

We wish to thank Prof. A. TISELIUS for stimulating discussions. The work has been financially supported by the U.S. Department of Army, through its European Office, under contract number DA-91-591-EUC-1025.

Institute of Biochemistry, University of Uppsala (Sweden)

WALTER BJÖRK
INGVAR SVENSSON

¹ G. GOMORI, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 62 (1946) 33.

² G. GOMORI, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 68 (1948) 354.

³ H. G. BOMAN AND L. E. WESTLUND, *Arch. Biochem. Biophys.*, 64 (1956) 217.

⁴ I. M. KOLTHOFF AND E. B. SANDELL, *Textbook of Quantitative Inorganic Analysis*, 3rd Ed., MacMillan Co., New York, 1952, p. 548.

⁵ W. BJÖRK AND I. SVENSSON, to be published.

⁶ W. BJÖRK, *J. Chromatog.*, 2 (1959) 536.

⁷ B. G. MALMSTRÖM, *Arch. Biochem. Biophys.*, 58 (1955) 381.

Received March 18th, 1960

J. Chromatog., 4 (1960) 88-91

Papierchromatographische Bestimmung des Gibberellinsäuregehaltes in Gärflüssigkeiten

Es wird eine Methode für die quantitative Bestimmung von Gibberellinsäure als Produkt der metabolischen Tätigkeit verschiedener Stämme von *Fusarium moniliforme* beschrieben, die sich der Technik der absteigenden Chromatographie im System Butylacetat-Wasser bedient. Alle Bestimmungen werden unter Verwendung der üblichen Papiersorten (Whatman No. 1 oder Schleicher-Schüll No. 598) auf Grund der Technik des Überfließens bei sägeförmig zugeschnittenem unterem Papierrande durchgeführt. Auf jeden Papierstreifen werden 12 Proben und zwar sechs Standardproben ($2 \times 20 \mu\text{g}$, $2 \times 60 \mu\text{g}$, $2 \times 120 \mu\text{g}$) und sechs Gärflüssigkeitsproben aufgetragen.

Für Standardpräparate wird krystallinisches Gibberellinsäurepulver verwendet, das in einer $0.1 M \text{KH}_2\text{PO}_4$ -Lösung aufgelöst wird, deren pH mittels $2 N \text{HCl}$ auf 2.5 bis 3.0 eingestellt worden ist. Endkonzentrationen zu 20, 60 und $120 \mu\text{g/ml}$ werden durch Verdünnung einer Vorratslösung von $1000 \mu\text{g/ml}$ mittels KH_2PO_4 -Lösung hergestellt. In eingeschliffenen Zentrifugier-Röhrchen werden je 5 ml der hergestellten Standardlösung zusammen mit je einem ml *n*-Butanol geschüttelt, bis der Wirkungsstoff in die organische Phase übergeht. Sodann werden jeweils 0.05 ml dieser organischen Phase auf die Startpunkte der chromatographischen Papierstreifen aufgetragen (Durchmesser der Flecke 0.7 bis 0.8 cm), deren Gibberellinsäuregehalt dem eines ml der Gärflüssigkeit äquivalent gehalten werden soll.

Die Gärflüssigkeitsproben entsprechen 5.5 bis 6 ml des Kulturfiltrats. Nach der Einstellung des pH mittels $2 N \text{HCl}$ auf 2.5 bis 3.0 werden die ausgeflockten Unreinigkeiten abzentrifugiert und 5 ml Supernatans werden mit je einem ml *n*-Butanol ähnlich wie die Standardproben geschüttelt. Sodann werden ebenfalls wieder 0.05 ml

der organischen Phase auf das chromatographische Papier aufgetragen. Sie bringen Ergebnisse in $\mu\text{g/ml}$.

Nach der wie üblich vorgenommenen Einlage des Papiers in den chromatographischen Zylinder dauert der Atmosphärenausgleich in demselben und die Sättigung des Papiers 10 bis 18 Stunden. Zum Schlusse wird das Chromatogramm 7 Stunden lang entwickelt.

Die Gibberellinsäure wird nach der Beendigung des Chromatographieprozesses nach der Methode von OVERBEEK *et al.*¹ sichtbar gemacht. Ihr Gehalt wird sodann in Werten der Flächengrösse des Probeflecks von einer Kalibrationskurve abgelesen, die aus Standardwerten (120, 60 und 20 μg) konstruiert ist.

Die Anwendung des Systems Butylacetat-Wasser erscheint für die quantitative Bestimmung eines Stoffes mit einer Karboxylgruppe von der Art der Gibberellinsäure zweckmässig. Durch Dissoziationseinfluss entstehen bei der Chromatographie in diesem neutralen System langgezogene Flecke und man gewinnt so eine ausreichende Abstufung der Fleckgrösse der untersuchten Proben mit einem verschiedenen Gehalt an Gibberellinsäure.

Die besten Ergebnisse erzielt man bei Flächengrössen, die 40 bis 100 μg Gibberellinsäure entsprechen. Deshalb soll die Probe mittels KH_2PO_4 -Lösung annähernd auf diese Konzentration eingestellt werden. Das Maximum der Fehlerquelle dieser Bestimmung beträgt etwa 10 bis 15%. Die untere Grenze der Empfindlichkeit der Methode liegt bei 5 μg .

*Mikrobiologische Abteilung, Biologisches Institut der
Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag
(Tschechoslowakei)*

M. PODOJIL
V. ŠEVČÍK

¹ J. VAN OVERBEEK, D. RACUSEN, M. W. TOGAMI UND W. J. HUGHES, *Plant Physiol.*, 32 (1957) Suppl.

Eingegangen den 22. Februar 1960

J. Chromatog., 4 (1960) 91-92

ERRATUM

J. Chromatog., 3 (1960) 353-356.

Bei den Figuren 1-7 muss es heissen: "Stationäre Phase: Di-*n*-decylphthalat (Säule A)" und nicht "Stationäre Phase: Siliconöl (Säule C)".

J. Chromatog., 4 (1960) 92