

CHROM. 11,530

Note

Chromatographie sur couche mince des principaux aldoses

J.-P. PAPIN et M. UDIMAN

Département Analytique, Pharmindustrie S.A.*, B.P. No. 158, 92231 Gennevilliers Cédex (France)

(Reçu le 13 octobre 1978)

Nous nous proposons de compléter un précédent travail sur les cétooses¹ par la séparation des aldoses par chromatographie sur couche mince (CCM). Bien que très étudié, ce sujet n'a, à notre connaissance, jamais fait l'objet d'une publication comportant tous les aldoses de C₃ à C₆. Nous y avons ajouté un heptose et sept désoxyaldoses.

Nous proposons une méthode par chromatographie sur couche mince qui utilise des plaques toutes préparées du commerce et ne nécessite ni imprégnation, ni traitement préalable.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Aldoses de référence (Tableau I)

Le D-thréose, non disponible commercialement, a été préparé au laboratoire par oxydation du D-galactose au tétracétate de plomb².

Technique chromatographique

Plaques chromatographiques. Nous avons utilisé les plaques finies pour CCM, 20 × 20 cm (E. Merck, Darmstadt, R.F.A., Art. 5721) de gel de silice 60, épaisseur de 0.25 mm sur support de verre.

Dépôts. Le dépôt, ponctiforme sous un volume de 1 µl correspondant à environ 2-5 µg d'aldose, est effectué à 1.5 cm du bord inférieur de la plaque. La plaque est déposée dans la cuve contenant le solvant préparé une heure avant utilisation. La migration ascendante est effectuée sur une longueur de 15 cm. Le séchage se fait à l'air chaud.

Solvants d'éluion (Tableau II). Nous avons retenu huit solvants de préparation directe par simple mélange.

Détection des taches. La révélation est effectuée par une méthode classique³: pulvérisation d'une solution de naphthalène diol-1,3 (naphtorésorcinol) à 0.2% dans l'éthanol contenant 5% d'acide sulfurique concentré, suivie d'un chauffage à 105-110° pendant 10 min. Les aldoses donnent des colorations variées et assez caractéristiques; elles sont mentionnées dans le Tableau III. Les cétooses¹ donnent des colorations différentes, entre autre les cétohexoses présentent une coloration rouge vif, ce qui permet de les différencier des aldohexoses.

* Filiale de Péchiney-Ugine-Kuhlmann S.A.

TABLEAU I
PRODUITS ÉTUDIÉS

	<i>Composé</i>	<i>Origine</i>
C ₃	D,L-Glycéraldéhyde	Fluka (Buchs, Suisse)
C ₄	D-Érythrose D-Thréose*	Fluka
C ₅	L-Arabinose D-Ribose D-Lyxose D-Xylose	Fluka Merck (Darmstadt, R.F.A.) Fluka Fluka
C ₆	D-Allose D-Altrose D-Mannose D-Glucose D(+)-Talose D-Galactose D-Idose D-Gulose	Sigma (St. Louis, Mo., E.U.) Sigma Fluka Prolabo (Paris, France) Fluka Fluka Sigma Sigma
C ₇	D-Glucoheptose	Sigma
Désoxy	D(+)-Digitoxose Désoxy-2-D-ribose Désoxy-2-D-glucose Désoxy-6-D-glucose Désoxy-2-D-galactose L-Rhamnose D-Fucose	Merck Merck Merck Koch-Light (Colbrook, Angleterre) Fluka Fluka Fluka

* Produit préparé au laboratoire.

TABLEAU II
SOLVANTS D'ÉLUTION

<i>No.</i>	<i>Solvant</i>	<i>Préparation</i>	<i>Bibliographie</i>
1	Isopropanol-acétate d'éthyle-eau	83:11:6	3
2	n-Butanol-acétone-eau	40:50:10	4
3	Acétone-eau	90:10	5
4	Isopropanol-acétate d'éthyle-eau	60:30:10	
5	Isopropanol-acétate d'éthyle-eau	50:40:10	
6	n-Butanol-méthanol-eau	50:30:10	6
7	Éthanol-isobutanol-eau	60:30:10	7
8	Méthyléthylcétone-acide acétique-solution aqueuse saturée d'acide borique	90:10:10	8

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les R_F , obtenus par la méthode décrite, sont donnés à titre indicatif, car ils varient légèrement selon les conditions de la manipulation; les R_G correspondent au rapport R_F de l'aldose/ R_F du glucose (Tableau IV).

En examinant ce tableau, la constatation suivante peut être faite: sauf en ce qui

TABLEAU III
 COLORATIONS OBTENUES AVEC LE NAPHTALÈNE DIOL-1,3

	<i>Aldose</i>	<i>Couleur</i>
C ₃	Glycéraldéhyde	Lilas
C ₄	Érythrose	Bleu vif
	Thréose	Bleu vif
C ₅	Arabinose	Bleu violacé
	Ribose	Bleu violacé
	Lyxose	Bleu
	Xylose	Bleu violacé
C ₆	Allose	Rose violacé
	Altrose	Bleu violacé
	Mannose	Bleu violacé
	Glucose	Rose violacé
	Talose	Violet
	Galactose	Violet
	Idose	Bleu violacé
	Gulose	Bleu violacé
C ₇	Glucoheptose	Violet
Désoxy	Digitoxose	Gris vert
	Désoxy-2-ribose	Jaune vert
	Désoxy-2-glucose	Gris vert
	Désoxy-6-glucose	Rose
	Désoxy-2-galactose	Gris vert
	Rhamnose	Violet
	Fucose	Rose violacé

concerne les désoxyaldoses, la migration est, assez globalement, inversement proportionnelle au poids moléculaire de l'aldose. Mais des chevauchements sont observés, par exemple entre les aldopentoses et aldohexoses, phénomène que nous n'avions pas constatés lors de la séparation des différentes familles d'alditols¹⁰. En revanche, ce chevauchement a déjà été décrit pour les cétooses¹ et son explication doit être très voisine de celle fournie alors (cyclisation). C'est dans ces cas-là que la diversité des couleurs, produite par le mode de révélation, présente tout son intérêt, soit pour différencier les aldoses entre eux, soit pour les distinguer des cétooses.

En combinant les différentes chromatographies utilisant les cinq premiers solvants de migration, la plupart des aldoses peuvent être aisément identifiés. Deux exceptions, cependant, sont à noter: L'allose et le glucose ont des R_F très voisins dans ces cinq premiers solvants. Si une tache est trouvée à ce niveau, il faut employer alors le solvant 6 ou 7, qui les sépare mieux. De même le xylose et le lyxose ont un même R_F dans les sept premiers solvants utilisés. Il est nécessaire pour les identifier convenablement de les complexer à l'aide d'acide borique: le solvant 8 assure une très bonne différenciation de ces deux pentoses.

Les désoxyaldoses sont séparables aisément à l'aide des cinq premiers solvants, mais ils ont parfois des R_F proches de ceux des aldoses. La différence de coloration à la révélation permet aussi, dans ce cas, de régler cette difficulté.

TABLEAU IV

VALEURS DES R_F ET R_G ($\times 100$)

Solvants d'éluion 1 à 8, voir Tableau II.

	Aldose	Solvant															
		1		2		3		4		5		6		7		8	
		R_F	R_G	R_F	R_G	R_F	R_G	R_F	R_G	R_F	R_G	R_F	R_G	R_F	R_G	R_F	R_G
C_3	Glycéraldéhyde	75	300	77	266	trainée	73	252	75	278	68	166	76	158	36	278	
C_4	Érythrose	63	252	65	224	74	239	67	231	68	252	58	141	68	142	35	269
	Thréose	75	300	71	245	83	268	75	259	78	289	63	154	73	152	43	330
C_5	Arabinose	31	124	38	131	43	139	35	121	35	130	43	105	50	104	17	131
	Ribose	38	152	47	162	55	177	45	155	46	170	45	110	54	112	32	246
	Lyxose	51	204	53	183	60	194	54	186	53	196	53	129	62	129	27	208
	Xylose	50	200	51	176	59	190	53	183	53	196	53	129	62	129	23	177
C_6	Allose	24	96	30	103	32	103	28	97	26	96	38	93	45	94	10	77
	Altrose	41	164	43	148	49	158	45	155	43	159	47	115	57	119	17	131
	Mannose	32	128	35	121	37	119	37	128	35	130	43	105	52	108	16	123
	Glucose	25	100	29	100	31	100	29	100	27	100	41	100	48	100	13	100
	Talose	25	100	35	121	35	113	32	110	31	115	36	88	43	90	26	200
	Galactose	19	76	23	79	23	74	21	72	19	70	34	83	38	79	10	77
	Idose	43	172	47	162	55	177	48	166	48	178	47	115	57	119	9	69
	Gulose	30	120	33	114	35	113	33	114	30	111	41	100	49	102	17	131
C_7	Glucoheptose	18	72	20	69	22	71	19	66	18	67	33	80	38	79	13	100
Désoxy	Digitoxose	80	320	82	283	89	287	87	300	87	322	71	173	77	160	64	492
	Désoxy-2-ribose	69	276	69	238	78	252	73	252	73	270	62	151	70	146	45	346
	Désoxy-2-glucose	68	272	65	224	72	232	71	245	69	256	63	154	70	146	35	269
	Désoxy-6-glucose	62	248	63	217	72	232	67	231	67	248	63	154	71	148	33	254
	Désoxy-2-galactose	61	244	59	203	65	210	63	217	59	219	59	144	66	137	32	246
	Rhamnose	67	268	67	231	78	252	71	245	71	263	64	156	71	148	38	292
	Fucose	45	180	51	176	54	174	48	166	45	167	52	127	61	127	23	177

Choix du solvant à utiliser en fonction de la famille d'aldoses

Pour séparer les aldoses en C_3 et C_4 , le meilleur solvant est le solvant 2. Les C_5 ne sont tous séparés que par le solvant 8. Pour les C_6 , le problème est plus complexe: les deux solvants donnant la meilleure séparation sont les solvants 4 et 5. Mais ceux-ci séparent mal ou pas du tout, d'une part l'allose du glucose, d'autre part le gulose du talose. Nous avons déjà vu que le glucose ne se différencie de l'allose que dans les solvants 6 et 7. Le gulose se différencie très bien du talose dans les solvants 1, 6, 7 et 8. La meilleure séparation du glucoheptose est obtenue par le solvant 2 qui permet de l'isoler du galactose.

En ce qui concerne les désoxyaldoses, la meilleure séparation est obtenue dans le solvant 3, sauf deux exceptions qui concernent: les désoxy-2- et -6-glucose qui se séparent très bien dans les solvants 1 et 4, le rhamnose et le désoxy-2-ribose qui se séparent dans le solvant 8.

La méthode proposée permet de séparer les différents aldoses, soit en solution pure, soit à partir d'un hydrolysats de polyosides.

CONCLUSION

Un certain nombre de solvants d'élution a été proposé pour la chromatographie sur couche mince des aldoses. La technique peut s'appliquer non seulement aux solutions pures, mais aussi aux hydrolysats de polysides.

REMERCIEMENTS

Nous remercions MM. les Professeurs J.-E. Courtois et J. Storck de l'intérêt qu'ils ont bien voulu montrer pour ce travail et de leurs conseils.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 J.-P. Papin et M. Udiman, *J. Chromatogr.*, 132 (1977) 339.
- 2 A. S. Perlin, *Methods Carbohydr. Chem.*, 1 (1962) 64.
- 3 L. Wassermann et H. Hanus, *Naturwissenschaften*, 50 (1963) 351.
- 4 C. Conain, I. Gallo et M. A. Capitano, *Biochim. Biol. Sper.*, 4 (1965) 217.
- 5 P. G. Pifferi, *Anal. Chem.*, 37 (1965) 925.
- 6 S. Clermont-Beaugiraud, *Qual. Plant. Mater. Veg.*, 16 (1968) 92.
- 7 F. Tateo, *Sci. Aliment.*, 16 (1970) 150.
- 8 J. F. Kennedy, *Chromatographia*, 3 (1970) 316.
- 9 E. Stahl, *Thin-Layer Chromatography*, Springer-Verlag, Berlin, New York, 2ème éd., 1969, p. 888.
- 10 J.-P. Papin et M. Udiman, *J. Chromatogr.*, 115 (1975) 267.