

Studien über die Oxydation von n-Alkanen bei niederen Temperaturen (100° - 130° C) mit Luft zu vorwiegend Fettsäuren. IV

## Zur Methodik der Papierchromatographie der n-Fettsäuren<sup>1)</sup>

VON E. LEIBNITZ, W. HERRMANN, W. HAGER, G. HEINZE, R. KAISER,  
O. MITTELSTAEDT, H. MOLL und H. SCHLIEF

Mit 7 Abbildungen

### Inhaltsübersicht

Die papierelektrophoretische Trennung von Ameisensäure, Essigsäure und Propionsäure und die papierchromatographische Trennung der n-Fettsäuren C<sub>2</sub> bis über C<sub>25</sub> sowie Versuche zur quantitativen Auswertung von Ringchromatogrammen werden beschrieben. Formeln für die photometrische Auswertung werden angegeben. Die Brauchbarkeit der Trennmethode für Oxydat-Fettsäuren wird am Beispiel von Heptadekan und Oktadekan nachgewiesen.

Auf Grund der Verwendung von n-Paraffin mit 95–100% Reinheit als Ausgangsmaterial der Oxydationen fällt die Trennung der Isofettsäuren nicht in den Rahmen dieser Arbeit, so daß die n-Fettsäuren mit C<sub>2</sub> (Essigsäure), C<sub>18</sub> (Stearinsäure) usw. — allgemein C<sub>n</sub> — eindeutig bezeichnet sind. Bei allen Methoden werden die Säuren als solche bzw. als Salze chromatographiert, um Fehlerquellen, die bei der Überführung in Derivate auftreten könnten, auszuschließen.

## 1. Die Trennungsmethoden der n-Fettsäuren

### 1.1 Die Trennung der Säuren C<sub>1</sub> bis C<sub>3</sub>

Die Wanderungsgeschwindigkeiten der Fettsäureanionen bis C<sub>6</sub> auf Papierelektropherogrammen, die unter den nachfolgend beschriebenen Bedingungen angefertigt werden, lassen sich nach folgender empirischen Formel berechnen:

$$\frac{W a}{W b} = \frac{552 e^{-0,6840 n_a} + 278,5}{552 e^{-0,6840 n_b} + 278,5}$$

<sup>1)</sup> Dem Inhalt dieser Veröffentlichung liegt die Dissertation von W. HERRMANN, Leipzig 1955, zugrunde.

dabei sind  $W_a$ ,  $W_b$  die Wanderungsgeschwindigkeiten und  $n_a$  und  $n_b$  die Zahl der C-Atome der Fettsäuren a und b. Somit genügt zur Identifizierung unbekannter n-Fettsäuren bis  $C_6$  die Verwendung von Essigsäure als Vergleichssubstanz.

Die Trennung der leicht alkalischen, zweckmäßig mit Phenolphthalein schwach angefärbten Substanzproben erfolgt durch Anlegen eines Feldes von etwa 3 V/cm an den mit etwa 0,25proz. NaCl-Lösung getränkten, möglichst wolkenfreien Filterpapierstreifen, auf dem mehrere Proben nebeneinander in der Nähe der Kathode aufgetragen wurden, in 2–4 Stunden bei etwa 50  $\gamma$  aufgetragener Menge pro Komponente. Die Elektroden bestehen aus mit 0,25proz. NaCl-Lösung überschichtetem Quecksilber, sie werden zweckmäßig in etwa halbstündigem Turnus (ohne Änderung der Stromrichtung im Papier) vertauscht. Das Papier liegt auf Glas- oder Kunststoffstäben und ist beiderseits durch gefettete, an den Rändern mit Gummistreifen gedichtete Glasplatten gegen Verdunstung der Elektrolytlösung geschützt.

Nach erfolgter Trennung wird das Papier sofort getrocknet. Die Säuren werden durch Besprühen mit möglichst starker wäßrig-alkoholischer Kongorotlösung, Trocknen und erneutem Besprühen mit 0,02 bis 0,05 n HCl rot auf blauem Grund sichtbar. Bei sämtlichen hier beschriebenen Methoden — außer bei der Kupferazetat-Ferrocyanid-Entwicklung — stören Fingerabdrücke.

### 1.2 Die Trennung der Säuren $C_2$ bis $C_8$

Diese Trennung wird zweckmäßig nach CRAMER [„Papierchromatographie“ Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße (1953) Seite 94] mit Butanol/1,5 n-Ammoniak nach der „Zylindermethode“ (desgl. Seite 33) ausgeführt. Laufzeit über Nacht entspricht etwa 35 cm Lauflänge und genügt meist zur eindeutigen Trennung. Besser als Schleicher & Schüll 2043b eignet sich Elektrophoresepapier 1122 vom VEB Spezialpapierfabrik Niederschlag/Sa. zur halbquantitativen Auswertung auf Grund der Fleckengröße, da auf diesem Papier runde bzw. ovale Flecken gebildet werden, während auf 2043b hufeisenförmige Flecken erhalten werden. Die Trennung  $C_7/C_8$  ist etwas unsicher.

Zur „Entwicklung“ der Flecke dienen aufgesprühte etwa 3proz. wäßrig-alkoholische Phenolphthaleinlösung und etwa 0,1 n Kalilauge, die auch im Gemisch verwendet werden können (allerdings ist dann die Empfindlichkeit etwas geringer).

Bei der Identifizierung der Flecke an Hand von auf dem gleichen Blatt aufgetragenen bekannten Vergleichssäuren sind besonders die möglichen Störungen (ungleiche Temperatur oder Undichtigkeit des

Chromatographiegefäßes, ungenügende Sättigung der Atmosphäre mit Lösungsmitteldampf) zu beachten, da sonst diese Methode leicht zu Fehlschlüssen führen könnte. Höhere Ammoniakkonzentration ergibt geringere  $R_f$ -Werte der Säuren.

### 1.3 Die Trennung der Säuren $C_8$ bis $C_{12}$

Die Apparatur und die Vorbehandlung des Papiers sind die gleichen wie unter 1.4 unten beschrieben; als bewegte Phase („Lösungsmittel“) dient jedoch statt Essigsäure 80–90% konzentrierte handelsübliche Ameisensäure mit 20–10% Wasser.

Nach dem Trocknen bis zum Verschwinden des Ameisensäuregeruchs wird das Chromatogramm mit (wenig) konzentriertem Ammoniakwasser besprüht und bis zum Verschwinden des Geruchs getrocknet. Nach dem Einsprühen mit etwa 1proz. Silbernitratlösung (neutral) bis zur völligen Durchfeuchtung und 2–3 Minuten Stehen im Dunkeln wird der Silbernitratüberschuß durch 3–4maliges Abspülen mit wenig destilliertem Wasser weitgehend entfernt. Beim anschließenden Einlegen in beliebigen photographischen Entwickler oder in  $Na_2S$ -Lösung erscheinen die Ringe. Möglichst dunkle Ringe auf relativ hellem Grund zu erhalten, erfordert etwas Übung beim Auswaschen des Silbernitratüberschusses.

Die Identifizierung erfolgt mittels „mitgelaufener“ Vergleichssubstanzen. Fingerabdrücke werden bei dieser Methode so gut sichtbar, daß diese „Entwicklungs“-Technik für forensische Zwecke geeignet erscheint.

### 1.4 Die Trennung der Säuren $C_9$ bis $C_{23}$ und darüber

Die von KAUFMANN [Fette, Seifen, Anstrichmittel 56, 154 (1954)] vorgeschlagene Methode wurde durch Anwendung der Ringpapierchromatographie und Verwendung von Mepasin (je etwa 50% n- und iso-Paraffine) bzw. destillativen Schnitten daraus soweit verbessert, daß nunmehr die Trennung sämtlicher n-Fettsäuren von  $C_9$  bis  $C_{23}$  und die Trennung der um je 2  $CH_2$ -Gruppen verschiedenen n-Fettsäuren bis mindestens  $C_{30}$  möglich ist.

Das imprägnierte Papier (z. B. Schleicher & Schüll: 2043b oder Niederschlag: WF 1; 30 × 30 cm oder größer) enthält bei unserer Imprägnierungsmethode — Tauchen in Mepasin und mehrmaliges Abpressen des Überschusses zwischen Filterpapier mittels einer Wringmaschine bzw. gleichmäßiges Besprühen mit Mepasin — etwa 3 mg Mepasin/cm<sup>2</sup> als stationäre Phase. Die Imprägnierung eines Blattes läßt sich in weniger als 15 Minuten ausführen.

Als bewegliche Phase dient Essigsäure, und zwar

für Trennungen	% Eisessig (Rest = H <sub>2</sub> O)
C <sub>9</sub> –C <sub>15</sub>	70%
C <sub>10</sub> –C <sub>18</sub>	83%
C <sub>15</sub> –C <sub>20</sub>	90%
C <sub>18</sub> –C <sub>25</sub>	99,5%
über C <sub>25</sub>	99% + 0,5% Propionsäure.

Bis zu 90proz. Essigsäure ist keine Sättigung der beweglichen Phase mit Mepasin erforderlich, im Gegensatz zu den höheren Konzentrationen.

Die Analysen- und Vergleichssubstanzen werden in Toluollösung (etwa 100  $\gamma$  pro Komponente und 45°-Sektor) strichförmig auf einen Kreis von 4 cm Durchmesser aufgetragen. Im Mittelpunkt des Kreises wird ein Röllchen normales Filterpapier (etwa 4 mm  $\varnothing$ ) straff in ein Loch des Chromatogramms eingepaßt, das gleichzeitig als „Docht“ und Stütze dient und in einem die Essigsäure enthaltenden Schälchen steht. Die Ränder des Chromatogramms liegen auf dem geschliffenen Rand des Unterteils eines Exsikkators von etwa 30 cm Durchmesser; das Ganze wird mit dem Exsikkatordeckel bedeckt. Die Atmosphäre im Gefäß war bereits vor dem Einbringen des Chromatogramms mit Lösungsmitteldampf gesättigt.

Nach dem „Laufen“ des Chromatogramms über Nacht wird 20 Minuten bei 120° getrocknet, 45 Minuten in 500 ml 0,1proz. Kupferazetatlösung gelegt, mit 500 ml dest. Wasser abgespült und zweimal 15 Minuten in je 500 ml dest. Wasser gelegt. (Das käufliche Kupferazetat wird aus 10proz. Essigsäure umkristallisiert, abgesaugt, mit 10proz. Essigsäure gewaschen, unter mehrmaligem Pulvern im Vakuum bei Zimmertemperatur über festem NaOH bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und bei Bedarf in destilliertem Wasser gelöst.)

Nach 20 Minuten Einwirkung von 500 ml 0,2proz., mit 3 Tropfen Eisessig versetzter Kaliumferrocyanidlösung wird wie bei der Entfernung des Kupferüberschusses gewässert und 30 Minuten bei 120° getrocknet.

Bei photometrischer Auswertung sollten alle Entwickler-Lösungen stets frisch angesetzt werden; es muß ferner bei genau definierter Temperatur gearbeitet werden. Geringe Abweichungen der Entwicklung von den anfangs festgelegten Bedingungen — insbesondere in bezug auf p<sub>H</sub>-Wert und Temperatur — machen quantitative Bestimmungen unmöglich. Mit der Photometrie kann infolge reversibler Farbänderungen bei der Schluß-Trocknung frühestens 2–3 Stunden nach derselben begonnen werden.

Die Trennwirkung bei verschiedenen Essigsäurekonzentrationen zeigt Abb. 1.

Aus einem Oxydat von Oktadekan, das nach technischen Methoden hergestellt wurde, wurde unter Einhaltung der technischen Kennzahlen der „Hauptlauf“ abgetrennt. Dieser wurde zusammen mit einem Naturfettsäuregemisch und je 2 Testsäuren chromatographiert. Schon hier

sei darauf hingewiesen, daß im Hauptlauf des Oktadekanoxydats die Säure C<sub>17</sub> fehlt.

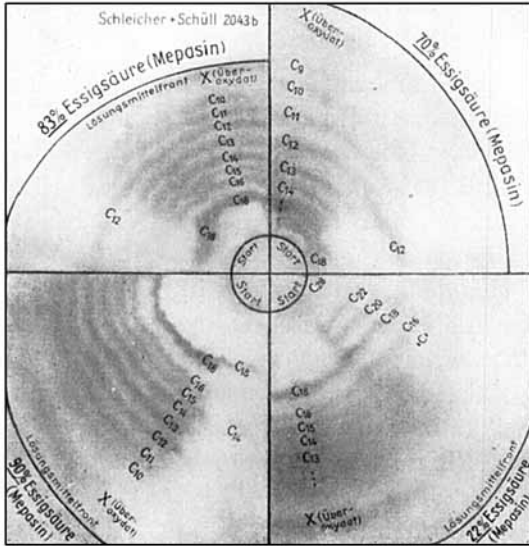


Abb. 1.

Zur Abhängigkeit von der Essigsäure-Konzentration

Die Identifizierung der PO-Fettsäuren gelingt leicht durch Abzählen der Flecke oder Ringe, von den durch mitgelaufene Vergleichssäuren markierten Flecken oder Ringen aus beginnend. Es empfiehlt sich deshalb, Analysen- und Vergleichssubstanzen so aufzutragen, daß die Banden kontinuierlich ineinander übergehen. Beim Abzählen der Ringe oder Flecke ist zu beachten, daß bei der

Paraffinoxydation auch die Fettsäuren mit ungerader Anzahl von C-Atomen entstehen, sowie daß die Darstellung der R<sub>f</sub>-Wert-Differenzen von Säure zu Säure als Funktion der Anzahl der C-Atome eine stetige Kurve ergeben muß. Unstetigkeitsstellen weisen auf das Fehlen von Fettsäuren hin. Bei den Trennungen auf nichtimprägniertem Papier entspricht ein größerer R<sub>f</sub>-Wert einer größeren Kettenlänge der n-Fettsäuren, auf imprägniertem Papier („inversed-phase-chromatography“) ist es umgekehrt.

Zur Beurteilung der erforderlichen Lauflänge S des Chromatogramms zur Trennung zweier Stoffe mit den R<sub>f</sub>-Werten R<sub>f1</sub> und R<sub>f2</sub> haben sich folgende Faustformeln als zweckmäßig erwiesen:

Aufsteigende oder absteigende Methode:

$$S_{min} = (0,8 \text{ bis } 1,3) \frac{1}{R_{f1} - R_{f2}}$$

Rundfiltermethode:

$$S_{min} = (0,4 \text{ bis } 0,7) \frac{1}{R_{f1} - R_{f2}}$$

Auf die zahlenmäßige Angabe von  $R_f$ -Werten wird in dieser Arbeit bewußt verzichtet, um Verwechslungen der Fettsäuren bei ungleichmäßiger Imprägnierung vorzubeugen.

## 2. Versuche zur quantitativen, insbesondere photometrischen Auswertung von Ringchromatogrammen

### 2.1 Zur Theorie

#### 2.11. Die Verteilung

Für die Berechnung der Substanzverteilung einer Substanz mit bekanntem  $R_f$ -Wert zu allen Zeitpunkten der Herstellung des Chromatogramms über die gesamte Lauflänge eines „linearen Chromatogramms“ konnte unter gewissen Voraussetzungen (reine fraktionierte Verteilung

Auftragsbreite des Substanzstreifens = Breite einer „theoretischen Trennstufe“

Zahl der „theoretischen Trennstufen“ pro Lauflänge bekannt  
Vernachlässigung der Enden des aufgetragenen Streifens)

folgende Formel abgeleitet werden. Es sei:

- $S_0$  = aufgetragene Substanzmenge, bezogen auf die Breite des berechneten Streifens,
- $S_r$  = Substanzmenge in der betrachteten „theoretischen Trennstufe“;
- $x$  = Nummer der betrachteten „theoretischen Trennstufe“, vom Start aus gezählt (Start = 1);
- $y$  = Nummer der betrachteten „theoretischen Trennstufe“, von der jeweiligen Lösungsmittelfront aus gezählt (Front = 1).

Dann gilt:

$$S_r = \frac{(x + y - 2)!}{(x - 1)! (y - 1)!} R_f^{(x-1)} (1 - R_f)^{(y-1)} S_0. \quad (1)$$

Die Zahl  $n$  der „theoretischen Trennstufen“ hängt gesetzmäßig mit der Breite der erhaltenen Substanzverteilungskurven, gemessen als Differenz der  $R_f$ -Werte, die als Schnittpunkte der an die Wendepunkte der Kurvenäste angelegten Tangenten mit der  $R_f$ -Achse erhalten werden und mittels Gl. (1)

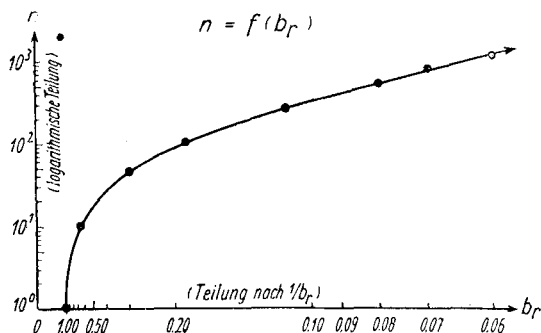


Abb. 2.  $n$  = theoretische Bodenzahl,  $b_r$  = Abstand der Schnittpunkte der an die Wendepunkte der Substanzverteilungskurve gelegten Tangenten mit der  $R_f$ -Achse (in  $R_f$ -Wert-Einheiten)

für verschiedene  $n$  berechenbar sind — siehe dazu die Kurve  $n = f(b_r)$ , — zusammen und kann somit näherungsweise aus den Photometer-Kurven praktisch bestimmt werden. Die Zahl der „theoretischen Trennstufen“ pro cm Lauflänge, bei konventionell festgelegtem Lösungsmittelsystem und definierter Substanz (zweckmäßig als Farbstoff) gemessen, ist ein objektives Maß für die Trenneffekte verschiedener Papiersorten. Sie ist unter sonst gleichen Bedingungen bei Ringchromatogrammen erheblich größer als bei den „linearen“ Methoden.

Wird bei Ringchromatogrammen ein durch Parallele begrenzter, schmaler, radialer Streifen photometriert, so kann zur Berechnung der aufgetragenen Menge aus den gemessenen Werten folgende Formel dienen:

$$S_0 = \frac{r \cdot \alpha_r}{c' \cdot \alpha_c} \int_{R_f=0}^{R_f=1} S_r dR_f,$$

wobei

$\int_{R_f=0}^{R_f=1} S_r dR_f$  = Integral über die Substanzmengen an allen Stellen des gemessenen Streifens von Anfang bis Ende der Bande, also theoretisch von  $R_f = 0$  bis  $R_f = 1$ .

$S_0$  = aufgetragene Substanzmenge, bezogen auf die Breite des gemessenen Streifens.

$\alpha_r/\alpha_c$  = Verhältnis der Länge der gemessenen Bande zur Länge des Kreisbogens der aufgetragenen Substanz am Start im Winkelmaß (Scheitel = Mittelpunkt des Chromatogramms).

$r$  = Abstand Substanzschwerpunkt der Bande — Mittelpunkt des Chromatogramms.

$c'$  = empirische Konstante.

Zwecks photometrischer Bestimmung der Fettsäure  $C_{18}$  als Beispiel einer höheren Fettsäure nach Anwendung der oben beschriebenen Entwicklungsmethode mußte zunächst die Abhängigkeit des Zeigerausfalls des Photometers von der an der Meßstelle vorhandenen Substanzmenge ermittelt werden. Um durch die Zwischenwässerung bei der Entwicklung bedingte Fehler auszuschalten, wurde Kupfersulfat in bekannter Menge pro Flächeneinheit auf mepasinimprägniertes und getrocknetes Papier aufgetragen und sofort unter den Entwicklungsbedingungen der Chromatogramme — vom Einlegen in Ferrocyanidlösung an — zu Ende entwickelt. Die photometrische Ausmessung ergab eine reproduzierbare (dem allgemeinen Strahlungsabsorptionsgesetz bei vertauschten Variablen entsprechende) Abhängigkeit, die durch folgende empirische Formel dargestellt werden kann:

$$h = 1,175 \cdot \log S_r - 1,60, \quad (3)$$

wobei

$h$  = auf gleichen Verstärkungsgrad reduzierter Zeigerausschlag des Photometers (abgekürzt PPS) an der Meßstelle;

$S_r$  = Substanzmenge an der Meßstelle.

Da  $g \text{ Cu} \cdot \text{const} = g \text{ Fettsäure}$ , also  $\log(g \text{ Cu}) - \log(\text{const}) = \log(g \text{ Fettsäure})$  ist, gilt der Wert 1,175 unter den verwendeten Entwicklungsbedingungen für Kupfer und alle Fettsäuren, die „unlösliche“ Kupfersalze bilden.

Durch Kombination der Formeln 1, 2 und 3 folgt für den maximalen Zeigerausschlag des PPS:

$$\log S_0 = \frac{h}{1,175} + \log c + \log A, \quad (4)$$

wobei

$S_0$  = aufgetragene Substanzmenge, bezogen auf die Breite des gemessenen Streifens,  
 $h$  = auf gleichen Verstärkungsgrad reduzierten maximalen Zeigerausschlag für eine Bande,

$c = 1$ . für „lineare“ Chromatogramme: eine empirische Konstante,

2. für Ringchromatogramme:

$$= \frac{\text{const} \cdot \alpha_c}{r \cdot \alpha_r} \quad (\text{wie oben definiert}),$$

$$A = \frac{(x + y - 2)!}{(x - 1)! (y - 1)!} R_1^{(x-1)} (1 - R_1)^{(y-1)},$$

wobei  $x$ ,  $y$  und  $n$  bereits oben definiert wurden.

b) Eine zweite Bestimmungsmethode fußt auf der Ermittlung der an mehreren Stellen der Bande vorhandenen Fettsäuremengen  $S_r$  aus der PPS-Kurve nach der Formel:

$$\log S_r = (h + 1,60)/1,175.$$

Nach dem Zeichnen der Kurve  $S_r = f(R_r)$  kann die Fläche unter derselben planimetriert werden. Diese ist (bei gleicher Lauflänge der Chromatogramme) nach Multiplikation mit der Bandenlänge proportional der aufgetragenen Substanzmenge.

## 2.12. Die Mengenangabe

Infolge des gleichartigen Charakters der Kurvenform der Banden kann man die aus dem maximalen Zeigerausschlag  $h$  nach Formel (3a) errechnete Fettsäuremenge  $S_r$ , multipliziert mit der (wie bei der Bestimmung der „theoretischen Trennstufenzahl“  $n$  definierten) Bandenbreite und mit der Bandenlänge, näherungsweise proportional der aufgetragenen Substanzmenge setzen, gleiche Lauflänge der Chromatogramme vorausgesetzt.



## 2.2 Die praktische Bestimmung

Die obigen Formeln waren, bedingt durch die zu großen Substanzverluste bei der Zwischenwässerung, für die Bestimmung der über die Kupfersalze entwickelten Fettsäuren nicht geeignet, da die erhaltenen Werte zu stark streuen.

Deshalb wurden rein empirisch die (wie oben definierte) Bandenbreite, die maximale Höhe der PPS-Kurve und die Flächen unter der PPS-Kurve als Funktionen der aufgetragenen Substanzmenge gezeichnet. Die Meßwerte der auf ein und demselben Blatt entwickelten Proben streuen dann im Durchschnitt um  $\pm 10-15\%$  pro Säure. Aus mehr als 25 Blatt à 4 Proben lassen sich Eichkurven für die drei obigen Funktionen im Gebiet von 50–250  $\gamma$  aufgetragener (Stearin-)Säure pro 45°-Sektor aufstellen, deren Genauigkeit auf etwa  $\pm 5\%$  geschätzt wird. Durch Einführung eines „Auswaschungsgrades“, der von Blatt zu Blatt verschieden ist, sich aber bei Verwendung von drei bekannten und einer zu bestimmenden Probe auf jedem Blatt als Abweichung vom „mittleren Auswaschungsgrad“ (für den die Eichkurven gelten) bestimmen und als Korrektur berücksichtigen läßt, wird damit eine halbquantitative ( $\pm 15-20\%$ ) Bestimmung der höheren Fettsäuren nach papierchromatographischer Trennung auf photometrischem Wege möglich. Die Untersuchungen wurden an reinsten Stearinsäure ausgeführt. Infolge des unverhältnismäßig großen Aufwandes, insbesondere zur Aufstellung der Eichkurven und zur genauen Einhaltung der konventionell festgelegten Entwicklungsbedingungen, wird man diese Methode nur in besonderen Fällen verwenden. (Wegen der Einzelheiten der Berechnung wird auf die Dissertation HERRMANN, Leipzig 1955, verwiesen.)

Jedoch ergibt sich aus der Möglichkeit einer quantitativen photometrischen Bestimmung die wichtige Folgerung für die Beurteilung der Beweiskraft von Papierchromatogrammen höherer Fettsäuren in quantitativer Hinsicht, daß eine Abschätzung der Mengenverhältnisse von Fettsäuren auf Grund der PPS-Kurven (bzw. Farbintensität und Bandenbreite) bei mehrmaliger Wiederholung des Versuchs mit innerhalb der Fehlergrenzen gleichem Resultat durchaus zuverlässig und nützlich ist.

Zur quantitativen Bestimmung der papierchromatographisch getrennten höheren Fettsäuren wurde ferner (nach Entwicklung über die Kupfersalze) erfolglos — infolge zu hoher Papierblindwerte — die Bestimmung des Eisens bzw. des Kupfers versucht; ebensowenig Erfolg hatten Versuche zur Mikrotitration (Essigsäurespuren,  $R_f$ -Wert-Schwankungen stören), Retentionsanalyse (mit Kupfer: zu lange Reaktionszeit; mit Lauge stören Essigsäurespuren) und Gravimetrie nach Extraktion mit Lösungsmitteln (Mepasinabtrennung zu zeitraubend,  $R_f$ -Wert-

Schwankungen stören). Eine wesentliche Verbesserung der Genauigkeit der photometrischen Methode könnte erreicht werden, wenn es gelänge, die Fettsäurebanden durch Einsprühen — ohne Zwischenwässerung — direkt sichtbar zu machen.

### 3. Die Anwendbarkeit der papierchromatographischen Methode auf Paraffinoxydations-Fettsäuren am Beispiel von Heptadekan und Oktadekan

#### 3.1 Die verwendeten Substanzen

Das Heptadekan und Oktadekan wurde aus Stearinsäure dargestellt. Die aus Naturfett gewonnene Stearinsäure wurde durch Rektifikation und fünfmaliges Umkristallisieren aus Eisessig gereinigt und hatte die folgenden Daten:

Kennwert	gefunden	wahrscheinlichster Literaturwert
Schmelzpunkt	69,3 ± 0,05° C	69,3° C
Säurezahl . . . . .	197,4; 196,9	197,2
Halbmikro-E-Analyse		
Kohlenstoff. . . . .	76,06%; 73,98%	75,99%
Wasserstoff. . . . .	12,81%; 12,76%	12,76%

Im Hauptkristallinat nach der 2. Umkristallisation und im 1. Kristallinat aus der 5. Mutterlauge (auf 50% des Volumens eingedampft) waren homologe Säuren nicht nachweisbar. (Der Schmelzpunkt des letztgenannten verworfenen Kristallinats war 67,5° C.)

Das Heptadekan wurde nach bekannten Methoden durch Abbau von Silberstearat mit Brom bei Zimmertemperatur und Reduktion des Heptadecylbromids mit Zinkstaub/Eisessig gewonnen, rektifiziert, mit Schwefel-

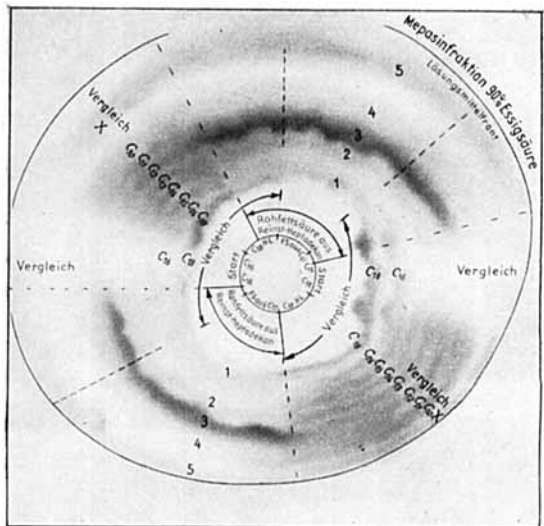


Abb. 3. FS aus Reinst-Heptadekan. 1 = gebildete Heptadekansäure, 2 = Myristinsäure, Verunreinigung der Katalysatorlaurinsäure, 3 = Katalysatorlaurinsäure, 4 = aboxydierte Laurinsäure, 5 = Überoxydat (X)

säure und Natronlauge raffiniert und schließlich in Petrolätherlösung an Aktivkohlesäulen von den letzten Spuren von Verunreinigungen befreit.

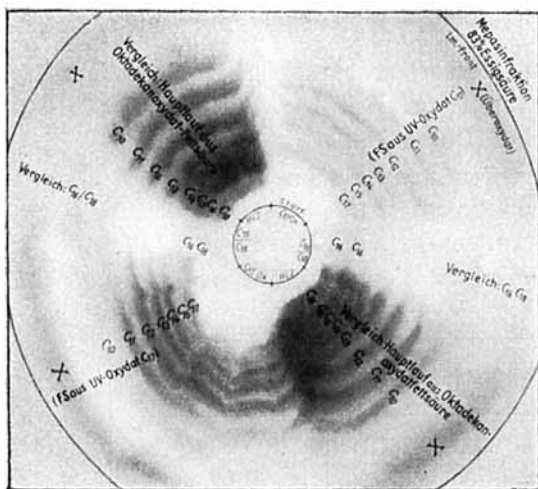


Abb. 4. FS aus oxyd. UV aus Oxydation von Reinst-Heptadekan

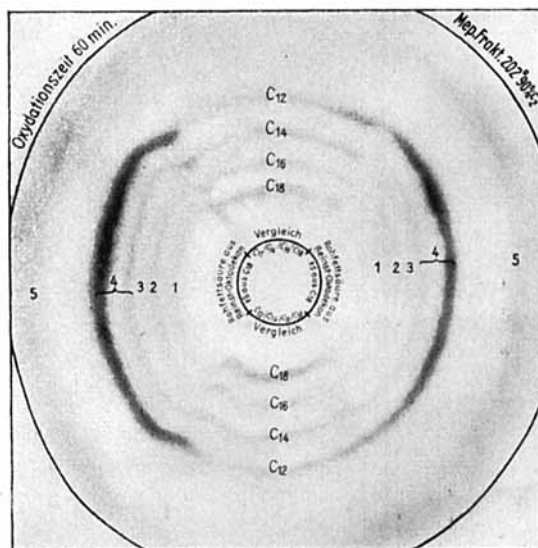


Abb. 5. FS aus Reinst-Oktadekan. 1 = gebildete Oktadekansäure, 2 = gebildete Hexadekansäure, 3 = gebildete Pentadekansäure, 4 = Laurinsäure, Myristinsäure (und Abbauprodukte) aus dem Katalysator, 5 = Überoxydat (X)

Das Oktadekan wurde — ebenfalls nach bekannten Methoden — durch Reduktion von Stearinsäureäthylester mit Natrium/Isopropanol zum Oktadekanol, Umsetzung mit Bromwasserstoff (nach Rektifikation) und Reduktion des Oktadecylbromids mit Zinkstaub/Eisessig gewonnen und wie das Heptadekan gereinigt.

### 3.2 Die Oxydation und Aufbereitung der Oxydate

Das Heptadekan wurde teils 60 Minuten, teils 480 Minuten, das Oktadekan 60 Minuten bei  $115^{\circ}$  mit schwach myristathaltigem Manganlaurat (Menge entsprechend 0,05% Mn im Oxydationsgemisch) oxydiert. Nach Verseifung des Rohoxydats, Extraktion des Unverseifbaren mit Petroläther und Ansäuern wurde die Rohfettsäure durch Extraktion mit Äther isoliert und chromatographiert.

### 3.3 Die Anwendung der Methode

Die Abbildungen geben ein Bild von der Wirksamkeit der so entwickelten Analysenmethode.

Das abgebildete Photometer (PPS) wurde von uns gemeinsam mit W. HENSEL, Leipzig, entwickelt und arbeitet nach dem Kompensationsprinzip für Durchlässigkeit oder Reflexion wahlweise. Nach Einlegen des Chromatogramms und Einstellung des gewünschten Verstärkungsgrades wird die Kurve vollautomatisch in 2 bis 5 Minuten registriert. Die Fettsäurechromatogramme werden mit SCHOTT-Filter BG 28 im Durchlicht ohne weitere Vorbehandlung des Chromatogramms direkt gemessen, die absoluten Lichtdurchlässigkeiten lagen zwischen 0,7 und 2,2 %.

Die Abbildungen stellen dar:

Abb. 1. „Zur Abhängigkeit von der Essigsäurekonzentration“

Abb. 2. Kurve: Bodenzahl  $n = f$  (Bandenbreite  $b_r$ ),

Abb. 3. Heptadekanoxylat-Fettsäuren (60 Minuten);

Abb. 4. Heptadekanoxylat-Fettsäuren (480 Minuten);

Abb. 5. Oktadekanoxylat-Fettsäuren (60 Minuten);

Abb. 6. PPS-Kurven zu Abb. 3, 4, 5;

Abb. 7. Photographie des PPS.

Sie zeigen an definierten Ausgangssubstanzen, wie weit die Aussage der entwickelten Methode geht und gültig erklärt werden kann.

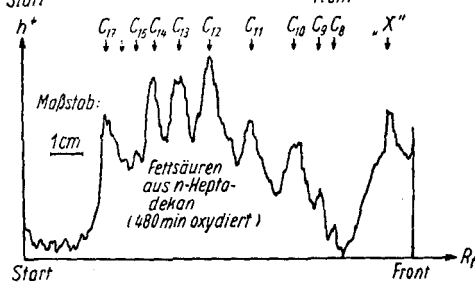
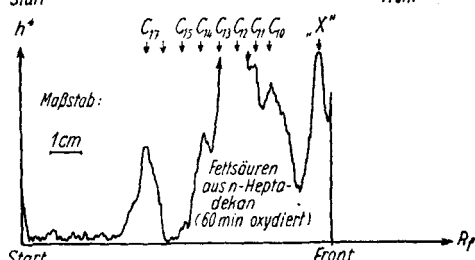
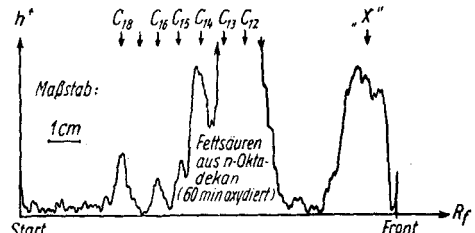


Abb. 6. PPS-Kurven zu Abb. 5, 3, 4

#### 4. Einschätzung und Wert für das vorgegebene Ziel

Uns scheint hier nochmals erwähnenswert, daß wir nicht eine absolute Methode zur quantitativen Chromatographie der Fettsäuren angestrebt haben. Vielmehr suchten wir nach einer Methode, die uns selbst kleine Fettsäuremengen rasch in ein Kettenlängendiagramm aufzuteilen erlaubte. Dies war bedingt dadurch, daß unsere thermodynamischen Erkenntnisse eine stoffliche Ergänzung dringend forderten.

Die bisher gültigen Theorien waren eben auf die gefundenen experimentellen Ergebnisse nicht abbildbar.

Eine ausführlichere Darstellung dieses Teils unserer Arbeit erschien uns aber deswegen wesentlich, weil sich bei der Bearbeitung dieses Teil-

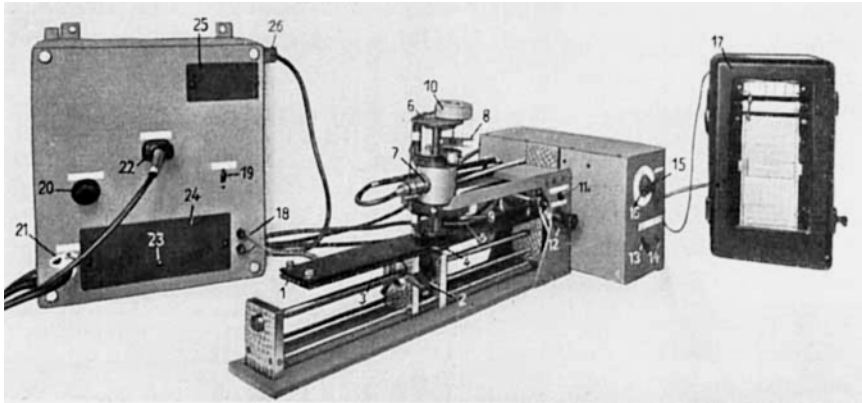


Abb. 7. Papierchromatogramm-Photometer mit Schreiber (PPS)

gebietes erst deutlich gezeigt hat, daß die gewonnenen methodischen Erkenntnisse einen wesentlich größeren Anwendungsbereich erfassen können als von uns erfaßt worden ist.

Die einzelnen Erkenntnisse des eigentlichen Umsetzungsvorgangs werden wir in einer späteren Veröffentlichung noch erörtern, da es uns nützlich erscheint, die halb-quantitativen chromatographischen Ergebnisse mit denen zu kombinieren, die aus der verbesserten konventionellen Fettsäureanalyse gewonnen werden können.

Naturgemäß waren sie — soweit es die Aufarbeitung von Modellsubstanzen betrifft — ein spezieller Teil dieser Teilarbeit.

*Leipzig, Institut für organisch-chemische Industrie.*

Bei der Redaktion eingegangen am 7. Juli 1956.