

définitive résulte de la mesure du temps de rétention du ou des pics soulignés comme à l'accoutumée (voir Fig. 2).

Une vingtaine de dérivés chlorés, bromés et iodés ont été essayés, qui tous ont donné une réponse positive à ce test simple. La réaction paraît sensible, des pics de quelques millimètres de hauteur seulement, pour un catharomètre réglé au maximum de sa sensibilité, donnant une lueur encore perceptible.

Il n'est pas impossible que l'intensité de la lueur puisse être mise à profit, au

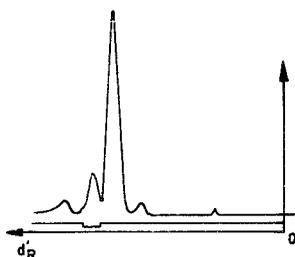


Fig. 2. Marquage du pic d'un dérivé halogéné sur le chromatogramme pendant la sortie de celui-ci.

moyen d'un photomultiplicateur d'électrons, pour réaliser, sur un enregistrement séparé, le tracé des pics des seuls dérivés halogénés présents dans un mélange complexe, et peut être leur dosage.

Sans attendre ce perfectionnement, le dispositif simple décrit ci-dessus rend déjà service dans la pratique de nos déterminations analytiques courantes, pour lesquelles la caractérisation univoque des dérivés halogénés ne pose plus de problème.

Laboratoire Municipal,
Paris (France)

P. CHOVIN
J. LEBBE
H. MOUREU

Reçu le 15 mai 1961

J. Chromatog., 6 (1961) 363-365

Dünnschichtchromatographische Trennung von Nucleinsäure-Derivaten an Celluloseschichten

Die Dünnschichtchromatographie¹ von Nucleinsäure-Derivaten an den bisher gebräuchlichen Schichten (aus Kieselgel G und Aluminiumoxid G für Dünnschichtchromatographie*) erwies sich in orientierenden Versuchen als unvorteilhaft. Der einfache Nachweis dieser Verbindungen durch Betrachtung im U.V.-Licht² wird durch die Eigenabsorption der Schichten gestört. Dies ist bei von uns hergestellten Cellulosepulvern für die Dünnschichtchromatographie nicht der Fall. Seit kurzem ist auch ein Cellulosepulver für dieses Verfahren im Handel erhältlich**. Das gipsfreie Cellulosepulver MN 300** ergibt ohne Bindemittel mit Aceton recht fest haftende Schichten.

* Fa. Merck, Darmstadt (Deutschland).

** Fa. Macherey, Nagel & Co., Düren (Deutschland).

Nach unseren Erfahrungen lassen sich Nucleobasen und Nucleoside bereits mit destilliertem Wasser (Laufmittel 1) chromatographieren (Tabelle I), während für

TABELLE I
R_F-WERTE VON NUCLEOBASEN UND
NUCLEOSIDEN; LAUFMITTEL 1 (s. Text)

Substanz	R _F
Adenin	0.30
Adenosin	0.53
Hypoxanthin	0.55
Inosin	0.70
Guanin	0.37
Guanosin	0.58
Uracil	0.72
Uridin	0.81
Cytidin	0.80
6-Chlorpurin	0.64
2,6-Diaminopurin	0.21

Nucleotide *n*-Butanol-Aceton-Eisessig-5% NH₃-H₂O im Volumverhältnis 4.5:1.5:1:1:2 (Laufmittel 2) geeignet ist (Tabelle II).

TABELLE II
R_F-WERTE VON NUCLEOTIDEN; LAUFMITTEL 2 (s. Text)

Substanz	R _F
Adenosin-5'-monophosphat	0.38
Adenosindiphosphat	0.26
Adenosintri-phosphat	0.16
Cytidin-5'-monophosphat	0.34
Cytidindiphosphat	0.22
Cytidintri-phosphat	0.13
Uridin-5'-monophosphat	0.37
Uridindiphosphat	0.25
Uridintri-phosphat	0.17

Man beobachtet sehr scharf begrenzte runde Flecke. Bei Direktbeobachtung im U.V.-Licht lassen sich noch *ca.* 10⁻³ μMol Adeninverbindungen nachweisen, für Cytosin- und Uracilverbindungen liegt die Erfassungsgrenze etwas höher.

Herstellung der Schicht

10 g Cellulosepulver MN 300 (gipsfrei) werden mit 50-60 ml Aceton im Mörser verrührt und in üblicher Weise auf die Platten aufgestrichen*. Die Schichten werden 3-5 Minuten im warmen Luftstrom getrocknet und sind sofort verwendungsfähig.

* Fa. Desaga G.m.b.H., Heidelberg (Deutschland), Grundausrüstung Nr. 600.

Ausführung der Chromatographie

Die Substanz—im allgemeinen 2–5 γ —wird 2.5 cm vom unteren Plattenrand mit einer Mikropipette aufgetragen. Der Durchmesser des Startflecks sollte 3–4 mm nicht überschreiten. Das Entwicklungsgefäß ist bis zu einer Höhe von 1 cm mit dem Laufmittel gefüllt.

Laufzeiten (Laufstrecke 10 cm): Laufmittel 1: 30 Min; Laufmittel 2: 50–60 Min.

Die Platten werden im Trockenschrank (100°) oder im warmen Luftstrom getrocknet. Der Nachweis der Verbindungen erfolgt im Aufflicht einer U.V.-Lampe (Emissionsmaximum bei etwa 260 m μ).

Als Hauptvorteile der Dünnschichtchromatographie der Nucleinsäure-Derivate an Celluloseschichten gegenüber der Papierchromatographie möchten wir die niedrigere Erfassungsgrenze und die wesentlich kürzere Laufzeit ansehen.

*Institut für Organische Chemie der
Technischen Hochschule, Darmstadt
und*

KURT RANDEARTH

*Chemisch-pharmazeutische Fabrik
Adolf Klänge & Co., München
(Deutschland)*

HANSJÜRGEN STRUCK

¹ E. STAHL, *Chemiker-Z.*, 82 (1958) 323.

² E. R. HOLIDAY UND E. A. JOHNSON, *Nature*, 163 (1949) 216.

Eingegangen den 1. August 1961

J. Chromatog., 6 (1961) 365–367

Notes

Detection of nitrate on paper chromatograms with a corrosive reagent

Diphenylbenzidine in concentrated sulphuric acid is a sensitive reagent for nitrate¹. It has not hitherto been used on paper chromatograms, since sulphuric acid solutions are too viscous and corrosive to be used as sprays or dip-reagents. The following procedure permits the use of this reagent on paper.

A small amount of reagent (0.02 % diphenylbenzidine in concentrated sulphuric acid) is poured into the lower half of a petri dish, and spread in a thin film over the bottom. A piece of paper is laid on the chromatogram over the suspected position of the nitrate spot and the overlaid paper and test-piece are cut out together so that a facsimile of the test-piece is produced, together with the test-piece itself. The test-piece is laid carefully into the reagent-wetted petri dish, so that no bubbles are trapped beneath, and the lid is put on. The whole assembly is quickly inverted,

J. Chromatog., 6 (1961) 367–368