

# Die Trennung von Zuckergemischen durch kombinierte Elektrophorese und Papierchromatographie

Von Prof. Dr. FRITZ MICHEEL und Dipl.-Chem. FRANZ-PETER VAN DE KAMP

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Münster (Westf.)

Gemische von Zuckern werden zunächst als Borsäure-Komplexe absteigend in Filtrierpapier einer Elektrophorese unterworfen. Anschließend werden die einzeln aufgefangenen Fraktionen wie üblich chromatographiert. An zwei Beispielen wird gezeigt, daß eine wirkungsvolle Trennung auch mit größeren Durchsätzen erzielt wird.

Zur analytischen Trennung und Mikrobestimmung kleinster Mengen von Zuckern hat sich die Papierchromatographie bestens bewährt. Auch eine elektrophoretische Trennung der Zucker-Borsäureester auf Filtrierpapierstreifen läßt sich zu dem gleichen Zwecke nach *Consden* und *Stanier*<sup>1)</sup> verwenden. Wir hatten uns die Aufgabe gestellt, einerseits die genannten Trennungsvorgänge noch wirksamer zu gestalten, andererseits sie zunächst auf die präparative Trennung von einigen Hundert Milligrammen zu erweitern, um auch Hydrolysate, wie sie z. B. bei der Untersuchung von natürlichen Kohlenhydrat-Eiweißverbindungen anfallen, aufarbeiten zu können. Folgender Weg wurde eingeschlagen und zur präparativen Trennung von 100–200 mg Zuckergemisch angewandt:

Das Prinzip unseres Verfahrens ist, zunächst durch geeignete Elektrophorese die Zucker eines Gemisches als Borsäure-Komplexe zu trennen bzw. in einzelnen Fraktionen anzureichern und anschließend die Fraktionen papierchromatographisch zu analysieren. Zur elektrophoretischen Trennung der Borsäure-Komplexe des Zuckergemisches wurde letzteres in  $m/30$  Borsäure gelöst und mit Natronlauge auf  $p_H = 9,2$  gebracht. Eine Epimerisierung der Zucker findet unter diesen Bedingungen auch im Verlauf von Tagen nicht statt. Diese Lösung wurde in einer in Anlehnung an *Durrum*<sup>2)</sup> konstruierten Apparatur der Elektrophorese unterworfen. Man trennt nach dem zuerst von *Svensson* und *Bratton*<sup>3)</sup> und von *Grassmann* und *Hannig*<sup>4)</sup> angewandten Prinzip, derart, daß die zu untersuchende Lösung auf Filtrierpapier nach unten fließt und gleichzeitig einem horizontalen elektrischen Felde ausgesetzt ist. Unsere Apparatur gestattete die Entnahme von bis zu 23 durch ihre Wanderungsgeschwindigkeit unterschiedenen Fraktionen und einen Durchsatz von etwa 50–60 mg Zuckergemisch pro Tag; also konnten in 3 Tagen 150–180 mg getrennt werden. Zur Isolierung wurden die einzelnen Fraktionen mit Wofatit 4 vom Kation ( $Na^+$ ) befreit, im Vakuum eingedampft, die Borsäure wurde durch mehrmaliges Aufnehmen in abs. Methanol und

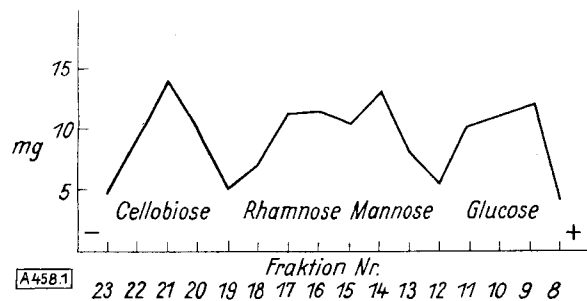


Bild 1. Verteilung der einzelnen Zucker auf die Fraktionen (Gemisch von Cellobiose, L-Rhamnose, D-Mannose, D-Glucose)

<sup>1)</sup> Nature [London] 169, 783 [1952]; s. a. L. Jaenicke, Naturwiss. 39, 86 [1952].

<sup>2)</sup> J. Amer. Chem. Soc. 73, 4875 [1951].

<sup>3)</sup> Ark. Kem. 1, 401 [1949].

<sup>4)</sup> Naturwiss. 37, 397 [1950]; 38, 200 [1951].

Abdampfen als Methylester entfernt. Die mengenmäßige Verteilung der einzelnen Zucker bei einem Gemisch von Cellobiose, L-Rhamnose, D-Mannose, D-Glucose auf die einzelnen Fraktionen zeigt Bild 1.

Anschließend wird zur Identifizierung der einzelnen Zucker und zur Prüfung der Fraktionen auf Reinheit ein Papierchromatogramm in der üblichen Art hergestellt (Butanol-Pyridin-Wasser 3:1:1, 24 h, entwickelt mit Anilinphtalat), wobei als Test die 4 reinen Zucker mitlaufen. Das Ergebnis zeigt Bild 2.

Vergleichslösungen  
je 100 γ  
Cellobiose Mannose 23 22 21 20 19 18 17 16 15 14 13 12 11 10 9 8  
Rhamnose Glucose  
je 200 γ

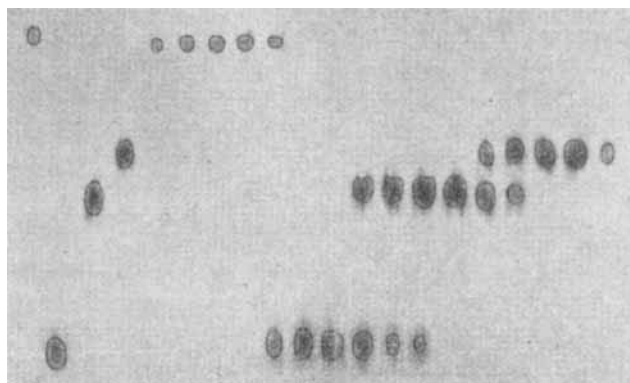


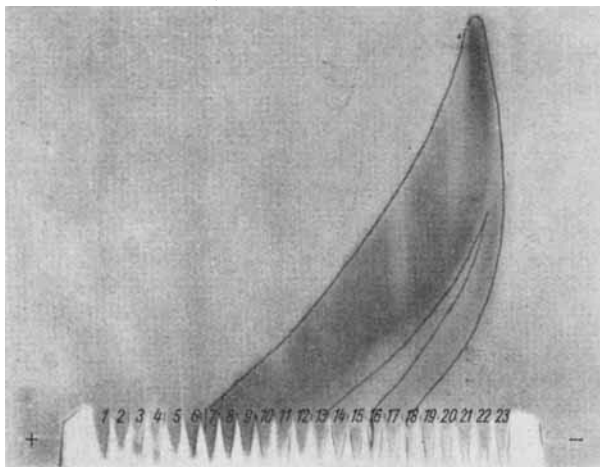
Bild 2  
Papierchromatogramm der Fraktionen von Bild 1 und der Vergleichslösungen (1–4)  
Whatman-Papier Nr. 4; Butanol-Pyridin-Wasser 3:1:1;  
Entwickler: Anilinphtalat

Das Chromatogramm zeigt, was schon aus Bild 1 hervorgeht, in welchen Fraktionen der Elektrophorese noch Gemische von Komponenten mit benachbarter Wanderungsgeschwindigkeit vorliegen. Es ist anzunehmen, daß die Überschneidung der einzelnen Fraktionen geringer wäre, wenn es möglich gewesen wäre, die Elektrophorese unabhängig von den Spannungsschwankungen des Stromnetzes auszuführen. Die Ergebnisse zeigen jedoch, daß auf diesem Wege nicht nur eine präparative Trennung von Zuckergemischen gelingt, sondern auch vorher eine für die anschließende Papierchromatographie sehr wirksame Anreicherung vorgenommen werden kann.

Wir haben ferner zur Prüfung des Verfahrens eine Trennung der im Inulin enthaltenen Glucose von der Fructose ausgeführt. Inulin enthält geringe Mengen D-Glucose<sup>5)</sup>.

500 mg Inulin (Merck) wurden in 50 cm<sup>3</sup>  $m/10$  HCl durch zweitägige Hydrolyse bei 38° gespalten. Die Salzsäure

<sup>5)</sup> H. H. Schlubach u. H. Elsner, Ber. dtsch. chem. Ges. 62, 1493 [1929]; R. F. Jackson u. S. M. Goergen, Bur. Stand. J. Res. 3, 27 [1929]; H. Pringsheim u. J. Reilly, Ber. dtsch. chem. Ges. 63, 2636 [1930]; E. L. Hirst, H. D. J. Mc Gilvray u. E. G. V. Percival, J. chem. Soc. [London] 1950, 1297.



[A458.3]

D-Fructose D-Glucose

Bild 3

Ionophorese eines Inulin-Hydrolysats. Entwickler: Anilinphtalat

wurde durch einen Anionenaustauscher entfernt und die Lösung im Vakuum eingedampft. Sodann wurde eine Elektrophorese in Borat-Puffer, wie oben beschrieben, ausgeführt; in 3 Tagen wurden 180 mg getrennt. Das mit Anilinphtalat entwickelte Ionophorogramm zeigt Bild 3.

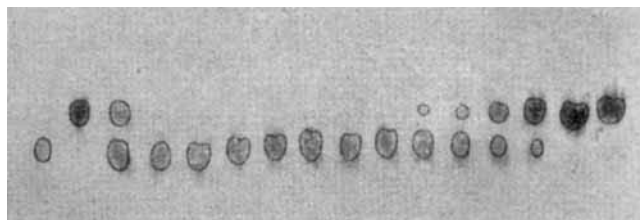
Im Gegensatz zu *Conden* und *Stanier* müssen wir feststellen, daß Fructose schneller als Glucose wandert. Die papierchromatographische Untersuchung der einzelnen Fraktionen zeigt Bild 4.

Die Wirksamkeit unserer Methode ergibt sich daraus, daß in den Fraktionen 17, 18 und 19 die Glucose gegenüber ihrem Anteil am ursprünglichen Gesamthydrolysat etwa auf das 20fache angereichert ist. Die prozentuale Verteilung der Fructose und Glucose auf die einzelnen Fraktionen zeigt Bild 5.

Aus der Verteilung der Glucose auf die einzelnen Fraktionen und der Fleckengröße berechnet sich ein Glucose-Gehalt von etwa 5% im Inulin, was mit Angaben der Literatur<sup>6)</sup> übereinstimmt. Wir sind damit beschäftigt, die Methodik auch auf die Trennung und Analyse der Hydroly-

sate von Kohlenhydrat-Eiweißverbindungen mit den von Fall zu Fall erforderlichen Abänderungen anzuwenden.

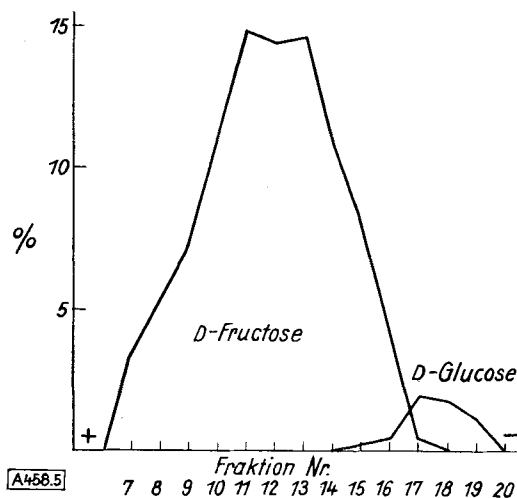
Vergl. Lsg.	Gesamt-	Fraktion Nr.
Fructose	hydro-	
Glucose	lysat	7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19
je 100 γ	400 γ	je 400 γ



[A458.4]

Bild 4

Papierchromatogramm der Fraktionen von Bild 3 und der Vergleichslösungen; Bedingungen wie bei Bild 2



[A458.5]

Bild 5. Gehalt der einzelnen Fraktionen an Fructose und Glucose in % des Gewichtes des Gesamthydrolysates

Für die Untersuchungen standen uns Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft zur Verfügung, der wir auch an dieser Stelle bestens danken.

Eingeg. am 4. September 1952 [A 458]

## Analytisch-technische Untersuchungen

# Photometrische Wismut-Bestimmung mit Thioharnstoff in Blei und seinen Legierungen

Von Dipl.-Chem. HEINZ POHL, Berlin-Charlottenburg

Aus dem Material-Prüfungsamt, Berlin-Dahlem, Abt. Anorganische Chemie

Es wird eine photometrische Bestimmung von Wismut in Blei-Antimon-Legierungen mit Thioharnstoff beschrieben. Die Hauptmenge des Antimons wurde gemeinsam mit dem Blei abgeschieden und entfernt, der Rest durch Weinsäure und Natriumfluorid komplex gebunden. Ferner wird über eine neue Anreicherungs-methode des Wismuts berichtet.

Die Bestimmung des Wismut-Gehaltes von Weichblei mit Thioharnstoff wurde zuerst von *C. Mahr* beschrieben<sup>1)</sup>. *K. W. Grossheim-Krysko*<sup>2)</sup> modifizierte das Verfahren durch Zusatz von Weinsäure, um das störende Blei in Lösung zu halten. Das in den „Methods of Chemical Analysis of Metals“<sup>3)</sup> beschriebene Verfahren lehnt sich eng an die Methode von *Mahr* an und ist nur für Weichblei zu gebrauchen. Alle drei zitierten Verfahren zeigen nach *E.*

*Leutwein*<sup>4)</sup> gewisse Mängel, so daß sie sich nicht recht in die Praxis einführen konnten. Im Laboratorium der Aktiengesellschaft für Zinkindustrie in Duisburg<sup>5)</sup> hat sich dagegen für Werk- und Hüttenblei folgende Methode gut bewährt:

5 g Bleispäne werden im 100 ml-Meßkolben mit 60 ml Salpetersäure (1 + 3) durch Erwärmen gelöst, abgekühlt, die Hauptmenge des Bleis mit 20 ml 30proz. Natriumbromid-Lösung ausgefällt, bis zur Marke aufgefüllt, umgeschüttelt und partiell filtriert. Vom Filtrat werden 40 ml ( $\Delta$  2 g Einwaage) abgenommen,

<sup>1)</sup> *C. Mahr*, Z. Analyt. Chem. 94, 161/62 [1933]; 97, 96/99 [1934].

<sup>2)</sup> *K. W. Grossheim-Krysko*, ebenda 121, 399/402 [1941].

<sup>3)</sup> *A. S. T. M.*, „Methods of Chemical Analysis of Metals“, Washington [1946]; *E. S. Desig*, 58–45.

<sup>4)</sup> *F. Leutwein*, Beiheft Angew. Chem. Nr. 48, 110 [1944].

<sup>5)</sup> *E. Eberius*, Unveröffentlichte Arbeit aus der A.G.-Zinkindustrie, Duisburg 1951.