

CHROM. 11,011

## Note

### Simultane Bestimmung von reduzierenden Zuckern und Zuckeralkoholen

M. H. SIMATUPANG, M. SINNER und H. H. DIETRICH

*Institut für Holzchemie und chemische Technologie des Holzes der Bundesforschungsanstalt für Forst und Holzwirtschaft, Reinbek/Hamburg (B.R.D.)*

(Eingegangen am 19. August 1977; geänderte Fassung eingegangen am 15. März 1978)

Hydrolysate von verholzten Pflanzenmaterialien enthalten grössere Mengen an Glucose neben Mannose und/oder Xylose sowie kleinere Anteile Arabinose und Galactose. Durch katalytische Hydrierung dieser Zucker entstehen Zuckeralkohole. Zuckeralkohole haben eine gewisse technische Bedeutung und werden zum Teil auch als Süsstoff in Lebensmitteln verwendet. Die simultane Bestimmung eines Gemisches aus den obengenannten Zuckern und die durch katalytische Hydrierung daraus gewonnenen Alkohole wurde bereits beschrieben<sup>1</sup>. Diese verteilungschromatographische Methode mit einem Äthanol-Wassergemisch als mobile Phase ergab eine gute Trennung, ist jedoch zeitraubend. Die ionenaustauschchromatographische Trennung einiger Zuckeralkohole mit einem Stufengradienten<sup>2</sup> unter Verwendung eines Boratpuffers wurde ebenfalls in der Literatur beschrieben<sup>3,4</sup>. Nachfolgend wird eine einfache Methode zur simultanen Trennung von reduzierenden Zuckern und Zuckeralkoholen dargestellt.

#### EXPERIMENTELLES

Die verwendete Apparatur ist eine NC II P (Technicon, Frankfurt/Main, B.R.D.), die mit einer Glastrennsäule (250 × 5 mm) und einer Probenschleife ausgerüstet ist. Die Trennsäule war mit einem in der Boratform vorliegenden Anionenaustauscher (Typ Durrum DAX 4, Korngrösse 20 µm) gefüllt. Die mobile Phase wurde durch Auflösen von 0.11 M Kaliumtetraborat und 0.17 M Borsäure in 1 l<sup>5</sup> hergestellt. Für die angegebenen Trennungen wurde der Puffer verdünnt (4 Teile Boratpuffer und 1 Teil Wasser)<sup>6</sup>. In frischem Zustand hat der Boratpuffer einen pH-Wert von 8.8, wie es auch von Floridi<sup>5</sup> angegeben wird. Nach kurzer Zeit steigt der pH-Wert, bis er konstant auf 9.2 bleibt. Die hier angegebenen chromatographischen Trennungen wurden mit solch einem Puffer durchgeführt. Das Säuleneluat wurde in drei Teile zerlegt, zwei dienten der Bestimmung von Zuckeralkoholen und Zuckern. Der dritte Teil wurde in diesem Fall verworfen, kann aber gegebenenfalls für den Nachweis anderer Verbindungen verwendet oder in einem Fraktionsammler aufgefangen werden. Eine schematische Darstellung des Analysensystems zeigt Fig. 1.

Zum Nachweis reduzierender Zucker und Ketozucker diene Neocuproin<sup>7</sup> oder Orcin-Schwefelsäure<sup>5</sup>. Zuckeralkohole wurden zunächst mit 0.01 M Natriumperjodat in 0.1 N Schwefelsäure oxidiert<sup>2</sup>. Nach Zersetzung des überschüssigen Perjodats mit 0.5 M Natriumarsenit<sup>1</sup> wurde der gebildete Formaldehyd mit einem Gemisch aus 2

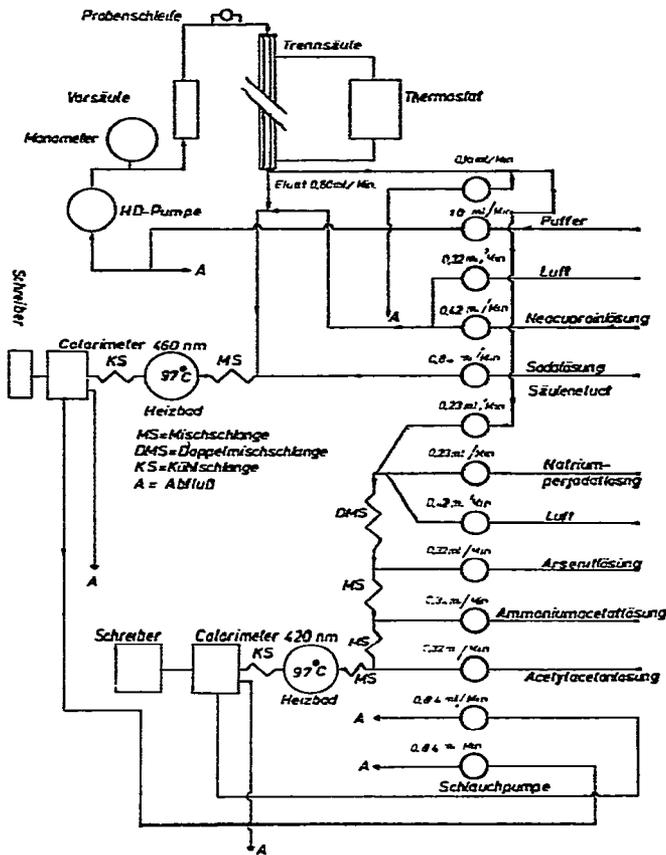


Fig. 1. Schema des Analysensystems zur simultanen Trennung von reduzierenden Zuckern und Zuckeralkoholen.

*M* Ammoniumacetat, 0.06 *M* Acetylaceton und 0.07 *M* Essigsäure<sup>8</sup> bei 420 nm nachgewiesen. Um das Fließverhalten des Flüssigkeitsstroms in dem Nachweissystem zu verbessern, ist der Zusatz eines Detergenzes (Brij-35) zu der Arsenitlösung erforderlich. Die verwendeten Chemikalien und Vergleichssubstanzen lieferten Merck (Darmstadt, B.R.D.), Riedel de Haen (Seelze-Hannover, B.R.D.) und Serva (Heidelberg, B.R.D.).

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Ein Chromatogramm eines Gemisches aus reduzierenden Zuckern, das etwa der Zusammensetzung eines Fichtenholzhydrolysates entspricht, sowie von Zuckeralkoholen, die aus solch einem Hydrolysat gewonnen werden könnten, ist in Fig. 2 dargestellt. Für die reduzierenden Zucker wird eine ausreichende Trennung erzielt. Mannit und Galactit sind dagegen bei dieser Analyse nicht voneinander getrennt. Durch eine reduzierte Durchflussgeschwindigkeit des Boratpuffers von 0.8 ml auf 0.5 ml pro min sind diese beiden Zuckeralkohole zu trennen (Fig. 3). Einfacher ist es,

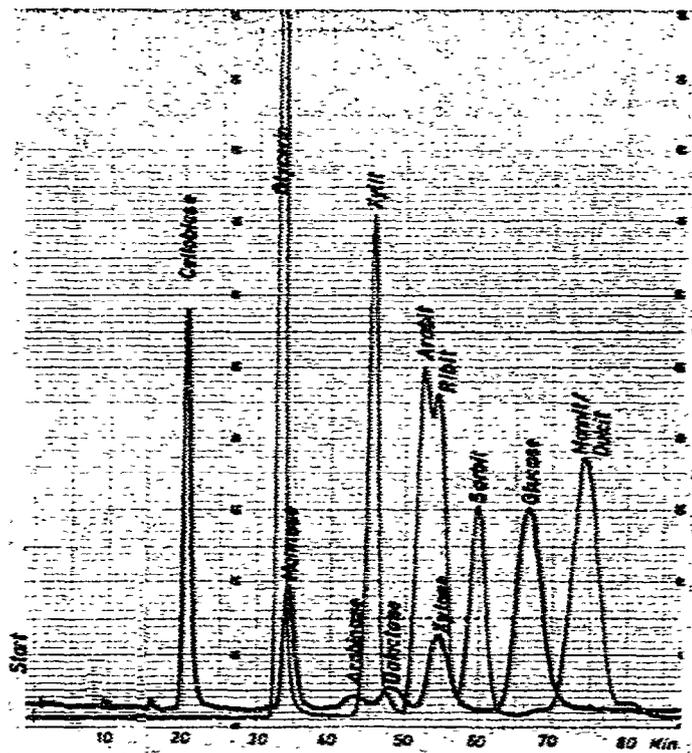


Fig. 2. Chromatographische Trennung eines Gemisches aus reduzierenden Zuckern und Zuckeralkoholen. Trennsäule:  $250 \times 5$  mm. Temperatur  $55^\circ$ . Mobile Phase:  $0.488 M$  Boratpuffer, pH 9.2,  $0.8$  ml/min. Nachweissystem wie im Fig. 1 mit Neocuproin. Aufgetragene Menge Cellobiose:  $20 \gamma$ , Mannose  $18 \gamma$ , Arabinose  $6 \gamma$ , Galactose  $12 \gamma$ , Xylose  $14 \gamma$  und Glucose  $50 \gamma$ . Zuckeralkohole je  $20 \gamma$ ; Schreiber: Vollausschlag:  $0.5 E$ .

wenn die Temperatur der Trennsäule erhöht wird. Eine Temperatur von  $70^\circ$  erlaubt bereits eine ausreichende Trennung, um orientierungsweise entscheiden zu können, ob eine Probe Mannit oder Galactit enthält. Zur Orientierung wurde Lactose bei  $55^\circ$ ,  $60^\circ$  und  $70^\circ$  chromatographisch getrennt. Unter diesen Bedingungen kann keine Isomerisierung von Lactose, wie sie von Carubelli<sup>9</sup> beobachtet wurde, festgestellt werden. Der Grund dürfte die kürzere Verweilzeit des Zuckers auf der Säule sein.

Das hier beschriebene Einpuffersystem ermöglicht die Trennung von Saccharose, Maltose, Ribose, Mannose, Arabinose, Galactose, Xylose und Glucose sowie die der Zuckeralkohole Glycerin, Xylit, Arabit, Ribit, Glucit (Sorbit), Mannit und Galactit (Dulcitol). Die Nachweisgrenze mit der Neocuproinmethode für Arabinose ist  $0.3 \gamma$  und mit der Perjodatmethode für Arabit  $0.15 \gamma$ . Lactose kommt zusammen mit Maltose, während Rhamnose nicht von Ribose getrennt werden kann. Fructose kommt vor Arabinose und zeigt eine einigermaßen gute Trennung. Während die reduzierenden Zucker mit Neocuproin nachgewiesen werden können, ist für Saccharose nur Orcin-Schwefelsäure brauchbar.

Ein Einpufferverfahren hat den Vorteil, dass die Säule vor jeder Analyse nicht konditioniert zu werden braucht. Somit kann kontinuierlich analysiert werden, wie

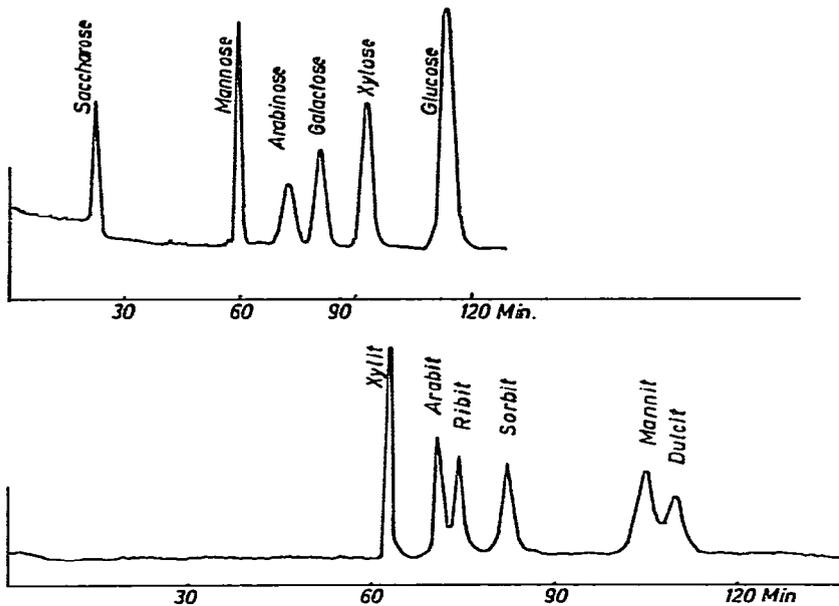


Fig. 3. Chromatographische Trennung eines Gemisches aus Zuckern und Zuckeralkoholen. Trennbedingungen ähnlich wie im Fig. 2, nur Durchflussgeschwindigkeit 0.5 ml/min. Nachweissystem: Zuckeralkohole ähnlich wie im Fig. 1 und Zucker mit Orcin-Schwefelsäure. Auftragsmenge: Saccharose 5  $\gamma$  und von allen anderen Verbindungen die Hälfte der Menge auf Fig. 2. Schreiber: Vollausschlag 0.5 E.

es bereits für Hydrolysate mit Erfolg angewendet wird<sup>6</sup>. Bei einer genauen Kenntnis der in der Probe vorhandenen Kohlenhydrate ist das Einpufferverfahren eine brauchbare Methode, Zucker und Zuckeralkohole zu bestimmen.

#### LITERATUR

- 1 O. Samuelson und H. Strömberg, *Carbohydr. Res.*, 3 (1966) 89.
- 2 N. Spencer, *J. Chromatogr.*, 30 (1967) 566.
- 3 L. Hough, A. M. Y. Ko und P. Wustemann, *Carbohydr. Res.*, 44 (1975) 97.
- 4 K. Larsson und O. Samuelson, *Carbohydr. Res.*, 50 (1976) 1.
- 5 A. Floridi, *J. Chromatogr.*, 59 (1971) 61.
- 6 M. Sinner, M. H. Simatupang und H. H. Dietrichs, *Wood Sci. Technol.*, 9 (1975) 307.
- 7 M. H. Simatupang und H. H. Dietrichs, *Chromatographia*, 11 (1978) 89.
- 8 H. Cho Tun, J. F. Kennedy, M. Stacey und R. R. Woodbury, *Carbohydr. Res.*, 11 (1969) 225.
- 9 R. Carubelli, *Carbohydr. Res.*, 2 (1966) 480.