

Z Zakładu Chemii Ogólnej Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Lublinie
Kierownik: zast. prof. dr Irena Krzeczowska

Irena KRZECZKOWSKA

Sposób termiczny wywoływania aminokwasów

Термический метод проявления аминокислот

Thermic Method of Developing Amino-acids

W reakcjach aminokwasów z ninhydryną i izatyną otrzymuje się na chromatogramach plamy nietrwałe. Utrwalenie barwnych plam na bibule wymaga dodatkowych czynności i osiąga się słabe wyniki. Celem niniejszej pracy było opracowanie takiej techniki wywoływania, która dawałaby od razu plamy trwałe.

Nowy sposób wywoływania aminokwasów na chromatogramach przy pomocy ogrzewania do 220°C może spełnić ten warunek.

BADANIA WŁASNE

Badania przeprowadzono metodami chromatografii krążkowej oraz jedno- i dwukierunkowej. Do badań używano bibuły Whatman N 3, która znacznie lepiej nadaje się do termicznego wywoływania niż bibuła Whatman N 1.

Do chromatografii krążkowej używano eksikatorów o średnicy 31 cm z rozpuszczalnikiem: n-butanol — kw. octowy — woda w stosunku 4:1:1.

Do dwukierunkowej chromatografii używano rozpuszczalnika, który podano wyżej oraz układów: propanol — woda w stosunku 7:3 lub fenol — woda w stosunku 7:3.

Nakraplano 0,1% roztwory aminokwasów po 0,05 ml aminokwasów o mniejszych Rf — oraz po 0,1 ml, a nawet 0,15 ml aminokwasów o większym Rf.

Chromatogramy suszono na wolnym powietrzu, rozcinano na cztery części, z których jedną wywoływano ninhydryną, drugą izatyną, trzecią termicznie, a czwartą ninhydryną lub izatyną, a po zniknięciu barwy raz jeszcze wywoływano termicznie.

Wywoływanie termiczne polegało na ogrzewaniu chromatogramów w suszarce w temp. od 150° do 220°C.

Termicznemu wywoływaniu w suszarce poddawano chromatogram tak długo, póki na bibule nie zarysowały się brązowe krążki w miejscach, w których znajdowały się aminokwasy.

Metodę termicznego wywoływania zastosowano do wywołania i utrwalania chromatogramów:

- 1) poszczególnych aminokwasów
- 2) mieszaniny aminokwasów
- 3) aminokwasów w materiale biologicznym:
 - a) w moczu patologicznym
 - b) w hydrolizatach białkowych maczugowca błonicy
 - c) w prątku BCG szczepu brazylijskiego Moreau
 - d) w autolizatach paciorkowców hemolizujących i gronkowca złocistego
- 4) kompleksów aminokwasów z miedzią.

Załączone ryciny ilustrują otrzymane wyniki. (Ryc. 1—14).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Niektóre aminokwasy wywołane izatyną znikają już po paru godzinach, barwne krążki i plamki otrzymane z ninhydryną są trwalsze ale nawet po utrwaleniu parafiną znikają dosyć szybko.

Metoda termiczna pozwala na wywoływanie aminokwasów w sposób trwały i będzie mogła być zastosowana przy dokumentacji prac.

Wywoływano termicznie zarówno świeżo rozwinięte chromatogramy, jak i chromatogramy uprzednio wywołane izatyną lub ninhydryną. Okazało się, że nawet po zniknięciu barw wywołanych izatyną i ninhydryną, wywołaniem termicznym można uzyskać brązowe krążki w miejscu, w którym znajdowały się poprzednio barwne krążki lub plamki.

Uzyskane chromatogramy przy dostatecznym stężeniu aminokwasów są tak wyraźne, że można je fotografować.

Ten sposób utrwalania zidentyfikowanych testami ninhydrynowymi lub izatynowymi aminokwasów może oddać usługi przy dokumentacji uzyskanych wyników.

Sposób termicznego wywoływania nadaje się do wykrywania wszystkich aminokwasów. Czułość metody nie jest jednakowa dla wszystkich aminokwasów. Daje się zauważyć proporcjonalność intensywności zabarwienia do stężenia nakropłonego aminokwasu.

Prawdopodobnie termiczne wywoływanie i utrwalanie da się zastosować również i do innych związków organicznych. Dalsze badania w toku.

РЕЗЮМЕ

Автор описывает новый метод термического проявления и фиксации хроматограмм аминокислот.

Метод этот состоит в нагревании в термостате соответственно повешенной хроматограммы при температуре 150° — 220° С. Высота температуры зависит от рода аминокислоты и ее концентрации. Применялась бумага „Whatman № 3“.

Описываемый метод был применен для проявления и фиксации хроматограмм:

- 1) отдельных аминокислот,
- 2) смешанных аминокислот,
- 3) аминокислот в биологическом материале (в патологической моче, в белковых гидролизатах дифтерийной палочки и палочки BCG),
- 4) комплексов аминокислот с медью.

По всей вероятности этот метод будет пригоден для обоснования работ относительно многих других органических соединений.

Ведутся дальнейшие исследования.

SUMMARY

There is presented a new method of thermic developing and fixing of chromatograms. The method consists in heating in the exsiccator properly suspended chromatograms in the temperature from 150 to 220° С. The temperature depends on the kind of amino-acid and on its concentration. Filtering paper Whatman No 3 was used.

The method was used for developing and fixing chromatograms of:

1. separate amino-acids,
2. mixtures of amino-acids,
3. amino-acids in biological material (pathologically changed urine, protein hydrolysates of *Bacillus diphtheriae* and BCG bacillus),
4. amino-acid and copper complexes.

Probably the method may be also used to investigate other organic compounds.

Further studies are pending.



Ryc. 1. Cystyna wywołana termicznie (bibuła Whatman N 3)



Ryc. 2. Tyrozyna wywołana termicznie (bibuła Whatman N 3)



Ryc. 3. Tryptofan wywołany termicznie (bibuła Whatman N 1)



Ryc. 4. Prolina wywołana izatyną (bibuła Whatman N 3)



Ryc. 5. Prolina wywołana termicznie (bibuła Whatman N 3)



Ryc. 6. Mieszanina aminokwasów: histydyna, kwas glutaminowy, prolina, norwalina, feniloalanina (bibuła Whatman N 1)



Ryc. 7. Mieszanina aminokwasów: lizyna, asparagina, glucyna, seryna, tryptofan
(bibuła Whatman Nr 1)



Ryc. 8. Mieszanina aminokwasów: cystyna, histydyna, alanina, leucyna
(bibuła Whatman N 3)



Ryc. 9. Aminokwasy w moczu patologicznym (bibuła Whatman N 3)



Ryc. 10. Aminokwasy w moczu patologicznym (bibuła Whatman N 3)



Ryc. 11. Aminokwasy w ekstrakcie alkoholowym maczugowca błonicy (bibuła Whatman N 3)



Ryc. 12. Aminokwasy w szczepionce BCG szczepu brazylijskiego Moreau (bibuła Whatman N 3)



Ryc. 13. Kompleksy cystyny z miedzią (bibuła Whatman N 1).



Ryc. 14. Kompleksy proliny z miedzią (bibuła Whatman N 1)

