

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE VAPEUR
DE SUCRES A L'ETAT DE TRIFLUORACETATES

M. Vilkas, Hiu-I-Jan, Mme G. Boussac
et Mme M.-C. Bonnard

Laboratoire de Chimie de l'Ecole Normale Supérieure, Paris 5è

(Received 21 December 1965)

La chromatographie en phase vapeur de mono- ou polysaccharides nécessite leur transformation préalable en dérivés volatils tels que éthers méthyliques ou acétates (1). Par leur facilité de préparation, les dérivés triméthylsilylés se sont révélés d'un emploi particulièrement commode (2). Nous présentons ici une nouvelle méthode d'analyse par chromatographie en phase vapeur (CPV) de sucres préalablement estérifiés au moyen d'anhydride trifluoracétique.

Ce réactif commence à être utilisé avec succès pour la séparation par CPV des esters (méthyliques ou autres) d'amino-acides N-trifluoracétylés (3). Dans le domaine des sucres et polyols il ne semble pas avoir servi jusqu'à présent, à l'exception de la préparation du di-trifluoracétate-5, 6 du di-O-éthylidène-1,3-2,4 glucitol (4).

Le glucose (4-5 mg) se dissout facilement dans 0,2 ml d'un mélange à volumes égaux d'acétonitrile sec et d'anhydride trifluoracétique, contenant 10 % en poids par volume de trifluoracétate de sodium sec, et tiédi vers 50° - 60°. Cette solution fraîchement préparée et directement injectée à l'entrée d'une colonne imprégnée de silicone, maintenue à 130°, donne le chromatogramme de la figure 1. Après le pic du mélange réactif-solvant, l'éluion du dérivé trifluoracétylé du glucose se traduit par deux pics, de temps de rétention 7 et 9 minutes, correspondant probablement aux deux anomères. A 150° les produits sortent environ deux fois plus vite. Les autres sucres que nous avons testés se comportent d'une façon semblable ; leurs temps de rétention sont reportés dans le tableau.

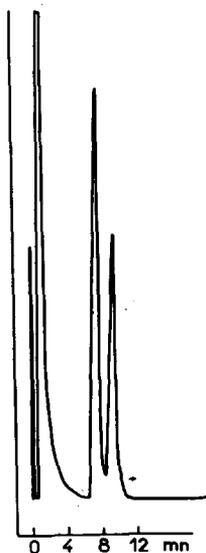


FIG. 1

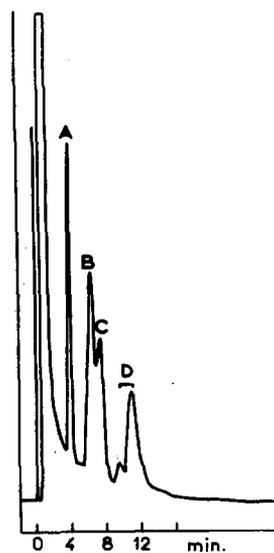


FIG. 2

A : arabinose B : galactose
C : fructose D : mannose

On voit d'après ce tableau que les temps de rétention varient suffisamment d'un sucre à l'autre pour qu'il soit possible d'analyser de cette façon un mélange complexe. La figure 2 reproduit un exemple de séparation d'un mélange d'arabinose, galactose, fructose et mannose. Dans certains cas (arabinose-xylose ; galactose-sorbose) les pics sont confondus ; il est possible que l'emploi d'une autre phase stationnaire permette leur séparation.

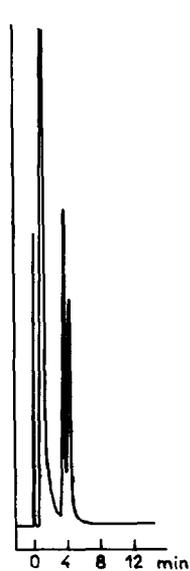


FIG. 3 A
Glucose trifluoracétylé
à 150°

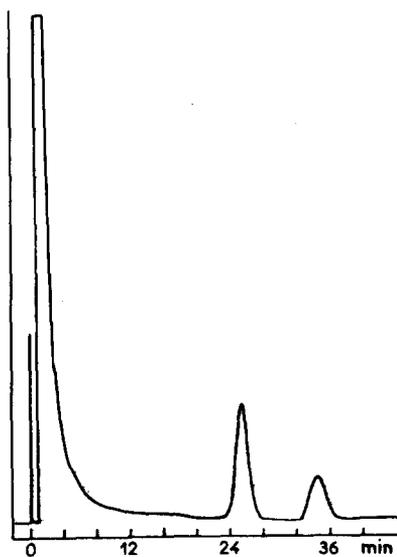


FIG. 3 B
Glucose triméthylsilylé
à 200°

Sucre	Température °C	Temps de rétention, mn ^{a)}
<u>A - Pentoses</u>		
Xylose	130°	4
Arabinose	"	4
Ribose	"	5,5 (5), 7,5 (2)
<u>B - Hexoses</u>		
Glucose	130°	7 (3), 9 (2)
"	150°	3,5 (7), 4,5 (5)
Mannose	130°	6 (1), 11 (7)
Galactose	"	7
Fructose	"	7,5
Sorbose	"	6,5
Glucose-TMS ^{b)}	200°	25 (2), 35 (1) ^{c)}
<u>C - Amino-sucre et amino-cyclitols</u>		
Chlorhydrate de gluosamine	150°	6
Chlorhydrate de désoxystreptamine	200°	5,5
<u>D - Méthyl-osides</u>		
Méthyl-xyloside ^{d)}	150°	5,2
β-Méthyl-arabinoside	"	3,5
α-Méthyl-glucoside	"	7
Méthyl-mannoside ^{d)}	"	9,5

Sucre	Température °C	Temps de rétention, mn ^{a)}
<u>E - Polysaccharides</u>		
Maltose	200°	5,2
Lactose	"	6,5
Saccharose	"	4,5
Tréhalose	220°	5
Raffinose	"	7
Stachyose	250°	6

- a) Les chiffres entre parenthèses indiquent approximativement les hauteurs relatives des pics.
 b) Dérivé triméthylsilylé de glucose.
 c) Surfaces relatives.
 d) Produit brut de traitement du sucre par le méthanol chlorhydrique.

Conditions de la chromatographie - Appareil F. et M. 810. Colonne de 1 m x 1/4 pouce de "chromosorb P regular", 45 - 60 mesh, imprégné de 20 % à l'origine de "Silicone-rubber", utilisée pendant 4 mois avant les présentes expériences. Température de l'injecteur : 220°. Détecteur à ionisation de flamme d'hydrogène. Débit 15 à 20 ml/mn d'azote. Quantité injectée : 1 ou 2 µl.

Les amino-sucre et amino-cyclitols peuvent également être chromatographiés par cette méthode, comme le montrent les exemples de la glucosamine et de la désoxystreptamine, prises à l'état de chlorhydrates. Il en est naturellement de même des méthylglycosides qui ont des temps de rétention plus élevés que ceux des sucres correspondants (7 mn à 150° pour l' α -méthyl-D-glucoside).

Les polysaccharides donnent des dérivés trifluoracétylés encore suffisamment volatils pour pouvoir être facilement chromatographiés entre 200 et 250°. D'une manière générale et comme il était prévisible, les dérivés trifluoracétylés sont beaucoup moins retenus sur la colonne que les dérivés triméthylsilylés. Les figures 3 permettent de comparer les vitesses d'élution de ces deux sortes de dérivés pour le glucose sur la même colonne de silicone et avec le même débit de gaz : les premiers sortent environ 7 fois plus vite à une température de 50° plus basse que les seconds.

La question de savoir si les pics observés correspondent bien aux hexa-trifluoracétates pour les hexoses par exemple n'est pas encore résolue ; il n'est pas exclu qu'il s'agisse en fait de produits partiellement déshydratés.

Nous remercions la Société Sorba, Paris, pour son assistance financière.

-
- (1) C. T. Bishop, Adv. in Carbohydrate Chem. 19, 95 (1964)
 - (2) C. C. Sweeley, R. Bentley, M. Makita et W. W. Wells,
J. Amer. Chem. Soc. 85, 2497 (1963)
 - (3) P. A. Cruickshank et J. C. Sheehan, Anal. Chem. 36, 1191 (1964)
 - (4) E. J. Bourne, (Mrs) C. E. Tatlow, J. C. Tatlow et R. Worrall,
J. Chem. Soc., 3945 (1958).