieben werden können. Durch anschliessende zwei-dimensionale Entwicklung gelingt die Auftrennung der wichtigsten, in Glykosiden und Saponinen vorkommenden Zucker befriedigend (Fig. 1). Die Detektion erfolgt mit Thymol-Schwefelsäure, die die einzelnen Zucker unterschiedlich anfärbt, womit ein weiteres Unterscheidungsmerkmal gegeben ist. Über die Ergebnisse der Untersuchungen von Zuckerkomponenten verschiedener Saponine wird gesondert berichtet.

### Experimenteller Teil

*Dünnschichtchromatographie.* Sorptionsmittel: Kieselgel H; Plattengrösse 20 × 20 cm; Fliessmittelgemisch (FG) I: Chloroform-Methanol-Wasser (64:36:8); Fliessmittelgemisch II: Äthylacetat-Methanol-Eisessig-Wasser (60:15:15:10); Entwicklung: zwei-dimensional bei Zimmertemperatur; Laufstrecke: jeweils 18 cm; Laufzeit: jeweils *ca.* 75 min; Von den Zuckern wurden jeweils 3–5 µg aufgetragen. Die Erfassungsgrenze liegt bei 1–2 µg; Detektion: 0.5 g Thymol in 95 ml Äthanol + 5 ml Schwefelsäure (konz.). Nach dem Besprühen *ca.* 5 min bei 120° erhitzen.

TABELLE I

*hR<sub>F</sub>-WERTE VERSCHIEDENER ZUCKER NACH ZWEI-DIMENSIONALER ENTWICKLUNG AUF KIESELGEL H*  
Zusammensetzung der FG siehe Text.

Zucker	<i>hR<sub>F</sub>-Werte</i>		<i>Farbe der Flecken frisch</i>	<i>Farbe der Flecken nach 1 h</i>
	<i>FG I</i>	<i>FG II</i>		
Fructose	34	47	rosa-rot	violett-rot
Glucose	28	47	hell-rosa	hell-violett
Glucuronsäure	61	74	beige	grau
Galactose	28	41	hell-rosa	grau
Galacturonsäure	7	30	violett-rosa	grau
Ribose	46	58	violett	blau
Rhamnose	52	63	orange-rosa	violett
Xylose	41	59	violett-rot	blau
Fucose	49	53	orange-rosa	beige
Arabinose	39	50	violett-rot	blau
Digitoxose	80	73	rosa-grau	grau

*Hydrolyse auf der DC-Platte.* Punktförmiges Auftragen der äthanolischen Lösung des zu hydrolysierenden Glykosides in einer Ecke der Platte, *ca.* 2 cm von den beiden Rändern entfernt. Probenmenge *ca.* 20–100 µg Glykosid bzw. Saponin. Vorbereiten der HCl-Hydrolyse-Atmosphäre: in einen Entwicklungstank (Küvette) wird *ca.* 1 cm hoch HCl (36%) eingefüllt, der Tank dicht verschlossen und für 30 min bei 100° in einen Trocken- oder Brutschrank gebracht. Nach dem Sättigen der Küvette mit HCl-Dampf wird die DC-Platte in die Küvette auf zwei 2 cm hohe Glasklötze gestellt, um das Eintauchen in die HCl-Flüssigkeit zu vermeiden, die Küvette wieder