

Zwei Universalreagentien zur Dünnschichtchromatographie

Im Verlaufe unserer Untersuchungen über die Reaktionen von Phosphinoxyden (vgl.¹⁾ erwies es sich als wünschenswert, die Dünnschichtchromatographie an Kieselgel² als analytische Methode mit heranzuziehen.

Wir fanden, dass die bisher beschriebenen Reagentien, wie konz. Schwefelsäure oder Antimonpentachlorid, nicht zur Oxydation der Phosphinoxyde zu kohligem Substanzen ausreichen; eine Anfärbung durch Komplexbildung gelang ebenso wenig wie die Kenntlichmachung durch Fluoreszenzlöschung.

Im folgenden teilen wir die Anwendung zweier universell brauchbarer Reagentien hoher Oxydationskraft mit, die durch Farbänderung die Anwesenheit organischer Substanz anzeigen:

1. *Bichromat-Schwefelsäure*. Man besprüht die entwickelte und zur Vertreibung des Lösungsmittels 10 min im Trockenschrank auf 110° erhitzte Platte mit einer Lösung von 3 g Natriumbichromat in 20 ml Wasser und 10 ml konz. Schwefelsäure. Die Substanzflecken treten alsbald gelbgrün auf dem roten Untergrund hervor und werden rein grün, wenn die Platte nochmals einige Zeit im Trockenschrank erhitzt wird. An der Laborluft ist die Färbung nicht haltbar, nach einiger Zeit wird die ganze Platte grün.

2. *Kaliumpermanganat-Schwefelsäure*. Noch besser und empfindlicher reagiert eine Lösung von 0.5 g Kaliumpermanganat in 15 ml konz. Schwefelsäure (Vorsicht! Keine grösseren Mengen ansetzen, da Manganheptoxyd zu Explosionen Anlass geben kann, vgl.³).

Man befreit die Dünnschichtplatten durch 10 min Erhitzen vom Lösungsmittel und lässt sie dann im Plattenvorratsschrank auf 50° abkühlen. Beim Besprühen mit der dunkelgrünen Reagenslösung treten die Substanzflecke *sofort* weiss auf rosa Hintergrund hervor. Die Farbtiefe des Hintergrunds verstärkt sich allmählich etwas durch Aufnahme von Wasserdampf aus der Luft. Die Reagenslösung ist 1-2 Tage lang brauchbar.

TABELLE I

Substanz	Elutionsmittel	R _F
Triphenylphosphinoxyd	Aceton	0.85
Diphenylbenzylphosphinoxyd	Aceton	0.87
Äthyldiphenylphosphinoxyd	Aceton	0.62
Methyldiphenylphosphinoxyd	Aceton	0.45
Diphenyl- α -brombenzylphosphinoxyd	Aceton	0.95
Diphenyl- α -nitrobenzylphosphinoxyd	Aceton	ca. 0.30
Phenylbenzylsulfid	Chloroform	0.95
Phenylbenzylsulfoxyd	Chloroform	0.08
Phenylbenzylsulfon	Chloroform	0.27
	Aceton-Benzol	
	(2:1) (1:1)	(1:2)
Diphenyl- α -hydroxy-benzyl-phosphinoxyd (Schmp. 176°)	0.78 0.66	0.46
Diphenyl- α -acetoxybenzyl-phosphinoxyd (Schmp. 175°)	0.90 0.77	0.72

Die Nachweisgrenze für Phosphinoxyde liegt bei 1 γ . Da viele der untersuchten Substanzen¹ auch bei einer Auftragung von 500 γ nach der Entwicklung keine "Schwanzbildung" zeigen, kann man bei genügend unterschiedlichen R_F -Werten Verunreinigungen von 1 % noch gut erkennen. In Tabelle I werden einige R_F -Werte verschiedener Substanzgruppen angegeben (zur Anfärbung Permanganat-Schwefelsäure).

Da die Permanganat-Schwefelsäure sogar Vaseline oxydiert, kann die beschriebene Methode zur Untersuchung auch von Kohlenwasserstoffen aller Art Anwendung finden.

Eine weitere sehr empfindliche Reaktion auf bestimmte organische Verbindungen, die dreiwertiges Eisen zu zweiwertigem reduzieren (z.B. Phenole), gründet sich auf den Nachweis von Eisen (II) als Berliner Blau. Man besprüht die entwickelte Platte mit 5-10 % FeCl_3 -Lösung, dann mit 5 % Kaliumcyanoferrat (III)-Lösung; die Substanzflecken färben sich tiefblau.

*Institut für organische Chemie der Universität
Mainz (Deutschland)*

H. ERTEL
L. HORNER

¹ L. HORNER, H. HOFFMANN, H. ERTEL UND G. KLAHRE, *Tetrahedron Letters*, 1 (1961) 9.

² E. STAHL, *Chemiker-Ztg.*, 82 (1958) 323.

³ E. H. RIESENFELD, *Lehrbuch der anorganischen Chemie*, 4. Aufl., Rascher Verlag, Zürich, S. 546.

Eingegangen den 10. Juli 1961

J. Chromatog., 7 (1962) 268-269

The chromatography of barley ribonuclease

Ribonucleases with limited specificity may prove highly valuable in elucidating the structure of ribonucleic acids. Purity, however, is almost an absolute prerequisite for such a purpose.

Several proteins with a slightly basic character have successfully been chromatographed on an Amberlite XE-64 column using elution analysis, mostly in the presence of phosphate ions. We have been able to purify considerably a ribonuclease from barley (B.RNase) with a similar system, but avoiding the interaction of a polyvalent anion, which tends to increase the negative net charge of a protein.

The cation exchanger is purified according to HIRS¹. 0.2 M cacodylate, adjusted to pH 6.00 with NaOH and to $\Gamma/2$ 0.2 with NaCl, is used for equilibrating the column and the enzyme solution, and for elution. The column is loaded with 1 ml of an enzyme solution partially purified by $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -fractionation² and containing approximately 8 mg protein.

It is seen that the RNase-activity is eluted in two peaks (Fig. 1), named succes-

J. Chromatog., 7 (1962) 269-271