



糖的纸层析显色剂的比较

韩文珍 张树政

(中国科学院微生物研究所, 北京)

由于在纸层析时一些糖的 R_f 值相当接近, 因而仅靠 R_f 值难以达到鉴定目的。为此, 我们选用 14 种不同的糖显色剂, 比较了各种糖的颜色反应, 利用某些糖的特殊颜色反应, 可以对 R_f 值相近的糖作进一步的鉴别。

本工作主要参考文献为 Block 等所著纸层析及纸电泳手册^[1], 下列试剂 5—10, 12 及 13 均参考该书。试剂 1 根据 Trevelyan 方法^[2]作了修改。试剂 2 根据 Cifonelli^[3], 试剂 3 根据 Harris^[4], 试剂 4 为我们自己修改的, 试剂 11 根据 Forsyth^[5]。

所用滤纸为 Whatman No. 1, 及国产新华 1 号, 展开剂为正丁醇:醋酸:水 = 4:1:5 (V/V), 用其溶剂层。上行法, 在恒温室 15°C, 走 18 小时左右。现将这 14 种显色剂的配制与显色情况介绍如下。

一、各种显色剂的配制及显色方法

(一) 氧化剂类型的显色剂

1. 硝酸银: (1) 10% 硝酸银水溶液:丙酮 = 1:9 (V/V), (2) 1% NaOH 乙醇溶液 (W/V), (3) 6N 的 NH_4OH 。显色方法: 在层析纸上先喷试剂(1), 在室温风干, 再将层析纸浸入试剂(2), 等色点完全显出后, 再浸入试剂(3)中, 以洗去滤纸上的 Ag_2O , 然后先用蒸馏水洗再用自来水洗一小时左右, 最后将色谱风干。还原糖显棕黑色斑点。

2. 过碘酸-联苯胺: (1) 0.01M 过碘酸钾水溶液 (加热溶解)。(2) 0.1M 联苯胺的 50% 乙醇溶液 10ml, 加丙酮 2ml, 加 0.2N HCl 1ml。显色方法: 将层析纸先以试剂(1)喷雾, 尽量少喷, 以后放入 30°C 温箱中, 氧化 6 分钟后, 再用试剂(2)喷雾, 此时底色呈蓝色, 斑点白色。凡

有相邻羟基的化合物均可显色。

(二) 胺类显色剂

1. 苯胺-二苯胺: 2% 二苯胺丙酮溶液:2% 苯胺丙酮溶液:85% 磷酸 = 5:5:1 (V/V)。显色方法: 把层析纸用显色剂浸后风干, 放 100°C 加热 3 分钟。

2. 修改的苯胺-二苯胺: 2% 二苯胺丙酮溶液 5ml, 加 2% 苯胺丙酮溶液 5ml, 再加三氯乙酸 5g, 其显色方法与上述相同。此试剂对多种糖均能显色, 尤其是对有 1, 4 键结合的双糖显鲜蓝色, 具有特殊的鉴定意义。

3. 苯胺-邻苯二甲酸: 邻苯二甲酸 1.6g 溶于水饱和的正丁醇 100ml, 加苯胺 0.93g (约等于 0.9ml)。显色方法: 将纸谱用试剂喷雾后, 置 105°C 加热 5—10 分钟, 在此情况下, 戊醛糖显鲜红色, 己醛糖及糖醛酸为棕色, 酮糖不易显色, 果糖, 蔗糖, 棉子糖不显色, 但在 115—120°C 加热 10 分钟蔗糖也可显色。

4. 对甲氧基苯胺: 0.5g 对甲氧基苯胺溶于 2ml 比重为 1.75 的磷酸中, 以乙醇稀释至 50ml, 把对甲氧基苯胺磷酸盐沉淀过滤, 滤液 (A) 保存。沉淀部分溶于尽可能少的水中, 以等量乙醇稀释, 加磷酸至终浓度为 2% (B), 将 (A) (B) 混合。显色方法: 将层析纸用显色剂喷雾, 置 95—100°C 加热 5 分钟。多种糖可显不同颜色。

5. 联苯胺: 0.5g 联苯胺溶在 5ml 冰醋酸中, 加 4g 三氯乙酸 (事先溶于 5ml 水中), 再加 90ml 丙酮。显色方法: 将层析纸浸入显色剂中, 取出风干, 置 100°C 加热 5 分钟。多种糖能显不同的颜色, 但一些非糖物质能显色, 有干扰。

(三) 酚类显色剂

1. α -萘酚: 1% α -萘酚酒精溶液:85% 的磷

量=10:1(V/V)。显色方法:用显色剂对层析纸喷雾,置90℃加热至出现斑点。醛糖不显色,酮糖显色,果糖及含有果糖的寡糖如蔗糖,糖子糖显紫色。

2. 甲基间苯二酚: 0.5g 甲基间苯二酚和1g三氯乙酸溶于100ml水饱和的正丁醇中。密封存放,每周新配。显色方法:层析纸喷此显色剂后,置105℃加热2分钟。此试剂对庚酮糖有专一性,如景天庚酮糖显蓝色,己酮糖为黄色,戊酮糖为灰绿色,醛糖不显色。

3. 间苯三酚,冰醋酸25ml,加HCl1ml,5%间苯三酚乙醇溶液2.5ml。显色方法:将层析纸喷此显色剂后,室温干燥,然后于90℃加热2分钟,酮糖显橙黄色,戊醛糖紫红色,己醛糖不显色。

4. 间苯二酚:1%间苯二酚乙醇溶液:2N HCl = 1:9(V/V)。显色方法:层析纸喷雾后,置80℃加热10分钟。

5. 间苯二酚:1%间苯二酚乙醇溶液:0.2N HCl = 1:1(V/V)。显色方法:层析纸喷雾后,置85℃加热15分钟。酮糖显色,醛糖不显色。

6. 间苯二酚:0.2%间苯二酚丙酮溶液:3N磷酸溶液 = 5:1(V/V)。显色方法:将层析纸浸于显色液中,取出置105℃,加热5分钟。也是只有酮糖显色。

(四) 其他显色剂

两种显色剂并用,层析纸先以甲基间苯二

酚显色剂喷雾显色后,再喷苯胺-邻苯二甲酸显色剂(成份同前),可用来区别木酮糖(紫色),与核酮糖(粉红色)。

二、不同显色剂对各种糖的显色结果

将多种糖的纸层析谱,用以上14种显色剂显色情况及其在紫外光下的变化,列于表1。由表1结果看出,根据不同的糖以各种显色剂发色后表现的颜色不同和在紫外光下的颜色与荧光现象不同,可以有效地将其区别。

糖的显色与样品的量有关系,与加热温度及时间也有关,另外展开溶剂也影响显色。有些颜色不稳定,随时间加长而起变化。有些颜色具有不同的色调。表中所记各色只是凭主观判断,没有与标准色谱比较。为了对未知糖进行鉴定,最好同时与标准样品对比,不能仅根据文献报道来决定。

参 考 文 献

- [1] Block, R. T., et al.: *A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis*, Academic Press, New York, pp. 127—156. 1955.
- [2] Trevelyan, W. E., et al.: *Nature*, **166**: 444. 1950.
- [3] Cifonelli, J. A., et al.: *Anal Chem*, **26**: 1132. 1954
- [4] Harris, G., et al.: *Chemistry and Industry P.* 249. 1954.
- [5] Forsyth, W. G. C.: *Nature* **161**: 239, 1948.