

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*

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

KURT RANDEARTH

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

so that the test-piece is left adhering to the (now) uppermost inner surface of the dish. The nitrate, if present, will be shown by a dark blue spot. The position of the spot can be reproduced by free-hand drawing or tracing on the facsimile, which can then be fitted into the original chromatogram and fixed there with cellulose tape. This is made easier if the test-piece and facsimile are cut out with pinking shears.

The limit of detection of this procedure is $1 \mu\text{g}$ potassium nitrate, when applied to Whatman No. 1 paper in $5 \mu\text{l}$ water and developed with pyridine-ethanol-water-concentrated ammonium hydroxide (60:20:16:4). The reagent is more sensitive and specific than brucine², Laurent's acid-ammoniacal silver nitrate-fluorescein reagent², aniline-glucose reagent³, or alkaline 2% phenolphthalein. These reagents give no reaction with $10 \mu\text{g}$ potassium nitrate.

The procedure could be adapted to the examination of whole chromatograms by the use of glass strips or sheets in place of petri dishes. It could also be adapted to the use of other corrosive reagents which could not be used on paper in the normal way.

This work was supported jointly by the Australian Mining Industry Research Association, the Commonwealth Bureau of Mineral Resources, and the C.S.I.R.O.

*Commonwealth Scientific and Industrial
Research Organisation,
Division of Plant Industry,
Black Mountain, Canberra, A.C.T. (Australia)*

K. W. LOACH

¹ F. FEIGL, *Spot Tests in Inorganic Analysis*, 5th Ed., Elsevier, Amsterdam, 1958, p. 327.

² I. I. M. ELBEIH AND M. A. ABOU-ELNAGA, *Anal. Chim. Acta*, 23 (1960) 30.

³ H. WOLFFGANG, *Naturwiss.*, 44 (1957) 538.

Received May 4th, 1961

J. Chromatog., 6 (1961) 367-368

Über die Reinigung von Urease mittels Chromatographie

Bei der chromatographischen Reinigung von Trypsin hat sich CAM-Pulver (Schleicher und Schüll) als Säulenfüllung bewährt¹. Weiterhin ist versucht worden, handelsübliche Urease-Präparate (Merck, Darmstadt) zu reinigen bzw. die Enzymaktivität anzureichern. Hierfür zeigte sich ebenfalls CAM-Pulver* als am besten geeignet. Als brauchbares Eluierungsmittel erwies sich eine 0.2 N Na-Phosphatlösung².

Zur Vorbehandlung der stationären Phase ist das CAM-Pulver nacheinander mit 0.2 N HCl, aqua dest., 0.2 N NaOH und wieder mit aqua dest. gewaschen worden. Hierbei kamen auf je 10 g CAM-Pulver 100 ml 0.2 N HCl und 100 ml 0.2 N NaOH. Es ist bis zur Cl-Freiheit bzw. zur Neutralität mit aqua dest. gespült worden. Die nach der NaOH-Behandlung neutral gewaschenen Pulver konnten bei 4° bis zur weiteren

* CAM-Pulver wurde uns freundlicherweise von der Firma Schleicher und Schüll, Dassel Kr. Einbeck, zur Verfügung gestellt.

J. Chromatog., 6 (1961) 368-369