

A „nyújtott” papírkromatográfia egy alkalmazásáról

SZENTJÓBI OTTÓ és LUTTER BÉLA
Megyei Minőségvizsgáló Intézet, Debrecen
Érkezett: 1957. október 6.

A burgonyakeményítő ipari savas hidrolízis termékeinek (keményítőszőrp, burgonyacukor, dextroz) vizsgálata és a gyártás fázisvizsgálatainak eredményei (1—2) azt mutatták, hogy a konverziós termékek közül a dextrinek és az oligoszaharidok mennyisége és minemősége nagymértékben befolyásolják a végtermékek minőségét. A fázisvizsgálatok folyamán a helyes és eredményes kiértékelés céljából az oligoszaharidok papírkromatográfiai vizsgálatakor élesebb, az egyszerű vándoroltatásnál jobban széthúzott elválasztásra volt szükség azért, hogy kvalitatív és kvantitatív szempontból is meg tudjuk becsülni az egyes komponenseket.

Az irodalomból ismert különféle módszerek alkalmazásával (túlfolyó-, kétdimenziós-kromatográfia) nem sikerült megbízható eredményekhez jutni, viszont igen használhatónak bizonyult az ún. nyújtott kromatográfia (3), illetve annak általunk továbbfejlesztett formája.

A nyújtott kromatográfia lényege a többszörös vándoroltatás úgy, hogy az oldószerfront maximális előrejutása után szárítás, majd újabb — azonos eluáló szerrel történő — vándoroltatás következik s ezt többször ismételjük. Az előhívás csak az utolsó vándoroltatás (nálunk rendszerint az 5-ik) után következik, s ekkor mérjük az R_f értéket is. Az ilyen nyújtott kromatográfálás esetében a mért R_f értékek természetesen megváltoznak, vagyis nem azonosak az eredeti, egyszerű vándoroltatáskor mért R_f értékekkel. Ahhoz azonban, hogy az oligoszaharidokat a kromatogramon azonosítani lehessen, szükség van arra, hogy e megváltozott értékekből az eredeti R_f értékekre tudjunk következtetni.

A nyújtott kromatográfia oligoszaharidok és dextrinek keverékénél azért szükséges és egyben eredményes is, mert az egyszerű vándoroltatással csak a mono- és diszaharidok válnak el jól elkülönült foltok alakjában, míg ezek alatt hosszú, elmosódott csoportban (farok) helyezkednek el a magasabb (tri-, tetra- stb.) szaharidok és dextrinek. Keverék esetén tehát ezek eredeti R_f értékeit meghatározni nem lehet egyszerű vándoroltatással. Többszörösen vándoroltatott kromatogramon a farokképződés nagymértékben lecsökken és az oligoszaharidok — legalább is eddigi tapasztalatunk szerint — egészen a nonozig jól elkülönült foltokban jelennek meg. E foltok megváltozott R_f értékei már jól mérhetőek és ezzel lehetőség nyílik arra, hogy ezekből az R_f érté-

kekből számítás útján következessünk az ún. eredeti, vagyis az egyszeri vándoroltatással mérhető R_f értékekre. Tekintettel arra, hogy számos oligoszaharid eredeti R_f értékét meghatározták és ezek az irodalomból ismertek, valamely keverékben szereplő oligoszaharidok azonosítása a fenti módon lehetséges, ha a többszöri vándoroltatással élesen elválasztott foltok megváltozott R_f értékeiből (továbbiakban R_{f_n} , ahol n jelenti a vándoroltatások számát) azok eredeti R_f értékét (továbbiakban R_f) ki lehet számítani.

A számítás bizonyos feltételek mellett kétségtelenül megbízható eredményeket ad. A feltételek a következők:

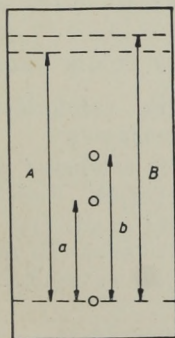
1. Azonos papíros (egy fajta papírosféleségre és nyomásirányra az R_f értékek állandóak, függetlenül a vándoroltatás hosszától, időtartamától). Ez a feltétel a nyújtott kromatográfiánál eleve biztosított.

2. Azonos hőmérséklet a többszöri vándoroltatás egész folyamán.

3. Egyforma oldó (eluáló) szer.

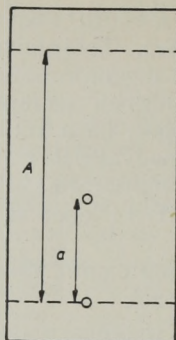
E feltételek mellett a többszöri vándoroltatás után mért R_{f_n} értékekből az R_f értékeket a következő megfontolások alapján számíthatjuk ki.

Az R_f értékek a felvitt folt vándorlási távolságának (a) és oldószer vándorlási távolságának (A) hányadosa.



1. ábra. Az $R_f = \frac{a}{A}$ viszony szemléltetése az első vándoroltatás után. A = az oldószer frontmagassága a felcseppentési helytől, a = a folt távolsága a felcseppentési helytől.

A második vándoroltatásnál a folt az a magasságból a b magasságba vándorol, ugyanakkor az oldószer A magassága is megváltozhat. Így az R_{f2} értéket a b és B távolságok hányadosa adja. $R_{f2} = \frac{b}{B}$. Az R_f értéket pedig a $\frac{b-a}{B-a}$ számérték szolgáltatja.



2. ábra. Az $Rf_2 = \frac{b}{B}$, illetve az $Rf = \frac{b-a}{B-A}$ viszony szemléltetése a második vándoroltatás után. B = az oldószer front magassága a felcseppentési helytől (ez lehet nagyobb vagy kisebb mint A , b = a folt új helyzete a felcseppentési ponttól mérve

A vándoroltatást megismételve a b magasságból kiinduló folt tovább vándorol s hasonlóképpen az oldószer B magassága is megváltozhat. A harmadik vándoroltatás után az Rf_3 értéket a $\frac{c}{C}$ hányados adja, míg az Rf értéket a $\frac{c-b}{C-b}$ viszony fejezi ki. A fentiekhez hasonló módon a negyedik vándoroltatás után az Rf_4 érték és az Rf érték a következőképpen alakul:
 $Rf_4 = \frac{d}{D}$, illetve $Rf = \frac{d-c}{D-c}$.

Az ötödik vándoroltatás után az $Rf_5 = \frac{e}{E}$, az Rf érték a következő: $Rf = \frac{e-d}{E-d}$, ahol az e , illetve E az ötödik vándoroltatás utáni foltmagasság, illetve az oldószer vándorlási frontja és a d a negyedik vándoroltatás utáni foltmagasság.

Mint ezekből az eredményekből látható, az Rf_n értékeket a megfelelő vándoroltatás után igen egyszerűen mérhetjük. Ennél sokkal bonyolultabb meghatározni az Rf_n értékekből az Rf értéket. Az utóbbi feladatnak az elvégzése matematikailag Rf -re nézve egy, a vándoroltatás számának megfelelő fokú egyenletre vezet.

$$Rf_2 = \frac{Rf(A+B-Rf \cdot A)}{B} \quad (1)$$

$$Rf_3 = \frac{Rf[A+B+C-Rf(2A+B-Rf \cdot A)]}{C} \quad (2)$$

$$Rf_4 = \frac{Rf((A+B+C+D-Rf)[3A+2B+C-Rf(3A+B-Rf \cdot A)])}{D} \quad (3)$$

$$Rf_5 = \frac{Rf\{A+B+C+D+E-Rf[(4A+3B+2C+D-Rf[6A+3B+C-Rf(4A+B-Rf \cdot A)])]\}}{E} \quad (4)$$

A számításokat az nehezíti, hogy ezekben az egyenletekben szereplő együtthatók (az oldószér frontmagasságai) esetről esetre különbözhetnek. Célszerűnek látszott a számítás megkönnyítése szempontjából az az egyszerűsítés, hogy az oldószér minden egyes vándoroltatásának frontmagasságait azonos helyen tartjuk, tehát a második vándoroltatásnál $A = B$, a harmadik vándoroltatásnál $A = B = C$, a negyedik vándoroltatásnál $A = B = C = D$, az ötödik vándoroltatásnál $A = B = C = D = E$. Ezekben az esetekben a fenti egyenletek a következőképpen alakulnak :

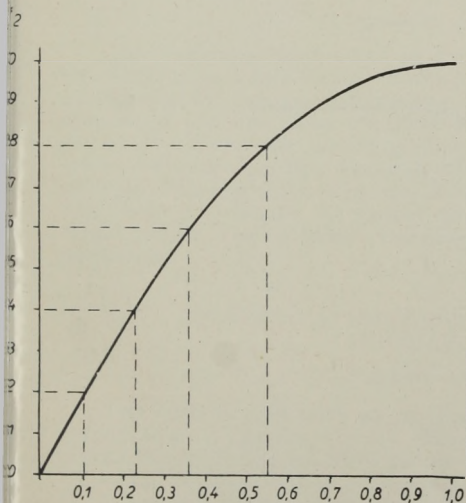
$$Rf_2 = 2Rf - Rf^2 \quad (5)$$

$$Rf_3 = 3Rf - 3Rf^2 + Rf^3 \quad (6)$$

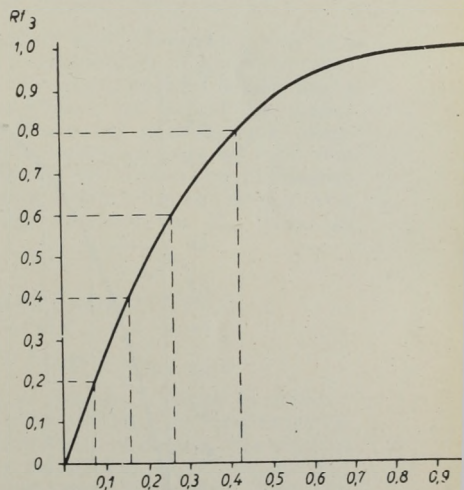
$$Rf_4 = 4Rf - 6Rf^2 + 4Rf^3 - Rf^4 \quad (7)$$

$$Rf_5 = 5Rf - 10Rf^2 + 10Rf^3 - 5Rf^4 + Rf^5 \quad (8)$$

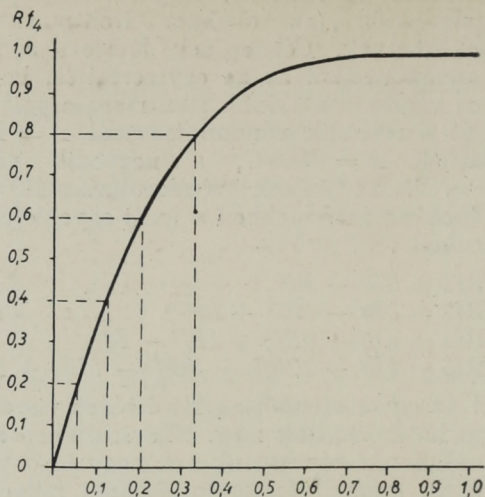
Ezekből az egyenletekből az Rf értéket viszonylag egyszerű grafikus úton határozhatjuk meg. Eljárásunkban a fordított sorrendet használtuk : kiszámítottuk azt, hogy bizonyos Rf értékeknek a megfelelő számú vándoroltatásoknál milyen Rf_n értékek felelnek meg. Ennek alapján az Rf és Rf_n érték közötti viszonyt az alábbi ábrák szemléltetik :



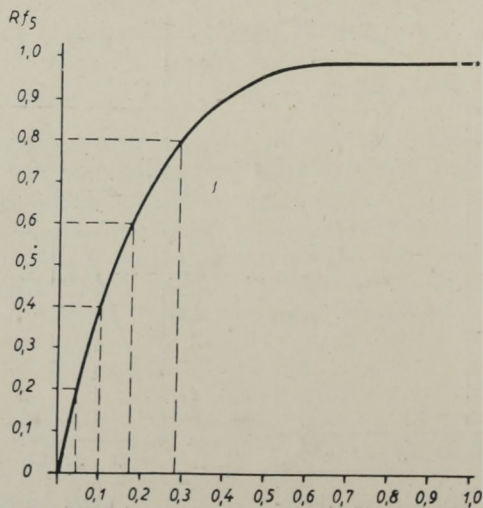
3. ábra. Az Rf_2 és az Rf értékek összefüggésének grafikus ábrázolása



4. ábra. Az Rf_3 és az Rf értékek összefüggésének grafikus ábrázolása



5. ábra. Az Rf_4 és az Rf értékek összefüggésének grafikus ábrázolása



6. ábra. Az Rf_5 és az Rf értékek összefüggésének grafikus ábrázolása

- (1) Lutter B.—Szentjóni O.: Élelmiszervizsgálati Közlemények. II. 247, 1956.
 (2) Lutter B.—Szentjóni O.—Bartha L.-né: Élelmiszervizsgálati Közlemények III. 19, 1957.
 (3) Csobán Gy.: Magyar Kémiai Folyóirat 56, 449, 1950.

ПРИМЕНЕНИЕ «ВЫТЯНУТОЙ» БУМАЖНОЙ
 ХРОМАТОГРАФИИ

О. Сентжони и Б. Луттер

Авторы занимаются применением «вытянутой» бумажной хроматографии, сообщенной Дб. Чобан-ом. Движение растворителя вдоль полоски бумаги повторяется несколько раз. Необходимо следить за тем, чтобы фронт растворителя остался на тождественной высоте. После измерения изменения значения R_f -а, графическим путем легко определяется истинное значение R_f -а. Таким образом можно пренебрегать измерением фронта растворителя после отдельных движений и нет необходимости знать значение R_f -а неизвестного пятна. Достаточно только определить изменение R_f -а после соответственного числа движения растворителя. (Фронт растворителя остается всегда на тождественной высоте.)

ÜBER EINE ANWENDUNG DER „GESTRECKTEN“
 PAPIERCHROMATOGRAPHIE

O. Szentjóni und B. Lutter

Die Verfasser beschreiben in ihrer Arbeit eine Anwendung der von Gy. Csobán ausgearbeiteten Methode der gestreckten Papierchromatographie. Bei wiederholter Wanderung des Lösungsmittels wird dessen Front immer auf gleicher Höhe gehalten und so können auf Grund der veränderten R_f Werte die ursprünglichen R_f Werte auf graphischem Wege sofort bestimmt werden. Dadurch wird die Fronthöhenmessung, nach den einzelnen Wanderungen bzw. die Kenntnis des R_f Wertes der unbekannt Flecke überflüssig. Es genügt nach einer entsprechenden Anzahl von Wanderungen (bei gleicher Fronthöhe) den veränderten R_f Wert zu bestimmen.

AN APPLICATION OF THE EXTENDED PAPER
 CHROMATOGRAPHY

O. Szentjóni and B. Lutter

The authors deal with an application of extended paper chromatography recently suggested by Gy. Csobán. On maintaining at repeated migrations the front line height of solvent always on the same site, the original R_f values can immediately be determined by a graphical way, if the changed R_f values are known. This technique makes measurements of front line heights after migrations, and determinations of the R_f value of the unknown spot superfluous. It proved satisfactory to determine only the changed R_f value, subsequent to migrations repeated in an appropriate number (at identical front line height).