

Weiterhin besteht die Möglichkeit, auf Basis der ermittelten Gesetzmäßigkeit Voraussagen für die Trennung bestimmter Isomere zu machen.

[1] Ž. Anal. Chim. **20**, 848—858 (1965) [Russisch] (Mit engl. Zus.fass.). Allunions wissenschaftliches Forsch. Inst. für Vitamine, Moskau (UdSSR). H. BIELING

Zur Analyse von komplexen Fettsäuregemischen empfehlen M. K. BHATTY und B. M. CRAIG [1] folgende *Arbeitstechniken*. Nach Überführung der freien Fettsäuren in die Methylester nimmt man durch Fest-flüssig-Chromatographie an einer Kieselgel-Silbernitrat-Kolonnen nach den Angaben von B. DE VRIES [2] eine Trennung in gesättigte, einfach, zweifach, dreifach und vierfach ungesätt. Fettsäuren vor. Die so erhaltenen Fraktionen werden der Gas-Chromatographie an einer unpolaren Säule (Auftrennung nach Kettenlänge) und der IR-Analyse (Aussagen über cis-trans-Isomere) unterworfen. Aussagen über die Lage der Doppelbindungen können durch oxydativen Abbau mit Kaliumpermanganat-Natriumperjodat, ferner durch Reduktion mit Hydrazin gewonnen werden. — Verff. weisen in *Thalictrum-Venulosum*-Öl trans-5-Hexadecen- und trans-5,cis-9-Octadecadiensäure nach.

[1] Canad. J. Biochem. **44**, 311—318 (1966). Nat. Res. Council of Canada, Prairie Reg. Lab., Saskatoon, Saskatchewan (Canada). — [2] Chem. Ind. (London) 1049 (1962); J. Am. Oil Chemists' Soc. **40**, 184 (1963); vgl. diese Z. **208**, 446 (1965).

H. GARSCHAGEN

Dünnschicht-chromatographische Trennung aliphatischer Dicarbonsäuren. Mit dem Fließmittelgemisch n-Butanol/Xylol/Phenol/Ameisensäure/Wasser (10:70:30:8:2 v/v) gelingt N. S. RAJAGOPAL, P. K. SARASWATHY, M. R. SUBBARAM und K. T. ACHAYA [1] eine ausgezeichnete Trennung der aliphatischen Dicarbonsäuren C₂ bis C₁₀. Für die Trennung der höheren Dicarbonsäuren (C₈—C₁₂) eignet sich ein aus denselben Komponenten in etwas anderen Volumenverhältnissen bestehendes Gemisch (15:65:50:8:2) ganz besonders. Zur Sichtbarmachung der Flecken wurden die Platten (Silicagel G) 30 min bei 150°C getrocknet, hierauf gekühlt und mit schwach alkalisch gemachter alkoholischer Bromkresolpurpurlösung besprüht: die Säuren erschienen als gelbe Flecken auf purpurfarbenem Grund. — Die Methode wurde mit Erfolg zur Strukturaufklärung ungesätt. Fettsäuren (nach Oxydation mit Permanganat/Perjodat) herangezogen.

[1] J. Chromatog. **24**, 217—219 (1966). Reg. Res. Laboratory, Hyderabad (Indien).

E. HÄBERLI

Eine vollständig automatische Methode zur Trennung und Bestimmung von Brenztraubensäure, Glutarsäure, Citronensäure, 2-Ketoglutaräure und trans-Aconitsäure entwickelten R. C. ZERFING und H. VEENING [1]. Die Trennung der Säuren erfolgt an einer Anionenaustauschersäule (23,5×0,9 cm; Dowex 1-X 8; 200—400 mesh; Acetatform) durch Elution mit einer Natriumacetatlösung steigender Konzentration (bis etwa 1,2 N). Das Eluat wird kontinuierlich mit einer Natriumdichromatlösung (500 mg Na₂Cr₂O₇ in 10 ml Wasser gelöst und mit konz. Schwefelsäure zu 1 l aufgefüllt) in Berührung gebracht und die Oxydation der Carbonsäuren in einer Heizschlange (95°C; Verweilzeit 10 min) bewirkt. Nach Abkühlung auf Zimmertemperatur wird die Abnahme der Dichromatkonzentration fortlaufend in einer 15 mm-Durchflußzelle colorimetrisch [424 nm-Filter (Technicon 424-18-28)] registriert. Ein Technicon AutoAnalyzer dient zum Betreiben und Überwachen der einzelnen Flüssigkeitsströme. Bei den einzelnen Säuren besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der Abnahme der Dichromatextinktion (ohne oxydierbare Säuren: Extinktion = 1) und der vorhandenen Menge. Lediglich bei der Glutarsäure ergibt sich unter den gewählten Bedingungen eine merkliche Ab-

weichung von der Linearität, die wegen fehlender reaktiver Gruppen auf einer unvollständigen Oxydation beruht. Die Trennung und Bestimmung der 5 Säuren im Milligramm-Bereich ist in 3 Std möglich. Nach einer angegebenen Testanalyse treten bei einfacher Vermessung der Peakhöhen (Dichromatextinktion als Funktion der Zeit) Fehler von $\pm 4-5\%$ auf. Eine gewisse Schwierigkeit ergibt sich aus der teilweisen Oxydation des Acetations, die bei mit der Zeit steigender Acetatkonzentration einen Drift bewirkt, der nach 3 Std einen Extinktionsabfall von 0,1 verursacht. Dieser Drift ist aber kaum ein Nachteil, da der maximale Wert des Extinktionsabfalls praktisch nach der Elution der 1. Säure erreicht wird. Die Acetat-oxydation läßt sich zwar durch Verminderung der Schwefelsäurekonzentration in der Dichromatreagenslösung eliminieren, jedoch weichen dann die Eichkurven bei stark verminderter Empfindlichkeit erheblich von der Linearität ab. — Durch Betreiben der Trennsäule bei konstanter Temperatur (67°C) — niedrigere Temperaturen ergeben unbefriedigende Auflösung — können die Retentionszeiten für die zuerst austretende Brenztraubensäure innerhalb ± 1 min, für die zuletzt austretende trans-Aconitsäure innerhalb ± 3 min reproduziert werden. Bei entsprechenden Modifizierungen erwies sich die Methode als sehr nützlich bei der Trennung und Bestimmung vieler anderer Carbonsäuren und der Untersuchung biologischer Flüssigkeiten, die Carbonsäuren enthalten.

[1] Anal. Chem. **38**, 1312—1316 (1966). Merck Sharp and Dohme Res. Labs., Merck and Co., Inc., Rahway, N. J. (USA).

H. SCHWARZ

Zur Analyse von Triglyceridgemischen von Fettsäuren mit maximal 2 Doppelbindungen schlagen M. L. BLANK, B. VERDINO und O. S. PRIVETT [1] eine Kombination *dünnschicht-, gas-chromatographischer* und *enzymatischer* Verfahren vor. Die Triglyceride werden an mit Silbernitrat imprägnierten Silicageldünnschichtplatten entsprechend ihrer Anzahl an Doppelbindungen im gesamten Molekül getrennt. In jeder Fraktion wird die Zusammensetzung der Fettsäuren gas-chromatographisch bestimmt. Nach enzymatischer Abspaltung der beiden endständigen Fettsäuren werden die β -ständigen Fettsäuren gas-chromatographisch bestimmt. Auf Grund der gaschromatographischen Analysen kann daraus auf die ursprüngliche Zusammensetzung geschlossen werden; z. B.:

— G	— G	— M	G gesättigte Fettsäure
— G	— D	— M	M einfach ungesättigte Fettsäure
— D	— G	— M	D zweifach ungesättigte Fettsäure
I	II	III	

Arbeitsweise. Die Triglyceride werden auf 20×20 cm großen Platten, die mit Silbernitrat imprägniertem Silicagel bestrichen sind, getrennt [2]. Als Fließmittel dient für die wenig ungesätt. Triglyceride eine Lösung von $0,8\%$ Methanol in Chloroform; sind mehr als 3 Doppelbindungen im Triglycerid vorhanden, so wird die Methanolkonzentration auf $2-3\%$ erhöht. Die Trennung ist nicht immer ganz vollständig, weiterhin sind die R_f -Werte etwas konzentrationsabhängig. Die getrennten Triglyceride werden durch Besprühen mit 2,7-Dichlorfluorescein ($0,1\%$ in Äthanol) entwickelt und unter einer UV-Lampe betrachtet. Die Triglyceridfraktion wird in ein 100 ml-Becherglas mit 20 ml eines Gemisches aus Methanol und Diäthyläther (1:20) gegeben, mit einer genau bekannten Menge Pentadecansäuremethylester versetzt, durch eine Glasfritte gesaugt und mit der Methanol-Äthermischung mehrmals gewaschen. Nach Zusatz von ca. 30% Petroläther ($35-60^\circ\text{C}$) wird die organische Phase dreimal mit etwa 30 ml dest. Wasser geschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet und auf 1–2 ml eingedampft. Die letzten Lösungsmittelreste werden im Vakuum abgezogen. Zur Analyse der Fettsäuren werden 1–10 mg der