

of separating ethanol from diacetyl by a second extraction before gas chromatographic analyses are carried out. However, it was still impossible to separate ethanol from isopropanol.

*Department of Microbiology,
University of Queensland, Medical School,
Herston, Qld. 4006 (Australia)*

H. W. DOELLE

1 H. W. DOELLE, *J. Gas Chromatog.*, 5 (1967) 582.

2 H. W. DOELLE, *Antonie van Leeuwenhoek, J. Microbiol. Serol.*, 32 (1966) 373.

Received April 21st, 1969

J. Chromatog., 42 (1969) 541-543

CHROM. 4123

Trockentransfer dünn-schicht-chromatographisch abgetrennter Flecken

STAHL¹ hat die verschiedenen Kopplungs- und Transfer-Möglichkeiten zwischen Chromatographie und anderen mikroanalytischen Verfahren zusammenfassend beschrieben. Im Sinne einer Ergänzung wird eine neue Technik in der Dünnschicht-Chromatographie (DC) vorgeschlagen, die wir seit einem Jahr mit Erfolg verwenden. Wir nennen sie "DC-DC Trockentransfer".

Da bei der dünn-schicht-chromatographischen Reinheitsprüfung ein einziges System oft noch nicht alle Verunreinigungen abtrennt, werden die Proben meistens auf mehreren Platten mit verschiedenen Fliessmitteln chromatographiert. Dabei stellt sich bei verschiedenem Fliessmittel die Frage, welche Flecken miteinander übereinstimmen. Die DC-DC Trockentransfer-Technik kann hier rasch Klarheit schaffen, da sie eine Zuordnung ermöglicht.

Beschreibung der Technik

Die dünn-schicht-chromatographisch aufgetrennten Komponenten eines Substanzgemisches werden zunächst auf einer ersten DC-Platte zerstörungsfrei nachgewiesen, z.B. durch Fluoreszenzlöschung, Eigenfluoreszenz oder Eigenfärbung. Auf einer zweiten frischen Platte wird am Start eine Fläche von ca. 3 × 3 mm der Schicht weggekratzt. Der zu untersuchende Fleck wird aus der eben trocken gewordenen Schicht der ersten Platte herausgeschabt, in die schichtfreie Stelle der zweiten Platte überführt und mit einem Spatel angeedrückt. Je nach Problemstellung wird nun mit dem gleichen oder einem anderen Fliessmittel chromatographiert. Das Ausfüllen der Startstelle mit dem ausgekratzen losen Sorptionsmittel verursachte nach unseren Erfahrungen weder R_F -Wert Verschiebungen noch sonstige Störungen. Neben dem transferierten Fleck muss selbstverständlich auch das ursprüngliche Gemisch auf der Platte mitchromatographiert werden. Gegenüber der zweidimensionalen DC bietet

J. Chromatog., 42 (1969) 543-544

unsere Technik die Möglichkeit, mehrere Proben nebeneinander auf derselben Platte zu untersuchen. Der Trockentransfer ist auch zum Nachweis dünnschichtchromatographischer Artefakte geeignet, wie z.B. teilweise Zersetzung der Komponente beim Chromatographieren.

Zentrale Forschung, J. R. Geigy A.G., Basel (Schweiz)

GUSTAV SZÉKELY

I E. STAHL, *Z. Anal. Chem.*, 221 (1966) 11.

Eingegangen am 8. April 1969

J. Chromatog., 42 (1969) 543-544

CHROM. 4122

Quantitative *in situ* fluorometry of plant phenolic compounds on thin-layer plates

Most phenolic compounds, which are widely distributed in plants, exhibit a strong native fluorescence in U.V. light. Of the various analytical methods for plant phenolics¹, fluorometry² is considered 100-1000 times more sensitive than spectrophotometry. Many phenolic compounds, such as scopoletin³, caffeic acid and umbelliferone, can be estimated at concentrations of 10^{-10} to 10^{-11} g/ml which makes fluorometry desirable for determining trace amounts of phenolics in small tissue samples. This report describes the technique, already in use in this laboratory, for quantitative direct fluorometry of some phenolic compounds, especially those present in *Hydrangea* tissues^{4,5}.

Experimental

The method for separation of phenolic compounds from crude plant extracts has been previously described⁶. Aliquots, 10-20 μ l, were spotted quantitatively on TLC plates (20 \times 20 cm) which were coated with 0.25 mm thick layers of a mixture of 1:1 (w/w) cellulose powder (Avicel, FMC Corp., Penn.) and Silica Gel G. The TLC plates were developed two-dimensionally using the organic phase of a mixture of benzene-glacial acetic acid-water (2:2:1), for 3 h, in the first direction and 2% aqueous acetic acid in the second direction. The developed plates were thoroughly dried and the fluorescent compounds were located under U.V. light (3600 Å) and lightly marked with pencil. Their location on a two-dimensional TLC plate is shown in Fig. 1.

Quantitative measurement of individual phenolic compounds was carried out with a Turner Filter Fluorometer, Model-111 (Palo Alto, Calif.). The theoretical details for the use of the Turner Fluorometer in scanning fluorescent spots on one-dimensional TLC plates have been described before². For two-dimensional plates each fluorescent compound, already marked with pencil, was designated by the horizontal and vertical

J. Chromatog., 42 (1969) 544-547