

# Anwendung der Doppelkeilstreifen auf die Identifizierung von Aminosäuren in Lebensmitteln

Autor(en): **Sulser, H.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **52 (1961)**

Heft 4

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-981759>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Anwendung der Doppelkeilstreifen auf die Identifizierung von Aminosäuren in Lebensmitteln

Von *H. Sulser*

(Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes, Bern)

Aminosäuren gehören zu den wichtigsten Bausteinen des Organismus. Man ist bestrebt, dieselben dem Körper nicht nur auf dem Umweg über die Eiweißstoffe, sondern auch direkt zuzuführen in Form von Eiweißhydrolysaten, gereinigten Aminosäuregemischen und reinen Aminosäuren. So ist es beispielsweise aufgekomen, den Lebensmitteln Glutaminsäure zuzusetzen, welche einen günstigen physiologischen Einfluß ausüben soll und auch geschmacklich die Speisen verfeinert.

Ueber den chromatographischen Nachweis der Aminosäuren ist schon viel gearbeitet worden, u.a. besteht ein vollautomatisches Verfahren (Ionenaustausch), das jedoch eine Spezialapparatur erfordert. Hier soll eine papierchromatographische Methode beschrieben und auf die Trennung und Identifizierung freier Aminosäuren in Lebensmitteln angewendet werden, welche auch anderweitig gute Dienste leisten kann und bezüglich Einfachheit der Ausführung und Trennschärfe gewisse Vorteile bietet.

Auch bei den Aminosäuren scheint sich ein Wettbewerb abzuzeichnen zwischen Dünnschicht- und Papierchromatographie. Hauptvorteil der ersteren ist die kurze Laufzeit. Andererseits sind bei vielkomponentigen Gemischen den Platten infolge der kurzen Laufstrecke eher Grenzen gesetzt bezüglich Trennleistung.

Man kann ein- oder zweidimensional arbeiten. Die letztere Methode ergibt papierchromatographisch bei den Aminosäuren mit nur zwei Fließmitteln oft sehr gute Resultate, ist aber etwas umständlich. Es kann auch gleichzeitig nur eine Probe chromatographiert werden, Vergleichsubstanzen müssen ihr zugesetzt werden, oder man läßt sie auf freigebliebenen Streifen eindimensional mitlaufen. Eindimensional sind zur Trennung sämtlicher Komponenten eines komplexen Gemisches in der Regel mehr als zwei verschiedene Fließmittel nötig, man kann jedoch fast beliebig viele Vergleichsproben mitentwickeln. Allgemein besteht jedoch bei runden Flecken eine gewisse Anfälligkeit zu Störungen.

## I. Methodik

Deshalb versuchten wir, mit einer im Verlauf der Zeit selbst weiterentwickelten Radialmethode Erfahrungen zu sammeln, welche an sich eindimensional ist, aber doch auch eine zweidimensionale Komponente aufweist. Bei jedem Radialverfahren bewegt sich ja die Substanz, beziehungsweise das Substanzgemisch von einem Punkt aus in einer Richtung fort, dehnt sich dabei aber gleichzeitig senkrecht dazu fächerförmig aus. Auf diesem Verdünnungseffekt beruht die oft sehr gute Trennleistung dieser Kreis- oder Circulartechnik in ihren verschiedenen

Varianten. Ursprünglich bediente man sich hauptsächlich des Vollkreises. Um jedoch das Chromatographieren mehrerer Proben zu gestatten, teilte man jeder einen mehr oder weniger großen Sektor zu. Die Sektoren, für sich betrachtet, sind keilförmig, und deshalb spricht man auch von Keilstreifen. Vorteilhaft an diesen ist, daß für die Entwicklung eine längere Papierstrecke zur Verfügung steht, als wenn sich das Fließmittel von einem Zentrum aus allseitig ausbreitet. Ein Keilstreifen von beispielsweise 30 cm Länge entspricht einem Rundfilter von effektiv 60 cm Durchmesser, das aber für die Praxis ungeeignet ist.

Während man anfänglich pro Keilstreifen nur eine Probe aufbrachte (*Matthias* 1954) und ein Vergleich auf demselben Papier nicht möglich war, gelang durch Anbringen einer Aussparung von 2 mm Breite und 25 bis 30 mm Länge das gleichzeitige Auftragen und Chromatographieren von 2 Proben nebeneinander, die nun Seite an Seite direkt auf dem gleichen Papier verglichen werden konnten (Doppelkeilstreifen) (*Sulser* 1959<sup>II</sup>). Der Keilstreifen wurde auch nicht mehr wie bei *Matthias* (l. c.) in ein langes paralleles Stück auslaufen gelassen (was zu einer unerwünschten Verbreiterung der Bänder im Verlauf der Entwicklung führte), sondern so gestaltet, daß er effektiv einem ganzen Kreissektor entsprach, nämlich mit bis zur Peripherie V-förmig auseinanderlaufenden Seiten. Zur Vermeidung von Deformationen infolge der Schwerkraft erwies sich ferner die waagrechte (nicht senkrechte) Anordnung während der Fließzeit als günstig, wie ja auch beim ursprünglichen Rundfilter das Papier horizontal liegt. Auf diese Weise war es auch leicht möglich, wie beim Vollkreis, unter Verdunstung zu arbeiten, indem man einfach den äußersten Rand der Papiere ein kurzes Stück seitlich aus der Schale herausragen ließ. So kommt das Fließmittel, nachdem es den innern Schalendurchmesser zurückgelegt hat, nicht zum Stillstand, sondern kann sich weiter ausbreiten und außerhalb der Schale fortlaufend verdunsten, wobei immer neues Fließmittel nachgezogen wird. Wenn dies lange genug vor sich geht (je nach dem Rf-Wert der interessierenden Verbindungen), kann unter Umständen ein Vielfaches der tatsächlich zur Verfügung stehenden Papierbahn ausgenützt werden. Diese Methode entspricht dem sog. Durchlaufchromatogramm mit hängenden Papieren, wobei das Fließmittel nach Erreichen des Randes unten abtropft. Läßt man jedoch die Entwicklung zu lange dauern, so macht sich bei den runden Flecken eine gewisse Unschärfe bemerkbar, weil die durchlaufenen Strecken relativ lang sein können. Im Verlauf der Wanderung neigen die Substanzen dazu, sich auszubreiten, die Flecken werden größer, was die Trennschärfe beeinträchtigt. Bei den Keilstreifen wandern die Komponenten strich-, beziehungsweise bogenförmig, was an sich weniger Platz beansprucht als runde oder in der Laufrichtung deformierte Gebilde. Außerdem bestehen bei den konischen Streifen seitliche Ausweichmöglichkeiten («zweidimensional»), was die Verzerrung in der Fließrichtung abschwächt. Obschon die Papiere kürzer sind, erreicht man daher bei den Keilstreifen eher bessere Trenneffekte. Die kürzeren Papiere (Länge der Doppelkeilstreifen 28 cm, Breite 28 cm und 34,7 cm) sind auch leichter zu handhaben beim Eintauchen, Besprühen oder Erhitzen (in den



üblichen Trockenschränken nach Herausnehmen der Tablare). – Die geringere Anfälligkeit bei Störungen bei diesem Typ hängt ferner damit zusammen, daß man die Substanzen anders aufträgt, und zwar nicht inmitten einer homogenen Papierfläche, sondern an einem Engpaß, unmittelbar vor der Papierbrücke, auf beiden Seiten des Schlitzes (vgl. Abbildung 3, S. 303). Das vorrückende Fließmittel ist dabei gezwungen, sich einen Weg durch die aufgetragenen Substanzen zu bahnen, wobei es sie auflöst und nach und nach fortschwemmt. Anders bei den runden Flecken. Hier findet die bewegliche Phase leicht den Weg des geringsten Widerstandes, nämlich auf beiden Seiten der Probe vorbei, was eventuell zu Schweifbildung usw. führen kann.

Die Doppelkeilstreifen brauchen nicht von Hand angefertigt zu werden, was etwas mühsam ist, sondern können in zwei Ausführungen fertig bezogen werden, einer schmälere Form mit einem Zentriwinkel von etwa  $70^\circ$  und einer breiteren mit  $90^\circ$ . Die Papiersorte Nr. 2043 b mgl von Schleicher & Schüll hat sich für die meisten Zwecke als geeignet erwiesen, eventuell auch 2043 b matt bei imprägnierten Papieren.

In der Rundfilterpapierchromatographie ist es üblich, Rundschaalen als Kammern zu verwenden, von kleinen Petrischalen bis zu Gefäßen von 30 cm Durchmesser. Anfänglich bedienten wir uns für die Keilstreifen (Anordnung mit Verdunstung) ebenfalls derselben, erkannten dann aber, daß *ovale* Schalen zweckmäßiger waren, wie aus Abbildung 1 schematisch hervorgeht. Der Krümmungsradius der Rundschaale ist bedeutend kleiner als derjenige der Fließmittelfront

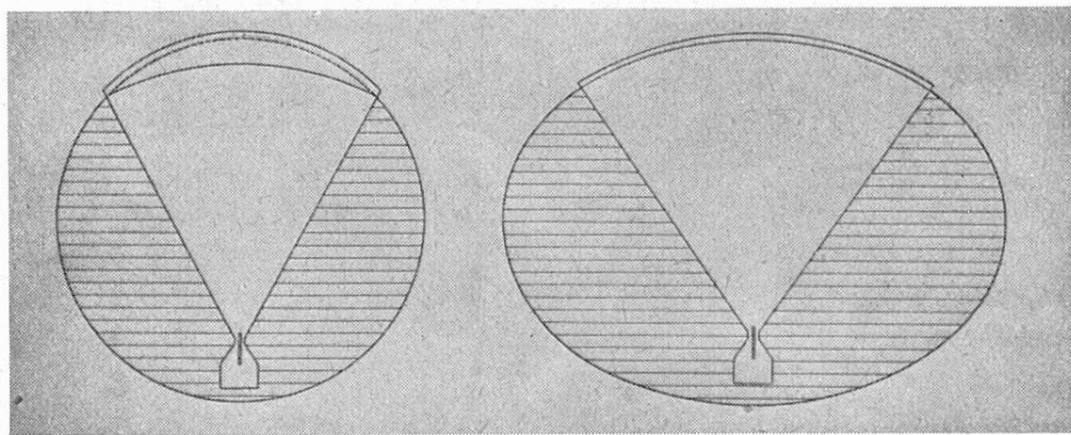


Abbildung 1  
Rundschaale und ovale Schale

auf dem Doppelkeilstreifen. Daher stößt das Fließmittel seitlich bedeutend früher an den Schalenrand als in der Mitte (Abb. 1, links). Während also auf den Seiten bereits Verdunstung eintritt, ist dies in der Mitte noch längere Zeit nicht der Fall. Dies kann dazu führen, daß die Fließgeschwindigkeit an den Randpartien größer (oder kleiner) ist als im mittleren Teil, was natürlich den Trenn-

vorgang ungünstig beeinflusst. Anders liegen die Verhältnisse bei ovalen Schalen. Hier stößt die bewegliche Phase überall *gleichzeitig* an den Schalenrand, überschreitet ihn und verdunstet außen auf der ganzen Linie gleichmäßig.

Es gilt also

Rundschale: Krümmungsradius  $\geq$  Krümmungsradius  
der Fließmittelfront der Schale

Ovalschale: Krümmungsradius = Krümmungsradius  
der Fließmittelfront der Schale

Bei ovalen Schalen können auch etwas breitere Sektoren verwendet werden, bei gleicher Länge, was die Radialwirkung verstärkt.

Die geeigneten ovalen Schalen sind im Handel sofort lieferbar, müssen also nicht speziell angefertigt werden. Zur Verwendung als Trennkammer muß nur der Rand vollständig plan geschliffen und ein Glasdeckel beschafft werden (dickes Glas, etwa 6 mm, am besten Kristallglas, das keine Unebenheiten aufweist), der genau auf den Schalenrand paßt und nicht über diesen hinausragt. Wir haben 6 solche Gefäße im Betrieb.

Aus Abbildung 2 ist die ganze Anordnung ersichtlich. Um das auf dem Schalenrand liegende breite Ende des Keiles nicht zu stark zu belasten und da-

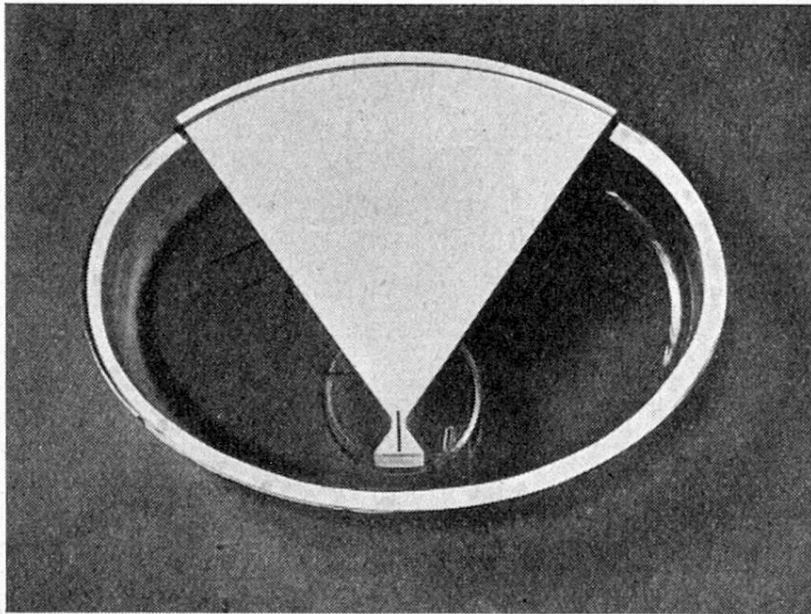


Abbildung 2  
Anordnung der Doppelkeilstreifen

mit das Fließmittel zu stauen, sowie zur bessern Abdichtung, klebt man unter den Rand des Deckels einen Papierstreifen, mit Ausnahme der Stellen, wo der Doppelkeilstreifen aufliegt. Die Dicke dieses untergelegten Papiers sollte gleich sein wie beim Keilstreifen. Nun kann ohne Bedenken mit einem Gewicht be-

schwert werden (in Abb. 2 weggelassen). Speziell bei leichtflüchtigen Fließmitteln ist es wichtig, daß die Kammer so dicht als möglich schließt. Zur raschen und vollständigen Sättigung legt man auf den Boden der Schale ein entsprechend geschnittenes Papier und gießt vor Beginn der Entwicklung 30 bis 50 ml der entsprechenden stationären bzw. beweglichen Phase hinein. Das eigentliche Fließmittel befindet sich aber in der kleinen Petrischale, welche etwas schräg gestellt wird. Zwei schmale gekrümmte Glasleisten sorgen dort und eine breite gekrümmte Glasplatte auf dem Boden der Schale dafür, daß das Papier in feuchtem Zustand nicht zu stark durchbiegt. Nach Auftragen der beiden zu vergleichenden Proben, wie erwähnt (S. 301), biegt man das schmale Ende des Keilstreifens rechtwinklig ab, legt den Streifen gemäß Abbildung 2 in die Schale und gießt nun soviel Flüssigkeit in die Petrischale, daß das gefaltete Ende etwa 1 cm tief eintaucht. Der Glasdeckel wird dann aufgelegt und beschwert, worauf man 12 bis 48 Stunden entwickelt, je nachdem, wie weitgehend die Trennung gewünscht wird.

Wie aus der folgenden Abbildung 3, links, hervorgeht, besitzt die Aussparung an den Doppelkeilstreifen, welche das Vermischen der beiden Proben beim Auf-

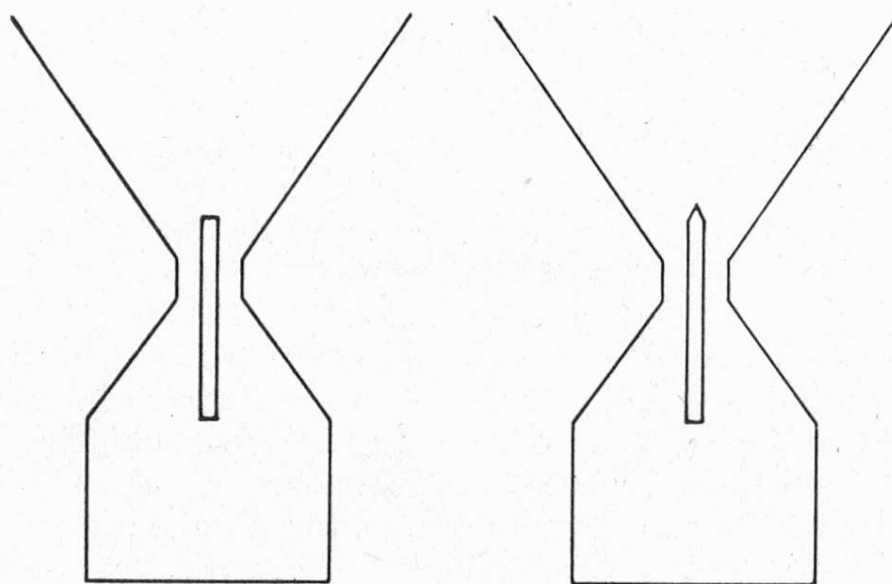


Abbildung 3  
Form der Doppelkeilstreifen

tragen verhindert, die Form eines schmalen Rechtecks. Es kann für den Lauf der beweglichen Phase günstig sein, die obere schmale Seite dieses Rechteckes mit einer Spitze zu versehen (Abb. 3, rechts, in dieser Arbeit noch nicht durchgeführt).

Wie sieht nun ein solches Chromatogramm aus?

Wenn die beiden Proben verschiedene Rf-Werte haben, sind die Kreisbogen, wie die Zungen einer ungleich belasteten Hebelwaage, gegeneinander versetzt, es besteht eine Bruchstelle (Abb. 4, links). Bei gleichen Rf-Werten gehen die



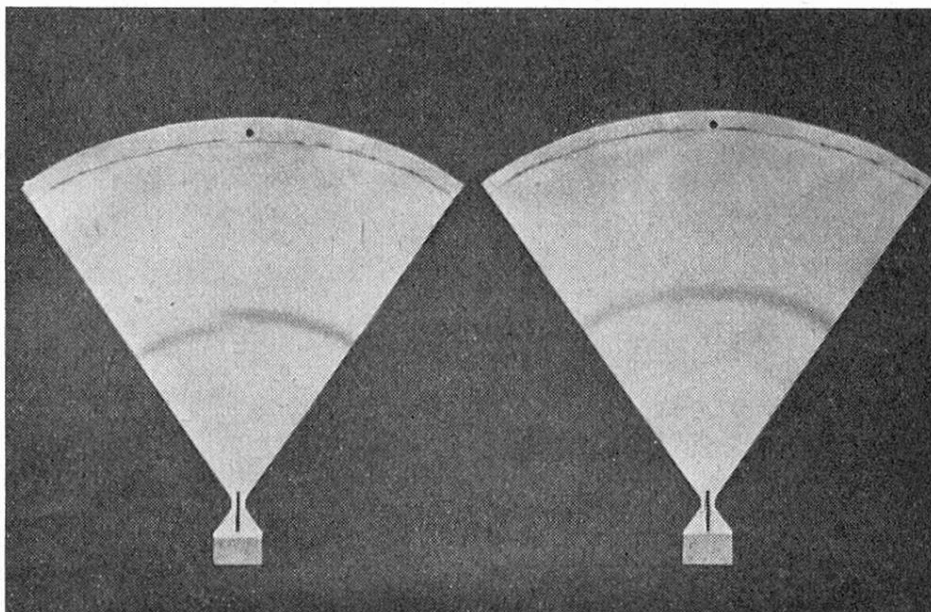


Abbildung 4  
Gleiche und verschiedene Rf-Werte

beiden Bogenstücke dagegen ohne Uebergang direkt ineinander über (Abb. 4, rechts). Da dieselben nötigenfalls sehr schmal ausfallen (indem man wenig Material aufträgt), kommen auch minime Rf-Unterschiede zum Vorschein, umso mehr, als sie direkt angrenzen. Die Proben sollten mengenmäßig einigermaßen ausgeglichen sein, so daß die Fließgeschwindigkeit auf beiden Seiten nicht zu stark differiert.

Naturgemäß eignet sich diese Methode mehr für die Einzeluntersuchung. Will man zahlreiche Proben nebeneinander vergleichen, so wird man sie auf eine lange Startlinie auftragen. In manchen Fällen bekommt man aber so nur einen Ueberblick und zieht dann, speziell für Substanzen mit ähnlichen Rf-Werten, mit Vorteil noch die Doppelkeilstreifen heran, wie wir es im folgenden beschreiben.

## II. Anwendung

Es handelt sich um die Identifizierung der freien Aminosäuren in einem Würzepräparat des Handels, wie es für die Geschmacksverbesserung der Speisen dient.

Abbildung 5 zeigt links die neue Methode, rechts das Durchlaufchromatogramm. Es wurden jeweils aufgetragen die Würze, welche uns hier näher interessiert (links), und ein anderes, ähnliches Präparat, dessen Aminosäurebestand aber wesentlich geringer ist. Fließmittel : n-Butanol : Methyläthylketon : Wasser : Ammoniak = 5 : 3 : 1 : 1.

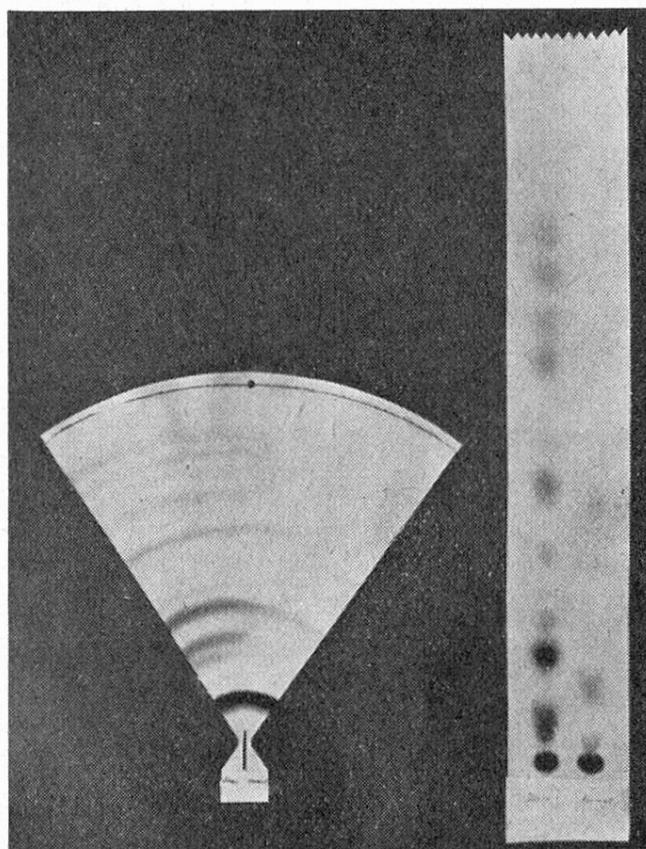


Abbildung 5

Vergleich von Doppelkeilstreifen und Durchlaufchromatogramm

Zunächst scheint auf dem parallelen Streifen mehr Platz zu sein als auf dem keilförmigen, weil er ja auch fast doppelt so lang ist. Dennoch ergibt sich eine deutlich bessere Trennleistung des Doppelkeilstreifens, vor allem in den oberen und unteren Partien. So sind beispielsweise die obersten 4 Flecken (größte  $R_f$ -Werte) beim Durchlaufchromatogramm nur knapp getrennt, zum Teil ohne Zwischenraum fast ineinander übergehend, während die entsprechenden Bogenstücke beim Keilstreifen scharf getrennt mit reichlich Zwischenraum verlaufen. Wir werden später diese Stelle des Chromatogramms nochmals für sich sehen. Ferner ist der unterste Fleck überhaupt nicht gewandert, so daß man eventuell auf eine Verunreinigung auf dem Startpunkt schließen könnte. Bei der Radialmethode ist diese Zone aber ein Stück weit vorgerückt, und man erkennt die Übereinstimmung mit der Gegenseite. Es handelt sich also um eine einheitliche Substanz. Der nächstfolgende langgezogene Fleck teilt sich beim Keilstreifen in zwei Bogenstücke auf, usw.

Um was für Aminosäuren handelt es sich nun?

Zur Identifizierung wäre ein direkter Vergleich auf dem Keilstreifen mit den Reinsubstanzen bei nicht zu großem Ungleichgewicht zwar möglich gewesen. Wir führten jedoch eine Vortrennung in sechs Gruppen durch, eluierten diese und



identifizierten dann die so erhaltenen je 3 bis 4 Aminosäuren auf Doppelkeilstreifen. Es war damit auch möglich, den gleichen Extrakt mit verschiedenen Fließmitteln zu untersuchen.

Zwecks Vortrennung trug man etwas größere Mengen der Würze auf einem 29 cm breiten und 58 cm langen Papierbogen (Schleicher & Schüll 2043 b mgI) strichförmig auf und chromatographierte mit dem oben angegebenen Fließmittel im Durchlauf. Die Trennung fiel naturgemäß etwas weniger scharf aus (Abb. 6). Zur Gewinnung des Materials schnitt man links und rechts zwei schmale, etwa 1 cm breite Randstreifen ab, färbte sie als Leitchromatogramme an und zerschnitt dementsprechend den Bogen senkrecht zur Fließrichtung in sechs parallele Streifen unterschiedlicher Breite (Gruppe I–VI, Abb. 6) Diese Streifen wurden dann quer zur bisherigen Fließrichtung eluiert, wozu wir uns ebenfalls der ovalen Schalen bedienten, entsprechend Abbildung 7.

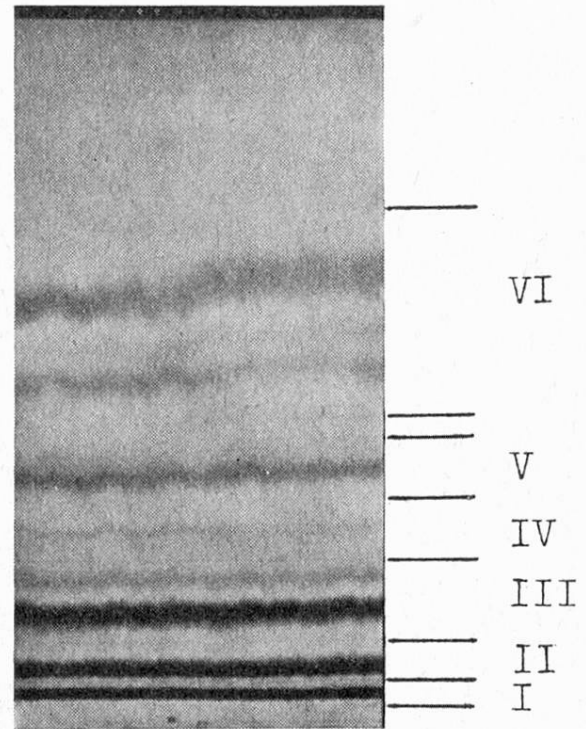


Abbildung 6  
Vortrennung

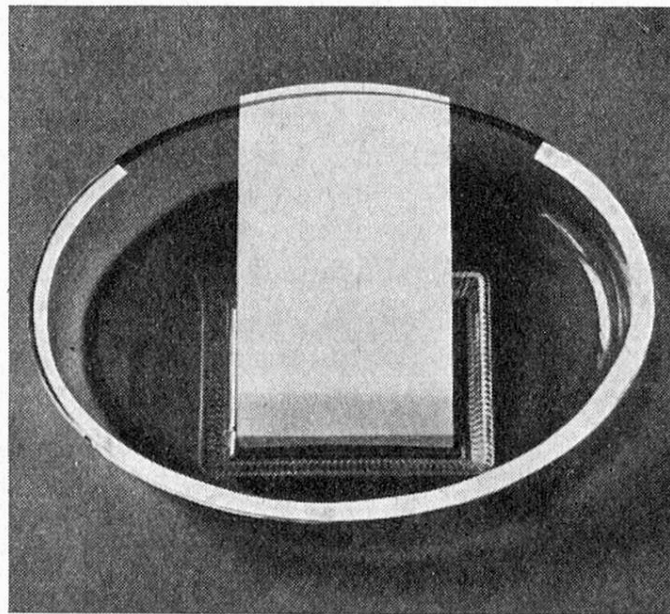


Abbildung 7  
Elution

Das Lösungsmittel (Propanol : Wasser = 1 : 1, + etwas Ammoniak) befindet sich in der kleinen, schräg gestellten Photoschale. Auch hier bewährte sich die Verdunstung, nicht für die Trennung, sondern zum Anreichern. Setzte man die Elution am Abend an, waren am andern Morgen die Aminosäuren des Streifens in eine dünne Zone auf dem herausragenden Papierstreifen gesammelt. Dieser Rand wurde abgeschnitten, in feine Lamellen zerteilt, in ein Reagensglas gegeben, mit einigen ml Propanol-Wasser versetzt, etwas erwärmt und mit einem Glasstab gemischt. Man goß in eine flache Schale ab und engte auf 0,5 ml oder noch weniger ein. Zur Identifizierung wurden davon einige Mikroliter auf den Doppelkeilstreifen gebracht und mit bekannten reinen Aminosäuren verglichen.

Dazu bestimmten wir in entsprechender Weise wie bisher von sämtlichen uns zugänglichen Aminosäuren (24 Proben) die Position auf dem Durchlaufchromatogramm, Seite an Seite mit Proben der Würze. Die in Abbildung 8 (Tab. 1) wiedergegebenen Verhältnisse lassen jedoch erkennen, daß eine Zuordnung der Einzelkomponenten zu denen im Gemisch hier nicht ohne weiteres gelingt, weil einerseits die Trennung manchmal nicht scharf ist, andererseits die sich möglicherweise entsprechenden Flecken oft weit auseinanderliegen, so daß mit zusätzlichen Verschiebungen infolge der normalerweise im Papier vorhandenen geringen Ungleichmäßigkeiten zu rechnen ist. Davon abgesehen sind auch die aufgetragenen Mengen in Abbildung 8 teilweise etwas zu ungleich.

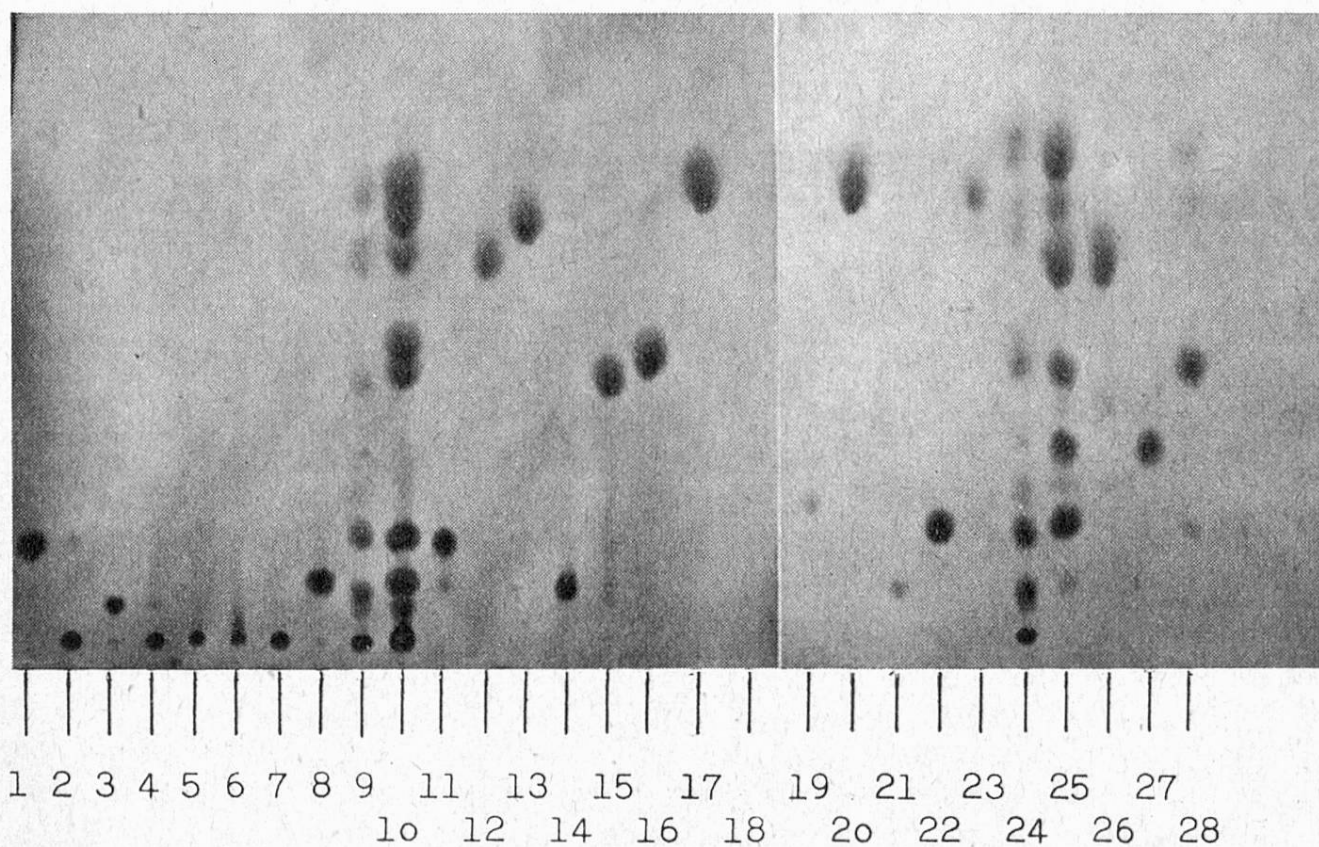


Abbildung 8  
Vergleich mit 24 Aminosäuren

*Tabelle 1*  
*Proben gemäß Abbildung 8*

Nr.	Probe
1	Alanin
2	Asparaginsäure
3	Arginin
4	Asparagin
5	Cystin
6	Cystein-Hydrochlorid
7	Glutaminsäure
8	Glycocoll
9	Aminosäuren der Würze
10	Mischung der Aminosäuren 1–8 und 11–18
11	Histidin
12	Isoleucin
13	Leucin
14	Lysin-Dihydrochlorid
15	Methionin
16	Norvalin
17	Norleucin
18	Protamin-Sulfat
19	Prolin
20	Phenylalanin
21	Oxyprolin
22	Serin
23	Tryptophan
24	Aminosäuren der Würze
25	Mischung der Aminosäuren 19–23 und 26–28
26	Threonin
27	Tyrosin
28	Valin

Dagegen war es gut möglich, eine Auswahl der Aminosäuren für die einzelnen Gruppen zu treffen. Das chromatographische Bild anhand des Doppelkeilstreifens ließ dann eine sichere Identifizierung zu. Als Beispiel soll hier nur Gruppe VI (die 4 Aminosäuren mit den höchsten Rf-Werten) besprochen werden (Abb. 9, 10, 11).

Eindeutige Verhältnisse herrschten zunächst bei Isoleucin und Leucin, welche ohne weiteres zugeordnet werden konnten (Abb. 9 und 10). Dagegen besaß Tryptophan den genau gleichen Rf-Wert wie Phenylalanin (Abb. 11), eine Trennung blieb auch mit andern Fließmitteln unmöglich (kritisches Paar). Da jedoch die Aminosäuren an sich bekannt waren, konnte man sich nach einer spezifischen Anfärbung umsehen (bisher nur Ninhydrin verwendet). Um zwischen den beiden Aminosäuren zu entscheiden, bedienten wir uns des Reagens von *Ehrlich*, einer 1%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in Aetha-



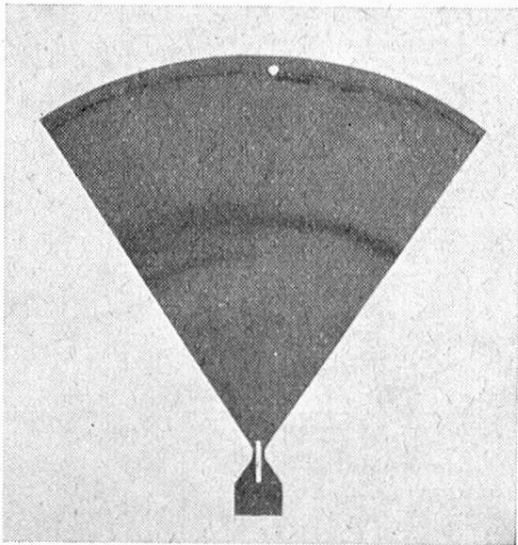


Abbildung 9  
Isoleucin

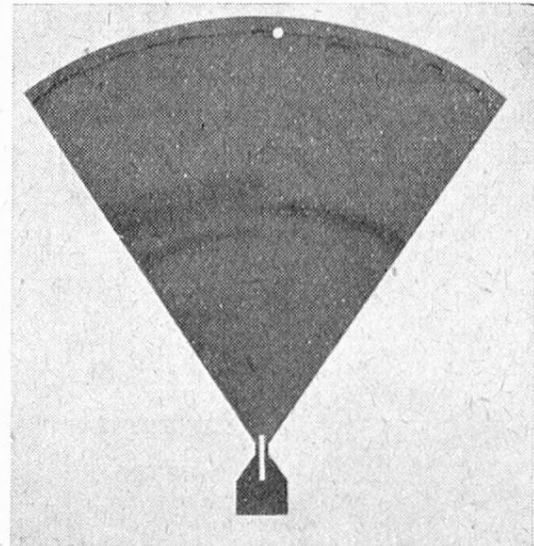


Abbildung 10  
Leucin

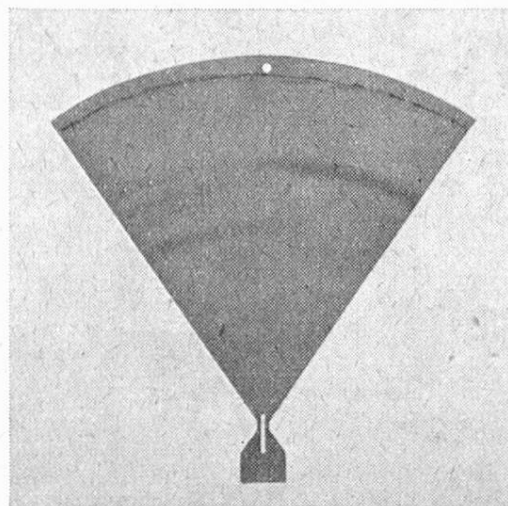


Abbildung 11  
Phenylalanin

nol. Nach dem Besprühen und einige Minuten Verbringen in ein Gefäß mit Salzsäuredämpfen färbt sich Tryptophan rotviolett, während Phenylalanin nicht anspricht (Reagens auf Tryptophan, Citrullin, Tryptamin, Harnstoff). In unserem Fall trat keine Reaktion ein, somit war Tryptophan ausgeschaltet. Dieses Ergebnis verwundert nicht, denn Würzepräparate werden ja aus eiweißreichen Rohprodukten durch saure Hydrolyse gewonnen. Dabei erleidet aber das Tryptophan eine vollständige Zersetzung, wie *Portner* und *Högl* (1952) nachwiesen. – Von den 4 Aminosäuren in Gruppe VI konnten also 3 identifiziert werden. Die vierte ließ sich keiner der uns zur Verfügung stehenden 24 Reinsubstanzen zuordnen.

Tabelle 2 enthält alle identifizierten Aminosäuren, mit den entsprechenden Fließmitteln. Daraus geht hervor, daß mit neuen Fließmitteln sich noch weitere Komponenten ermitteln ließen. So konnten in Gruppe II und III je 3 Aminosäuren getrennt und identifiziert werden, während die entsprechenden Zonen in Abbildung 5, Seite 305 (mit Butanol-Methyläthylketon-Wasser-Ammoniak) nur je 2 Bogenstücke erkennen ließen.

*Tabelle 2*  
*Identifizierte Aminosäuren in Würze*

Gruppe	Anzahl getrennte Aminosäuren	Identifizierte Aminosäuren	Verwendete Fließmittel nach Elution der einzelnen Gruppen	Anfärbung
VI	4	Isoleucin Leucin Phenylalanin 1 nichtidentif. Aminosäure	Butanol : Methyläthylketon : Wasser : Ammoniak = 5 : 3 : 1 : 1 (v/v) Butanol : Eisessig : Wasser = 4 : 1 : 5	Ninhydrin, Ehrlichs Reagens
V	2	Valin 1 nichtidentif. Aminosäure	Butanol : Eisessig : Wasser = 4 : 1 : 5	Ninhydrin
IV	1	Tyrosin	Butanol : Eisessig : Wasser = 4 : 1 : 5	Ninhydrin
III	3	Alanin Serin Prolin	Phenol : Wasser = 100 : 40 (Gew./Vol.)	Ninhydrin
II	3	Arginin Glycocoll Lysin-Dihydrochlorid	Butanol : Eisessig : Wasser = 4 : 1 : 5	Ninhydrin
I	1	Glutaminsäure	Butanol : Eisessig : Wasser = 4 : 1 : 5	Ninhydrin
Tot. 14		Total 12		

Aus zeitlichen Gründen mußten wir darauf verzichten, weitere Nachforschungen bezüglich der zwei nichtidentifizierten Aminosäuren anzustellen. Jedenfalls sind hier keine Mängel der Methode an sich im Spiel. Durch Heranziehung weiterer Reagenzien beim Anfärben sollte es gelingen, mehr über die Natur der fraglichen Stoffe in Erfahrung zu bringen.

Bei der Durchsicht von Abbildung 5 (S. 305) fallen die enormen Intensitätsunterschiede der einzelnen Linien auf. So besteht das Vergleichspräparat neben der Würze fast ausschließlich aus Glutaminsäure. – Die zahlenmäßige Auswertung dieser Radialchromatogramme durch Vergleich mit bekannten Mengen Reinsubstanzen dürfte keine besondern Schwierigkeiten bereiten. Es kommen dafür in erster Linie direkte Methoden (auf dem Papier bzw. der Reproduktion, ohne vorgängige Elution) in Frage. In frühern Arbeiten (Sulser 1958, 1959<sup>I</sup>) sind die Grundlagen für ein brauchbares Verfahren mitgeteilt worden.

### *Zusammenfassung*

Es wird eine spezielle Art von Radialpapierchromatographie (Doppelkeilstreifen) beschrieben, welche sich Sektoren von 70° und 90° bedient. Man kann gleichzeitig zwei Proben nebeneinander chromatographieren. Als Kammern dienen flache ovale Schalen, in denen die Papiere waagrecht angeordnet sind. Zur bessern Ausnützung der Papierbahn läßt man das Fließmittel außerhalb der Schale fortlaufend verdunsten. Die Vorteile der Methode ergeben sich bei der Besprechung eines Anwendungsbeispiels, Identifizierung freier Aminosäuren in einem Würzepräparat. Nach Vortrennung in sechs Gruppen und Elution derselben konnten mittels der Doppelkeilstreifen und drei verschiedenen Fließmitteln 14 Aminosäuren getrennt und davon 12 durch Vergleich mit Reinsubstanzen identifiziert werden.

### *Résumé*

Description d'une méthode spéciale de chromatographie radiale sur papier (double coin) pour laquelle on utilise des secteurs de 70 et de 90°. Deux échantillons peuvent être chromatographiés côte à côte simultanément. Les secteurs de papier sont placés horizontalement dans une capsule ovale et peu profonde et on s'arrange à ce que le papier dépasse un peu pour que le dissolvant puisse, après en avoir atteint le bord, s'évaporer à l'extérieur. Cette méthode a été appliquée avec succès à la séparation et à l'identification des acides aminés d'un hydrolysate de protéine (un arôme du commerce).

### *Summary*

Description of a special method of radial paper chromatography and of its successful application to the separation and identification of the amino acids in a commercial protein hydrolysate (seasoning).

### *Literatur*

Matthias W., *Naturwissenschaften* **41**, 17 (1954).

Portner C., Högl O., *diese Mitt.* **43**, 505 (1952).

Sulser H., *diese Mitt.* **49**, 344 (1958).

Sulser H., *diese Mitt.* **50**, 275 (1959).

Sulser H., *diese Mitt.* **50**, 287 (1959).