

Die Ausmessung von Radialpapierchromatogrammen ungesättigter Fettsäuren mit dem Mikrophotometer

Autor(en): **Sulser, H.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und
Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **50 (1959)**

Heft 4

PDF erstellt am: **08.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983428>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

- 7) Radler F. Der Nähr- und Wuchsstoffbedarf der Aepfelsäure-abbauenden Bakterien. Arch. Mikrobiol. **32**, 1-15 (1958).
- 8) Korke S. and Ochoa S. Adaptive conversion of malate to lactate and carbon dioxide by *Lactobacillus arabinosus*. J. Biol. Chemistry **176**, 463 (1948).
- 9) Jerchel D., Flesch P. and Bauer E. Untersuchungen zum Abbau der l-Aepfelsäure durch *Bakterium gracile*. Liebigs Ann. Chem. **601**, 40 (1956).
- 10) Rich M. A. and Stern A. M. Reversal of quaternary ammonium detergent inhibition of *Sacch. cerevisiae* by a fraction derived from yeast extract. Can. J. Microbiol. **2**, 453 (1956).

Die Ausmessung von Radialpapierchromatogrammen ungesättigter Fettsäuren mit dem Mikrophotometer

Von H. Sulser

(Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes, Bern)

In der Analytik der Fettsäuren bestehen einerseits Methoden zur Gruppenanalyse (Kennzahlen), andererseits auch solche zur Bestimmung einzelner Säuren in einem Gemisch, zum Beispiel Oelsäure und Linolsäure aus Jodzahl und Rhodanzahl oder UV-Spektrophotometrie. Die Spezifität dieser letzteren Methoden ist relativ gering. Es muss berücksichtigt werden, was an sonstigen Bestandteilen eventuell vorhanden sein kann. Diese Feststellung ist oft mit Schwierigkeiten verbunden oder aber erheischt sie einen beträchtlichen Arbeitsaufwand, da es sich um Verbindungen von teilweise sehr ähnlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften handelt.

Es ist der Vorteil chromatographischer Methoden, gleichzeitig einen Ueberblick zu verschaffen und doch spezifisch zu sein. Man erkennt, um was für Fettsäuren es sich in einem bestimmten Gemisch handelt, und jede einzelne Fettsäure verhält sich trotzdem so, wie wenn ausser ihr gar keine andern vorhanden wären. Damit sind alle jene Fehlerquellen ausgeschaltet, welche auf der gegenseitigen Beeinflussung verschiedener ähnlicher Individuen beruhen. Es verwundert daher nicht, dass versucht wird, auf diese Weise gleichzeitig auch zuverlässige quantitative Angaben über die einzelnen Bestandteile zu erhalten.

In den letzten Jahren sind in steigendem Mass sogenannte synthetische Fette und Oele auf dem Markt erschienen. Es handelt sich dabei um eine Rückbildung von Glyceriden durch künstliche Veresterung der entsprechenden Fettsäuren. Die Oelindustrie setzte bis vor einem Jahrzehnt die bei der Raffination der pflanzlichen Rohöle als Natronseifen (soapstock) anfallenden Abfallsäuren bei der Seifenindustrie ab. Durch die starke Entwicklung der Produktion von künstlichen Netzmitteln und die dadurch bedingte Stockung dieser Absatzmöglichkeit war sie gezwungen, die Rückbildung jener Fettsäuren in die Speiseölproduktion

durch Veresterung zu entwickeln; vgl. die Arbeiten von *Massarotti* und *Staub* (1958) über diese Esteröle. Auch anderweitig lässt sich auf dem Gebiet der Fette und Öle eine Tendenz zu künstlicher Nachahmung und Verfälschung der Naturprodukte feststellen.

Die analytischen Kennzahlen solcher Esteröle sind denen der Naturprodukte meist so ähnlich, dass man sie nur mit Schwierigkeiten unterscheiden kann. Es sind daher spezifische Eigenschaften und Nebenbestandteile, welche man für einen zuverlässigen Nachweis heranzuziehen sucht. Chromatographische Methoden scheinen hier eine gewisse Lücke in der Analytik ausfüllen zu können. Dabei ist sicher auch die Möglichkeit der quantitativen Auswertung der Chromatogramme wichtig, denn obwohl es vielleicht gelingt, die pauschale Zusammensetzung weitgehend dem Naturprodukt anzugleichen, ist es nicht gesagt, dass dasselbe der Fall ist beim relativen quantitativen Verhältnis der einzelnen Fettsäuren zueinander.

Die quantitative Auswertung von Papierchromatogrammen kann auf zwei verschiedene Arten vorgenommen werden, nämlich direkt auf dem Papier, beziehungsweise der photographischen Reproduktion oder durch Ausschneiden der Substanzen und Elution. Beide Methoden haben ihre Vor- und Nachteile. Den Vorteil der direkten Methode sehen wir vor allem darin, dass auch sehr nahe beieinanderliegende Zonen noch ausgemessen werden können, wo das Ausschneiden zwecks Elution kaum gelingen würde.

In der vorliegenden Arbeit soll eine Methode etwas näher beschrieben werden, welche auf dem ersten Prinzip beruht und über die schon eine kurze Mitteilung erschienen war (*Sulser* 1958 II). Am Beispiel der Auswertung von Chromatogrammen ungesättigter Fettsäuren findet sie jetzt hier weitere Anwendung. Der Anwendungsbereich dürfte aber recht gross sein und sich auf alle jene Fälle erstrecken, wo das photographische Bild noch einen ausreichenden Kontrast im Schwärzungsgrad zwischen der zu messenden Zone und dem Untergrund ergibt. In bezug auf die Genauigkeit solcher papierchromatographischer Bestimmungen darf man etwa ± 5 bis 10% erwarten.

In der frühern Mitteilung (l.c.) ist vorgeschlagen worden, die Kreisbogenabschnitte der Radialpapierchromatogramme als Diapositive mit dem Spektrallinienphotometer (Mikrophotometer) analog quantitativ auszumessen wie die Emissionsspektrallinien. Es hat sich gezeigt, dass dies recht gute Resultate ergibt.

Um die Streuung der Einzelmessungen niedrig zu halten, ist es dabei notwendig, dass die Kreisbogen überall möglichst gleichmässig angefärbt sind. Dann wird es genügen, einen Bogen bzw. eine Serie von Bogen an zwei oder drei verschiedenen Stellen auszumessen, um einen guten Mittelwert zu erhalten. In dieser Hinsicht hat sich eine brückenartige Verengung im Papierzuschnitt, wie sie zuerst von *Matthias* (1954) beschrieben wurde, als sehr zweckmässig erwiesen. Denn im Verlauf des Entwicklungsvorganges findet an dieser Stelle eine starke Anreicherung und Homogenisierung statt. Nach den Angaben von

Matthias schneidet man das Papier so zu, dass die Verengung in einen relativ schmalen, etwa 4 cm breiten parallelen Streifen übergeht. Dadurch bleiben zwar die Substanzen auf engem Raum zusammen, erfahren jedoch anderseits gerade in diesem parallelen Abschnitt eine oft unerwünschte Verbreiterung, weil sie an der seitlichen Ausbreitung verhindert sind.

Aus diesem Grunde haben wir die brückenartige Verengung mit der Rundfiltermethode kombiniert. Das Fließmittel wird nicht durch den Docht zugeführt, sondern, wie schon von *Rutter* (1948) angegeben, durch einen Papierstreifen, der jedoch die erwähnte Brücke aufweist (Abb. 1). Das Substanzgemisch

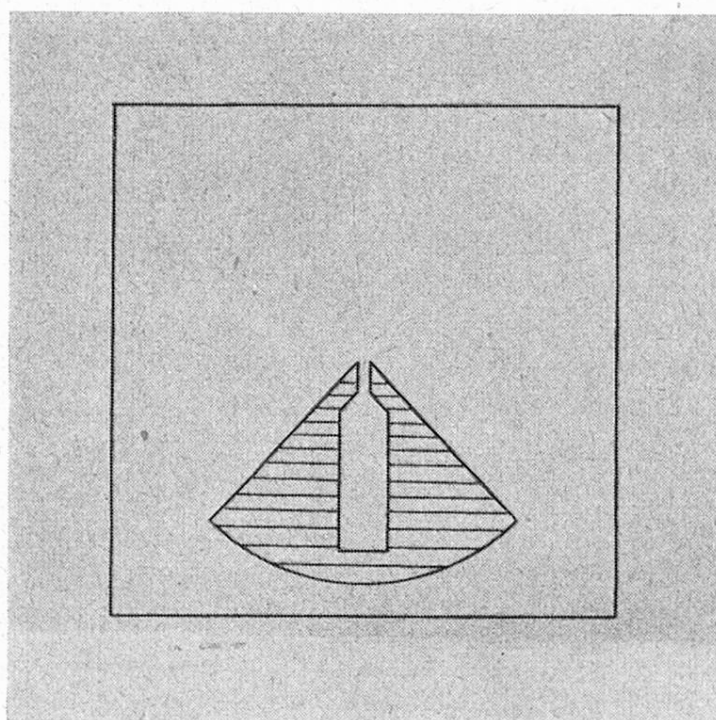


Abb. 1

Kreischromatographie mit Brücke

wird unmittelbar vor der schmalen Stelle aufgetragen und nicht, wie bei *Rutter*, in der Mitte des Rundfilters. Dann legt man das Papier in der üblichen Weise horizontal zwischen 2 grosse Petrischalen, welche eine kleine Schale zur Aufnahme des Zuführungstreifens enthalten und in die man das Fließmittel hineingießt. Für die radiale Ausbreitung einer Probe steht ein Winkel von 270 bis 280° zur Verfügung (Abb. 1). Man kann, in Anlehnung an das früher beschriebene $\frac{1}{4}$ -Sektorverfahren (*Sulser* 1957), von einer $\frac{3}{4}$ -Sektormethode sprechen. Innerhalb einer gegebenen Wanderungsstrecke findet die grösstmögliche Ausbreitung der Substanzen statt. Man erhält sehr schmale und gleichmässige Bogen. Daraus ergibt sich anderseits, dass auf einem Papierblatt nur eine Probe aufgetragen und entwickelt werden kann. Ein Vergleich von zwei oder mehr Proben

unmittelbar nebeneinander ist nicht möglich. Dies bedeutet jedoch in unserem Fall keinen Nachteil, da wir es zunächst nur auf Relativmessungen innerhalb eines Gemisches abgesehen haben, nämlich des Verhältnisses Oelsäure zu Linolsäure. Für diesen Zweck eignet sich das $\frac{3}{4}$ -Sektorverfahren gut, nicht weil die getrennten Zonen besonders weit auseinanderliegen, sondern weil die Fettsäuren relativ schmale Bogen bilden, die überall verhältnismässig gleichmässig angefärbt erscheinen. In letzterer Hinsicht könnte man noch bessere Resultate erzielen, wenn beim Anfärben das Besprühen, wie es hier durchwegs gehandhabt wurde, durch das Eintauchen in die Reagenzlösungen ersetzt würde.

Um absolute Zahlenwerte zu erhalten, ist es dagegen erforderlich, auf dem gleichen Papierblatt Proben von genau bekannter Zusammensetzung mitzuchromatographieren und auszuwerten. In einer weitem kurzen Mitteilung kommen wir darauf zurück und beschreiben, wie man durch einen einfachen Kunstgriff ohne weiteres auch mit der Radialtechnik zu solchen Vergleichsmessungen gelangen kann. Ausführliche quantitative Angaben müssen jedoch einer spätern Arbeit vorbehalten bleiben.

Es soll nun die Art und Weise angegeben werden, wie man die Chromatogramme bzw. die Diapositive herstellte, mit dem Mikrophotometer ausmass und die Messungen auswertete.

Zur Chromatographie wurde eine Lösung von etwa 450 mg des Fettsäuregemisches in 2 ml Chloroform hergestellt. Davon brachte man mit der Kapillarpipette eine genau bekannte Menge (ca. 5 μ l) auf den Papierstreifen, unmittelbar

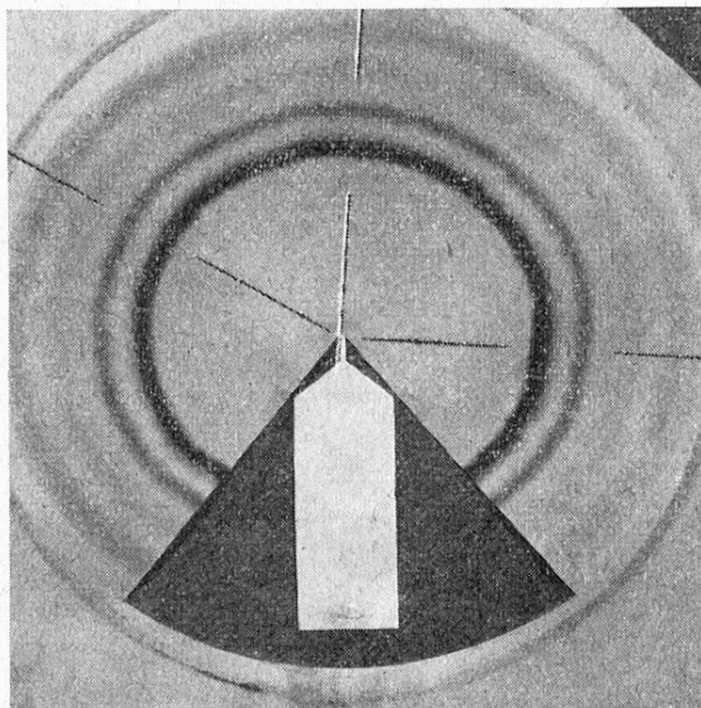


Abb. 2
Auswertung

vor die Verengung (Abb. 1). Das Imprägnieren mit Paraffin (10%ige Lösung von Paraffin subliquidum Ph V in Benzin) und Entwickeln mit 84%iger Essigsäure (ca. 20 Stunden, Papier Schleicher & Schüll Nr. 2043b matt oder Nr. 2040b matt) wurde in der früher beschriebenen Weise (Sulser und Högl 1957) vorgenommen. Das Anfärben der ungesättigten Fettsäuren erfolgte nach Wolfrom und Miller (1956) mit Perjodat-Permanganat-Benzidin (Sulser 1958 I).

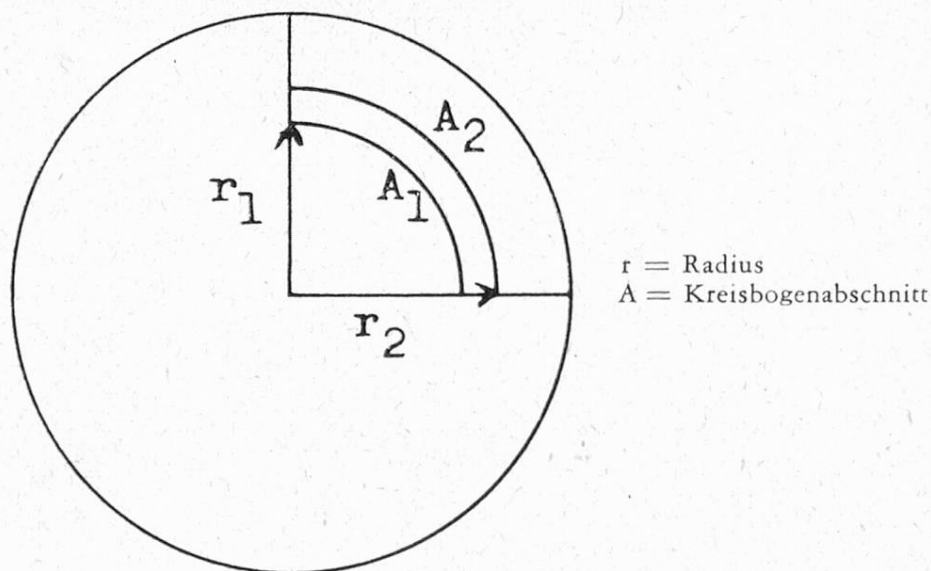
Nach dem Anfärben photographierte man die Chromatogramme auf 6×6 cm-Format. Aus den Negativen stellte man durch Kopie die Diapositive her, welche dann im Mikrophotometer zur Auswertung gelangten. Dabei ging man so vor, dass das Diapositiv zuerst auf eine von unten beleuchtete Milchglasplatte gelegt wurde. Mit einer feinen Nadel ritzte man je nach Wunsch zwei oder drei Auswertungsrichtungen an (Abb. 2) und legte die Dias so zwischen zwei Glasplatten, dass sich der Spalt des Mikrophotometers senkrecht zu diesen vorgezeichneten Richtungen verschob. Den Spalt des Mikrophotometers (Modell H. 451 von A. Hilger) stellten wir wie folgt ein: Spalllänge etwa 16 mm (auf dem Papier gemessen), entsprechend 15,0 an der Skala des Instrumentes, Spaltbreite etwa 1,5 mm (auf dem Papier), entsprechend 82,0 der Skala. Bei dieser Einstellung waren 20 Umdrehungen an der Mikrometerkurbel erforderlich, um den Spalt gerade um seine ganze Breite zu verschieben. Nach je 20 Umdrehungen las man jeweils den Ausschlag an der Galvanometerskala ab und notierte den Wert. Zur vollständigen Ausmessung einer Kreisbogenbreite wurden 10 bis 12 solche Verschiebungen und Ablesungen benötigt. Man trug die erhaltenen Ausschläge wie folgt graphisch auf: die Verschiebungen auf der Abszisse (gewöhnliche Millimeterteilung), die entsprechenden Galvanometerablesungen auf der Ordinate (logarithmisch) (Abb. 3).

Der Inhalt der resultierenden Glockenkurven (Flächenwert) ist proportional den entsprechenden Substanzmengen. Er kann ermittelt werden mittels eines Planimeters oder durch Ausschneiden und Wägen.

Die Methode beruht also auf einer Schwärzungsmessung. Dabei wird auch die Schwärzung des Untergrundes, d.h. der Blindwert des Papiers gemessen. Es kann vorkommen, dass derselbe auf den beiden Seiten des ausgemessenen Bogens nicht genau gleich ausfällt. In diesem Fall steht die Basis der Glockenkurve (Abb. 3) etwas schräg. Durch möglichst gleichmässiges Besprühen sucht man dies zu vermeiden, jedoch werden die Resultate davon kaum berührt.

Es war nun zunächst anhand genau bekannter Mengen reiner Oel- und Linolsäure die Proportionalität von Flächenwert und Substanzmenge zu prüfen, sowie die Frage, ob beim Anfärben mit dem Perjodat-Permanganat-Benzidinreagens der zweiten Doppelbindung der Linolsäure auch eine entsprechende Verdoppelung des Flächenwertes entsprechen, bzw. was für ein Faktor hier Geltung haben würde.

Die Beschaffung reiner Oel- und Linolsäure bot zunächst Schwierigkeiten. Die im Handel erhältlichen Präparate mit der Bezeichnung «puriss.» erwiesen sich chromatographisch durchwegs als uneinheitlich, d.h. die Oelsäure enthielt



$$(1) \quad A_1 : A_2 = \frac{2 \pi r_1}{4} : \frac{2 \pi r_2}{4} = r_1 : r_2$$

Bei der Korrektur des Linolsäure-Flächenwertes wurde die Annahme gemacht, dass die Kreisbogenabschnitte (A), bzw. Radien (r), sich umgekehrt proportional wie die Flächenwerte (F) verhalten, d.h. je grösser der Radius desto kleiner der Flächenwert und umgekehrt:

$$(2) \quad A_1 : A_2 = r_1 : r_2 = F_2 : F_1$$

Praktisch ging man so vor, dass genau bekannte Mischungen Oel- und Linolsäure hergestellt, chromatographiert und die Flächenwerte in der angegebenen Weise bestimmt wurden. Die letzteren rechnet man auf die einheitliche Vergleichsbasis: Flächenwert Linolsäure gleich 100, um. Dann wurden die Radien des Oelsäure- und Linolsäurebogens gemessen und der Flächenwert 100 der Linolsäure nach folgender Gleichung korrigiert:

$$(3) \quad r_{Oe} : r_L = F_L : F_{Oe}$$

wobei:

- r_{Oe} = Radius des Oelsäurebogens
- r_L = Radius des Linolsäurebogens
- F_L = Fläche der Glockenkurve bei Linolsäurebogen (= 100 gesetzt)
- F_{Oe} = Fläche der Glockenkurve bei Oelsäurebogen

Zur Korrektur des Linolsäure-Flächenwertes diene dementsprechend folgende Formel:

$$(4) \quad F_{Oe} = \frac{r_L}{r_{Oe}} \cdot 100$$

Man stellte folgende Oelsäure-Linolsäure-Mischungen her:

- | | | | |
|---------------|--------|---|---|
| 1. Linolsäure | 80 mg | } | in 2 ml Chloroform, entsprechend Verhältnis 1 : 2 |
| Oelsäure | 160 mg | | |
| 2. Linolsäure | 40 mg | } | in 2 ml Chloroform, entsprechend Verhältnis 1 : 4 |
| Oelsäure | 160 mg | | |
| 3. Linolsäure | 40 mg | } | in 4 ml Chloroform, entsprechend Verhältnis 1 : 8 |
| Oelsäure | 320 mg | | |

Von diesen 3 Mischungen brachte man je 5 µl aufs Papier (je 4 Chromatogramme). Die ermittelten Flächenwerte sind in Tabelle 1, 2 und 3 zusammengestellt.

Tabelle 1
Verhältnis Linolsäure : Oelsäure = 1 : 2

Chromatogramm Nr.	Gemessene Flächenwerte	Korrektur für Linolsäure gemäss Formel (4)	Theoretisch berechnete Flächenwerte der Linolsäure entsprechend der Einwaage
	Linolsäure : Oelsäure	Linolsäure : Oelsäure	Linolsäure : Oelsäure
1	100,0 : 119,3	127,2 : 119,3	1 : 2 = 59,6 : 119,3
	100,0 : 117,3	127,2 : 117,3	1 : 2 = 58,6 : 117,3
	Mittel 100,0 : 118,3	127,2 : 118,3	1 : 2 = 59,2 : 118,3
2	100,0 : 126,0	127,6 : 126,0	1 : 2 = 63,0 : 126,0
	100,0 : 122,0	127,6 : 122,0	1 : 2 = 61,0 : 122,0
	Mittel 100,0 : 124,0	127,6 : 124,0	1 : 2 = 62,0 : 124,0
3	100,0 : 111,8	126,3 : 111,8	1 : 2 = 55,9 : 111,8
	100,0 : 113,1	126,3 : 113,1	1 : 2 = 56,5 : 113,1
	Mittel 100,0 : 112,4	126,3 : 112,4	1 : 2 = 56,2 : 112,4
4	100,0 : 107,3	126,5 : 107,3	1 : 2 = 53,6 : 107,3
	100,0 : 107,8	126,5 : 107,8	1 : 2 = 53,9 : 107,8
	Mittel 100,0 : 107,5	126,5 : 107,5	1 : 2 = 53,7 : 107,5
Gesamtmittel	100,0 : 115,5	126,9 : 115,5	1 : 2 = 57,8 : 115,5

In der Annahme, dass Linolsäure infolge der zweifachen Doppelbindung auch doppelt so stark auf das Perjodat-Permanganat-Benzidinreagens anspricht als Oelsäure, also auch einen doppelt so grossen Flächenwert ergeben muss, ist der theoretisch berechnete Flächenwert der Linolsäure zu verdoppeln. Es ergeben sich folgende Zahlen für die Linolsäure-Flächenwerte:

korrigiert nach Formel (4)		126,9
theoretisch berechnet	$2 \cdot 57,8 =$	115,6
Differenz	$+ 11,3 =$	9,7 %

Die Doppelbestimmungen am gleichen Chromatogramm stimmen recht gut überein. Die Unterschiede von Chromatogramm zu Chromatogramm sind bedeutend grösser.

Tabelle 2
Verhältnis Linolsäure : Oelsäure = 1 : 4

Chromatogramm Nr.	Gemessene Flächenwerte	Korrektur für Linolsäure gemäss Formel (4)	Theoretisch berechnete Flächenwerte der Linolsäure entsprechend der Einwaage
	Linolsäure : Oelsäure	Linolsäure : Oelsäure	Linolsäure : Oelsäure
1	100,0 : 239,0	120,0 : 239,0	1 : 4 = 59,8 : 239,0
	100,0 : 231,1	120,0 : 231,1	1 : 4 = 57,8 : 231,1
	Mittel 100,0 : 235,0	120,0 : 235,0	1 : 4 = 58,8 : 235,0
2	100,0 : 254,2	119,9 : 254,2	1 : 4 = 63,5 : 254,2
	100,0 : 255,0	119,9 : 255,0	1 : 4 = 63,8 : 255,0
	Mittel 100,0 : 254,6	119,9 : 254,6	1 : 4 = 63,6 : 254,6
3	100,0 : 214,8	120,0 : 214,8	1 : 4 = 53,7 : 214,8
	100,0 : 221,5	120,0 : 221,5	1 : 4 = 55,4 : 221,5
	100,0 : 260,0	120,0 : 260,0	1 : 4 = 65,0 : 260,0
	Mittel 100,0 : 232,1	120,0 : 232,1	1 : 4 = 58,0 : 232,1
4	100,0 : 222,9	120,5 : 222,9	1 : 4 = 55,7 : 222,9
	100,0 : 229,1	120,5 : 229,1	1 : 4 = 57,3 : 229,1
	100,0 : 249,8	120,5 : 249,8	1 : 4 = 62,4 : 249,8
	Mittel 100,0 : 233,9	120,5 : 233,9	1 : 4 = 58,4 : 233,9
Gesamtmittel	100,0 : 238,9	120,1 : 238,9	1 : 4 = 59,7 : 238,9

Nach Korrektur des gemessenen Flächenwertes der Linolsäure von 100,0 auf 120,1 [Formel (4)] entspricht er mit einem Fehler von + 0,6 % dem doppelten Wert des aus der Einwaage berechneten Flächenwertes ($2 \cdot 59,7 = 119,4$), d.h. Linolsäure spricht auf das Perjodat-Permanganat-Benzidinreagens genau doppelt so stark an wie Oelsäure.

Tabelle 3
Verhältnis Linolsäure : Oelsäure = 1 : 8

Chromatogramm Nr.	Gemessene Flächenwerte	Korrektur für Linolsäure gemäss Formel (4)	Theoretisch berechnete Flächenwerte der Linolsäure entsprechend der Einwaage
	Linolsäure : Oelsäure	Linolsäure : Oelsäure	Linolsäure : Oelsäure
1	100,0 : 528,0	126,2 : 528,0	1 : 8 = 66,0 : 528,0
	100,0 : 510,0	126,2 : 510,0	1 : 8 = 63,8 : 510,0
	Mittel 100,0 : 519,0	126,2 : 519,0	1 : 8 = 64,9 : 519,0
2	100,0 : 522,0	125,7 : 522,0	1 : 8 = 65,3 : 522,0
	100,0 : 526,0	125,7 : 526,0	1 : 8 = 65,8 : 526,0
	Mittel 100,0 : 524,0	125,7 : 524,0	1 : 8 = 65,5 : 524,0
3	100,0 : 497,5	125,0 : 497,5	1 : 8 = 62,2 : 497,5
	100,0 : 462,5	125,0 : 462,5	1 : 8 = 57,8 : 462,5
	100,0 : 434,0	125,0 : 434,0	1 : 8 = 54,3 : 434,0
	Mittel 100,0 : 464,7	125,0 : 464,7	1 : 8 = 58,1 : 464,7
4	100,0 : 564,0	125,5 : 564,0	1 : 8 = 70,5 : 564,0
	100,0 : 576,0	125,0 : 576,0	1 : 8 = 72,0 : 576,0
	100,0 : 635,0	125,5 : 635,0	1 : 8 = 79,4 : 635,0
	Mittel 100,0 : 591,7	125,5 : 591,7	1 : 8 = 73,9 : 591,7
Gesamtmittel	100,0 : 524,8	125,6 : 524,8	1 : 8 = 65,6 : 524,8

Im Gegensatz zu Tabelle 1 ist jetzt die Differenz zwischen gemessenem Flächenwert (nach Korrektur = 125,6) und theoretischem (= $2 \cdot 65,6 = 131,2$) negativ, und zwar um $-5,6$ bzw. $-4,3\%$.

Es handelt sich hier jedoch um systematische Veränderungen, wie aus folgender Tabelle hervorgeht.

Tabelle 4

Abhängigkeit der Flächenwertunterschiede der Linolsäure
vom Verhältnis Linolsäure : Oelsäure

Verhältnis Linolsäure zu Oelsäure	Flächenwerte der Linolsäure		
	Korrigiert nach Formel (4)	Verdoppelung des theoretisch berechneten Wertes	Differenz des gemessenen zum theoretischen Wert
1 : 2	126,9	$2 \cdot 57,8 = 115,6$	+ 11,3, entsprechend + 9,7 %
1 : 4	120,1	$2 \cdot 59,7 = 119,4$	+ 0,7, entsprechend + 0,6 %
1 : 8	125,6	$2 \cdot 65,6 = 131,2$	- 5,6, entsprechend - 4,3 %
			Mittelwert + 2,0 %

Man erkennt aus Tabelle 4, dass bei steigendem Anteil der Oelsäure am Verhältnis Linolsäure : Oelsäure der theoretisch berechnete Flächenwert der Linolsäure stetig zunimmt, während der nach Formel (4) korrigierte Linolsäure-Flächenwert keine systematische Veränderung erkennen lässt. Daher geht die Differenz zwischen dem theoretisch berechneten und dem aus der Messung folgenden Flächenwert der Linolsäure von einem anfänglich positiven über einen fast Null betragenden in einen negativen Wert über. Dies hängt damit zusammen, dass bei verhältnismässig höhern Gehalten an Oelsäure deren Schwärzung gegenüber der Linolsäure stärker ins Gewicht fällt.

Die in die Untersuchungen einbezogenen Verhältnisse Oelsäure zu Linolsäure = 1 : 4 würden etwa dem Verhältnis der beiden Säuren in Frauenmilchfett, 1 : 8 demjenigen in Kuhmilchfett in der Grössenordnung entsprechen.

Der Mittelwert aus allen Versuchen liegt mit 2,0 % überraschend nahe bei dem Ergebnis, welches sich aus rein stöchiometrischen Ueberlegungen ergibt, nämlich, dass zwei Doppelbindungen doppelt so stark reagieren müssen wie nur eine. Die gleiche Menge Oelsäure und Linolsäure würde, in der oben dargelegten Art ausgemessen, folgendes Verhältnis ergeben:

Oelsäureschwärzung (1 Doppelbindung)	Linolsäureschwärzung (2 Doppelbindungen)
= 1,00 gesetzt	= 2,04

Daraus folgt, dass sich auch auf dem Papier Reaktionen nach streng stöchiometrischen Gesetzmässigkeiten abspielen und dementsprechend gemessen werden können.

Zusammenfassung

Der früher geäußerte Vorschlag, Radialpapierchromatogramme mit dem Mikrophotometer quantitativ auszuwerten, wird näher erläutert. Die Messungen an genau bekannten Mischungen reiner Oel- und Linolsäure stimmen mit den theoretischen Werten gut überein.

Herrn Prof. Dr. O. Högl sei für das Interesse an dieser Arbeit gedankt.

Résumé

Description de la séparation par chromatographie radiale sur papier et du dosage quantitatif, au moyen du microphotomètre, de mélanges d'acides oléique et linoléique purs, dont les teneurs en ces acides sont connues. Une bonne concordance a été obtenue entre les valeurs obtenues et les valeurs théoriques.

Summary

Radial paper chromatographic separation and quantitative determination, by means of the microphotometer, of synthetic mixtures of pure oleic and linoleic acids. The values so found agree well with the theoretical ones.

Literatur

Massarotti A., diese Mitt. **49**, 15 (1958).

Matthias W., Naturwissenschaften **41**, 17 (1954).

Rutter L., Nature **161**, 435 (1948).

Staub M. und Widmer R., diese Mitt. **49**, 61 (1958).

Sulser H., diese Mitt. **48**, 19 (1957).

Sulser H. und Högl O., diese Mitt. **48**, 248 (1957).

Sulser H., diese Mitt. **49**, 264 (1958) I.

Sulser H., diese Mitt. **49**, 344 (1958) II.

Wolf from M. L. und Miller J. B., Analyt. Chemistry **28**, 1037 (1956).