

## PAPIERCHROMATOGRAPHIE ÄTHERISCHER ÖLE

II. DIE DENSITOMETRISCHE BESTIMMUNG UNGESÄTTIGTER TERPEN-  
ALKOHOLE UND -ESTER IN ÄTHERISCHEN ÖLEN

G. RICHTER\* UND P. MUSCHOLL

*München (Deutschland)*

(Eingegangen den 28. Oktober 1963)

In zwei vorgegangenen Publikationen berichteten wir über ein von uns entwickeltes neues Verfahren der papierchromatographischen Trennung von ätherischen Ölen<sup>1,2</sup>. Das charakteristische Kennzeichen dieser Methode ist die adsorptive Chromatographie intakter Öle an einem mit Paraformaldehyd imprägnierten Ederol-Papier, ohne dass vorher Derivate hergestellt werden müssen. Das von uns entwickelte Papier ermöglicht damit erstmals auch eine direkte spektrophotometrische Auswertung der Papierchromatogramme von ätherischen Ölen, wie sie auf anderen Stoffgebieten bereits durchgeführt worden ist<sup>9-10</sup>. Zum Unterschied von einzelnen bisher veröffentlichten, sowohl auf Papier<sup>4,5</sup> als auch auf Dünnschichtplatten<sup>12</sup> durchgeführten ähnlichen Bestimmungsmethoden kann dabei auf eine vorangehende Elution<sup>11</sup> oder mit Fehlern<sup>6</sup> behaftete Photoreproduktion der Chromatogrammstellen verzichtet werden. Über Einzelheiten unserer Methode wird im folgenden ausführlich berichtet.

*Densitometer*

## METHODIK

Als Messgerät verwendeten wir das von GRASSMANN UND HANNIG<sup>13,14</sup> in die klinische Serum-Eiweiss-Analyse eingeführte Densitometer (Fig. 1). Dieser sog. "Elphor-Integrator" stellt ein für die Methode der Transmissionsmessung entwickeltes vollautomatisches, selbst integrierendes Spektrophotometer dar, welches gleichzeitig die Extinktionskurven der gefärbten Chromatogrammstellen aufzeichnet und deren Flächenwerte numerisch anzeigt. Ein Vorteil dieses Gerätes ist ferner, dass nicht ein Nachlaufschreiber die Kurve zeichnet, sondern die Kurvenpunkte jeweils im Augenblick der Messung gestochen werden. Die im Gerät verwendete Null-Messmethode gewährleistet ein besonders hohes Mass an Genauigkeit, da jeder einzelne Messwert erneut auf die Nulllinie bezogen wird. Das Gerät arbeitet wie die meisten Densitometer eindimensional. Es ist deshalb erforderlich, dass die Anfärbung des Chromatogrammstellen über die ganze Lichtspaltbreite des Gerätes gleichmässig erfolgt, was durch strichförmiges Auftragen erreicht wird<sup>13</sup>.

*Papier und Dosierung der Substanzmengen*

Das Chromatogrammpapier muss für die Densitometrie optisch möglichst einheitlich sein. Das Ederol-Papier Nr. 208 erschien uns nach zahlreichen Versuchen mit anderen

\* Dr. GÜNTHER RICHTER, 8 München 15, Platenstr. 6, Deutschland.

\*\* Hersteller: Fa. Dr. Bender & Dr. Hobein, München 15, Deutschland.

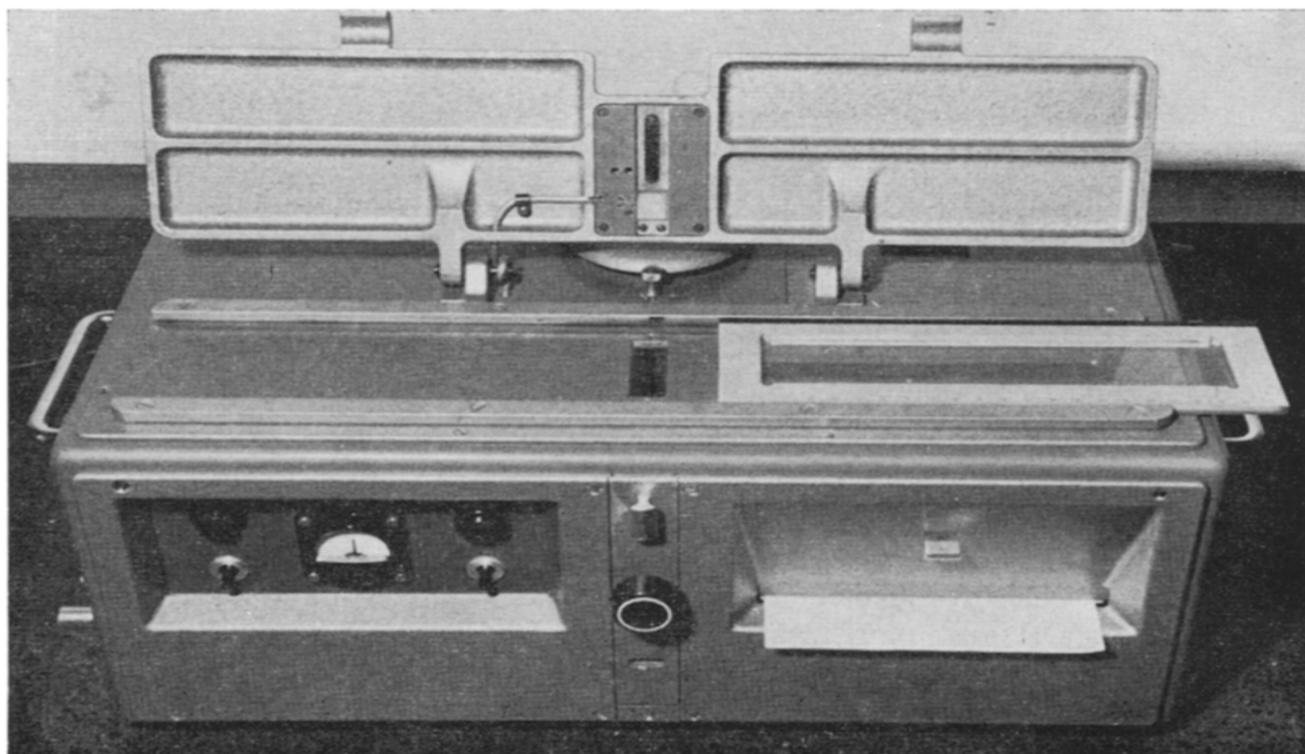


Fig. 1. "Elphor-Integraph", vollautomatisches Transmissionsdensitometer, aufgeklappt, im Deckel oberes Photoelement sichtbar. Links elektronischer Teil, rechts mechanischer Teil.

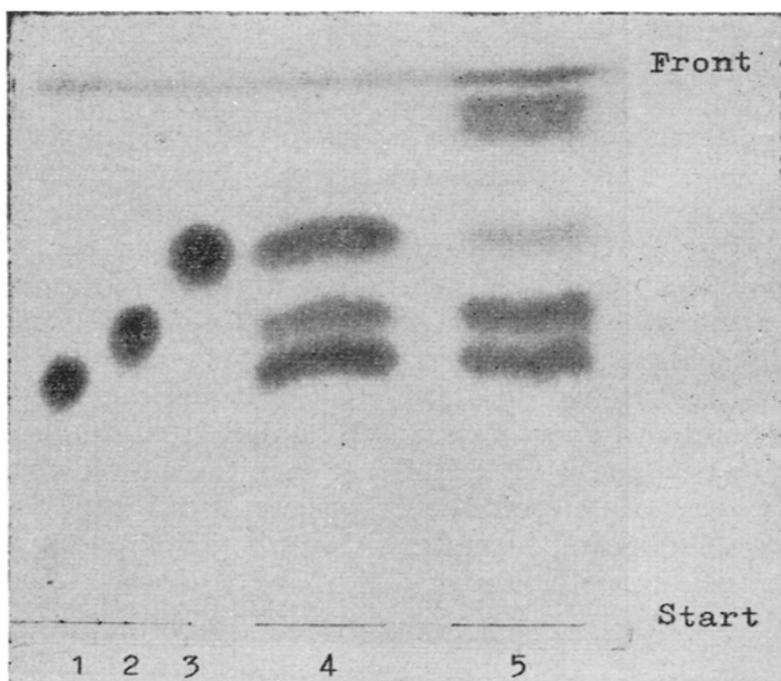


Fig. 2. Aufsteigend auf Ederol 208/P angefertigtes Papierchromatogramm. Fließmittel: Methylisopropylketon-*n*-Heptan (5:20, V/V); Anfärbung: Osmiumtetroxid. 1 = Geraniol; 2 = Citronellol; 3 = Linalool; 4 = Gemisch der Testsubstanzen; 5 = Geraniumöl für die densitometrische Messung strichförmig aufgetragen.

Papieren auch im Hinblick auf die Trennfähigkeit und Festigkeit nach der Imprägnierung als besonders gut geeignet\*. Kleinere Inhomogenitäten fallen nicht ins Gewicht, weil bei der photometrischen Auswertung über die ganze Streifenbreite gemittelt wird<sup>14</sup>.

Das Auftragen der Testsubstanzen und ätherischen Öle geschah aus geeigneten Verdünnungen. Die Testsubstanzen wurden als 0.1%ige Lösungen in *n*-Heptan, *n*-Hexan oder Benzol, die ätherischen Öle in entsprechend stärkerer Konzentration aufgebracht. Zur genauen Dosierung verwendeten wir eine Agla-Spritze\*\*. Die Startflecken wurden dem spaltförmigen Lichtstrahl des Densitometers angemessen als 3 cm breite Striche ausgeführt, wobei zum nächsten Fleck 1.5 cm Abstand gelassen wurden (Fig. 2).

#### *Entwicklung der Chromatogramme*

Die Entwicklung der Chromatogramme für die Eichkurven und die zu messenden ätherischen Öle geschah wie früher beschrieben<sup>1,2</sup> und immer unter gleichen Bedingungen nach der aufsteigenden Methode. Dabei wurden je nach der Art des zu untersuchenden Öles verschiedene in Tabelle I zusammengestellte Fließmittel verwendet.

TABELLE I  
GEEIGNETE FLIESSMITTEL

<i>Fließmittel</i>	<i>Volumenteile</i>	<i>Ätherische Öle</i>	<i>Laufzeit (Min.)</i>
Methylisopropylketon- <i>n</i> -Heptan	5:20	Citronellöle Geraniumöle Melissenöle	90
<i>n</i> -Hexan- <i>n</i> -Heptan-Eisessig	15:15:2	Lavendelöle Lavandinöle	60

#### *Anfärbung der Chromatogramme*

Die nach der Entwicklung 10 Min. an der Luft getrockneten Chromatogramme wurden 120 Min. lang in einer 5-l-Kammer dem Dampf aus etwa 0.25 g Osmiumtetroxid und 50 ml Eisessig (in einem Erlenmeyerkolben) ausgesetzt. Die zwischen den olefinischen Doppelbindungen der reagierenden Substanzen und dem OsO<sub>4</sub> gebildeten Osmium(VI)-säureester liessen sich anschliessend durch Hydrolyse in die Osmium(VI)-säure überführen, wobei eine starke Farbvertiefung und damit verbundene Empfindlichkeitssteigerung resultierte. Dazu erhitzen wir die Chromatogramme nach der Osmiumtetroxidbehandlung 120 Min. im Trockenschrank in einer gesättigten Wasserdampf-atmosphäre. Den Dampf entwickelten wir aus einer Schale (ø = 24 cm) mit 500 ml Wasser, die sich im Trockenschrank befand. Danach wurde das Chromatogramm 60 Min. an der Luft getrocknet, in 4 cm breite, für das Densitometer passende Streifen geschnitten und sofort gemessen.

Eine nachträgliche Transparentierung erwies sich als überflüssig, wenn ein

\* Das Papier für die Papierchromatographie und Densitometrie ätherischer Öle wird seit einiger Zeit nach unseren Angaben von der Fa. J. C. Binzer, Hatzfeld/Eder, Deutschland, unter der Bezeichnung Ederol 208/P hergestellt.

\*\* Hersteller: Fa. Burroughs Wellcome & Co., London, England.

Stück ungefärbtes Chromatogrammpapier vor das untere vergleichende Photoelement gebracht wurde. Dadurch liessen sich bei beiden Photoelementen etwa gleiche Lichtverhältnisse erzielen. Ausserdem konnten wir, wie bereits MASTNER, FRANEK UND NOVAK<sup>16</sup> feststellten, auf nicht transparentem Papier mit grösserer Empfindlichkeit und auch mit weniger Wiederholungen messen.

#### *Durchführung der densitometrischen Messungen*

Für die Messungen verwendeten wir einen Lichtspalt von 1 mm Breite und 36 mm Länge. Die Nulllinien-Kompensation, womit auf die Grundlinie der Extinktionskurve eingestellt wurde, nahmen wir zwischen dem Start und dem zu messenden Fleck an der optisch dünnsten Stelle, etwa 2–2.5 cm vor der Mitte des Flecken vor. Dabei zeigte es sich, dass die Ausdehnung der Flecken oft wesentlich grösser war, als das Auge wahrnehmen konnte. Damit liess sich ein Fehler vermeiden, der die Ergebnisse bei Ausschneiden oder Auskratzen von Chromatogrammflecken und deren Bestimmung durch Elution gefährden kann. Gemessen wurde in Richtung zur Front solange, bis das Zählwerk zu addieren aufhörte. Von mindestens 3 Messungen bildeten wir das arithmetische Mittel. Die so erhaltenen Flächenwerte der Extinktionskurven wurden in ein Koordinatensystem eingetragen (Fig. 3). Kehrete bei der

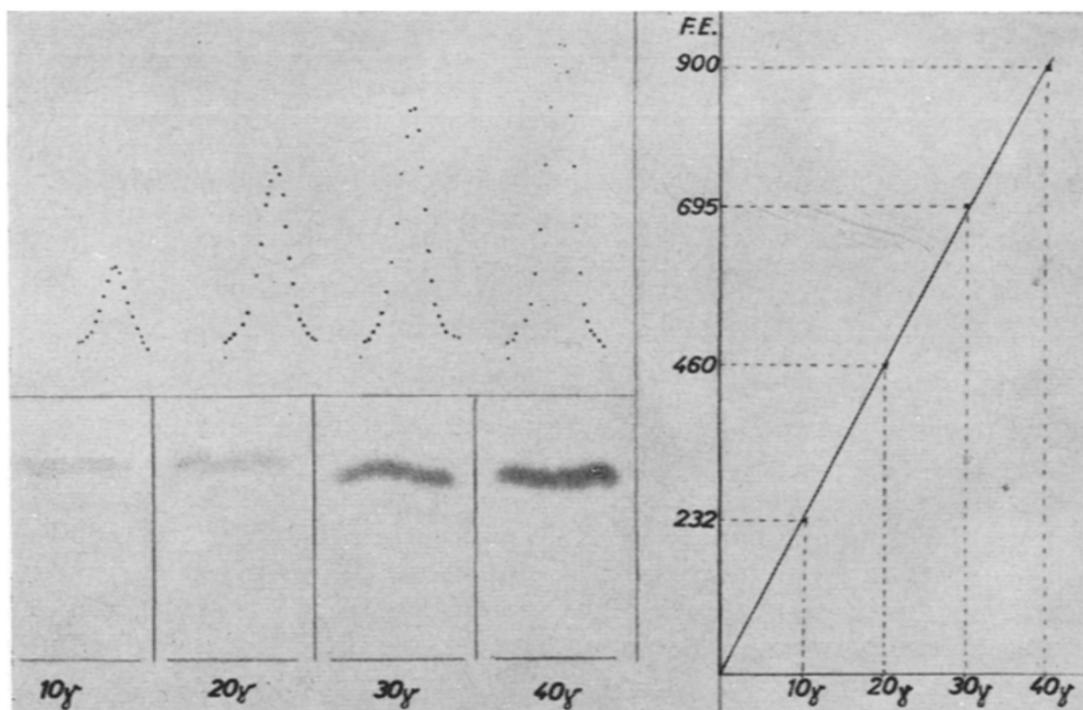


Fig. 3. Chromatogrammstreifen mit steigenden Mengen Geraniol aus einem Chromatogramm, angefärbt mit Osmiumtetroxid, darüber die dazugehörigen, im Densitometer gemessenen Extinktionskurven, rechts die daraus resultierenden Flächenwerte graphisch dargestellt.

Messung mehrerer dicht nebeneinander liegender Flecken die Kurve nicht bis zur Nulllinie zurück, so wurde bei geringen Überlappungen der tiefste gestochene Kurvenpunkt des zwischen den beiden Maxima liegenden Tales als Ende der Messung für den davorliegenden Flecken genommen. Dies bedeutet, dass von diesem Punkt

das Lot auf die Grundlinie gefällt wurde. Bei etwa gleicher Form benachbarter Extinktionskurven ist der Fehler so gering, dass er vernachlässigt werden kann.

### Eichkurven

Für folgende Reinsubstanzen stellten wir Eichkurven auf: Geraniol, Citronellol, Linalool und Linalylacetat. Zur Ermittlung der Eichkurven wurden jeweils von

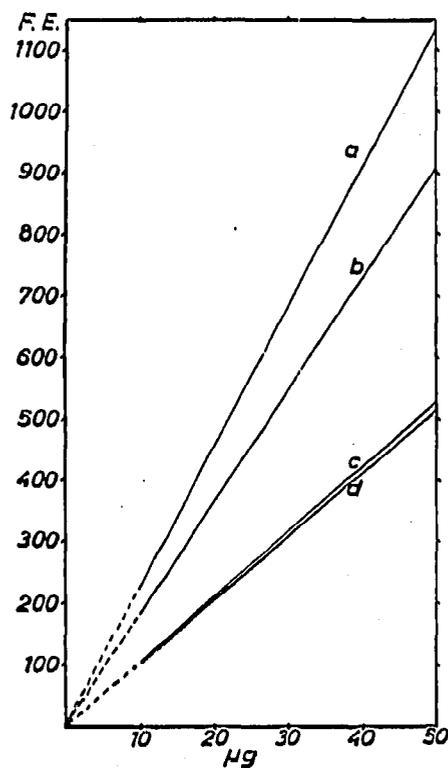


Fig. 4

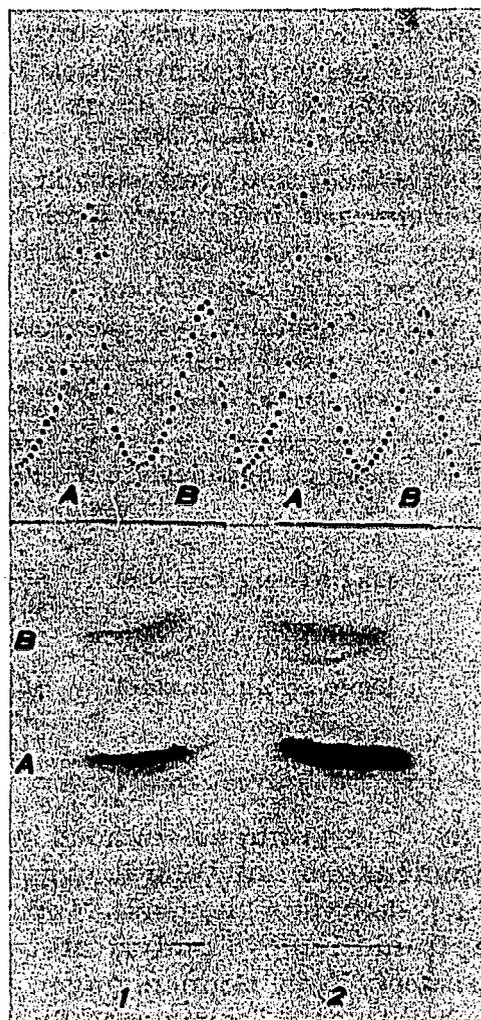


Fig. 5

Fig. 4. Densitometrisch ermittelte Eichkurven für: a = Geraniol; b = Linalool; c = Citronellol; d = Linalylacetat; FE = Flächeneinheiten.

Fig. 5. Chromatogrammstreifen und Extinktionskurven von je 100 µg Lavendelöl Barrême, der zweite Streifen mit Zusatz von 20% Linalool. Fließmittel: *n*-Hexan-*n*-Heptan-Eisessig (15:15:2, V/V). A = Linalool; B = Linalylacetat.

5 zu 50 µg steigende Mengen reiner Testsubstanz wie oben beschrieben chromatographiert, angefärbt und gemessen. Die arithmetischen Mittelwerte von 10 derartigen Eichchromatogrammen lieferten die Kurvenpunkte für die Eichkurve. Von den vier bisher von uns herangezogenen Substanzen erhielten wir die in Fig. 4 dargestellten Geraden. Der Messbereich ist durch die Konstruktion des Gerätes begrenzt und wird mit zunehmender Zahl olefinischer Doppelbindungen einer Substanz

kleiner, weil die Stärke der Anfärbung zunimmt. Liegt das Maximum der Extinktionskurve eines Wertes ausserhalb des Messbereiches, so ist die Messung nicht mehr exakt.

*Überprüfung der Reproduzierbarkeit durch Zusatz reiner Testsubstanz zu Öl mit bekanntem Gehalt*

Zu Lavendelöl (Barrême-Qualität) mit 20 % Linalool wurden in verschiedenen Versuchen 10 und 20  $\mu\text{g}$  Linalool auf dem Chromatogramm dazu aufgetragen und überprüft, ob der densitometrisch ermittelte Gehalt der Summe entsprach (Fig. 5). Wie Tabelle II zeigt, wurden in beiden Fällen die hinzugefügten Mengen wiedergefunden.

*Reinigung der Testsubstanzen*

*Linalylacetat* reinigten wir von geringen, mit den Terpenen in die Front laufenden Verunreinigungen, indem wir 1 ml auf eine mit aktiviertem (3 Std. bei 150°) Kieselgel

TABELLE II  
REPRODUZIERBARKEIT BEI ZUSATZ VON LINALOOL ZU LAVENDELÖL

Aufgetragene Substanzen	Flächeneinheit	Linalool ( $\mu\text{g}$ )	Mittelwerte ( $\mu\text{g}$ )	Linalool wiedergefunden (%)
100 $\mu\text{g}$ Lavendelöl	368	20.8	21.6	—
	398	22.0		
	397	22.0		
Dazu 10 $\mu\text{g}$ Linalool	607	33.3	32.2	entspr. 106
	597	32.7		
	554	30.5		
Dazu 20 $\mu\text{g}$ Linalool	761	41.6	40.6	entspr. 100
	745	40.8		
	716	39.3		

Merck ( $\varnothing$  0.2–0.5 mm) 24 cm hoch beschickte Säule ( $\varnothing = 1$  cm) brachten, zunächst die Verunreinigungen mit Wundbenzin und danach das Linalylacetat mit Benzol eluieren. Nach dem Trocknen mit Natriumsulfat sicc. wurde das Benzol im Vakuum abgedampft und reines Linalylacetat erhalten.

*Linalool.* Zwei Beimengungen begleiteten das handelsübliche Linalool. Auf der Dünnschichtplatte chromatographiert (Kieselgel G Merck, Benzol–Äthylacetat (95:5, V/V) als Fließmittel) lag die eine Verunreinigung dicht über, die andere dicht unter dem Linalool. Da beide in einer geschlossenen Säule nicht vom Linalool zu trennen waren, wurden sie über eine mit Kieselgel G Merck angefertigte offene Säule mit Benzol–Äthylacetat (95:5) chromatographiert und, nach Detektion der Zonen an einem Streifen, die Linaloolzone separiert. Nach Elution derselben mit Benzol, Trocknen und Abdampfen des Lösungsmittels (siehe oben) erhielten wir reines Linalool.

*Geraniol* wurde, da eine Reinigung<sup>16</sup> des handelsüblichen Produktes, das von 5 Verunreinigungen begleitet war, zu keinem befriedigenden Ergebnis führte, durch Verseifen von reinem Geranylacetat (1 Std. mit 5 %iger kalter Natronlauge) erhalten.

*Citronellol.* Die Reindarstellung von Citronellol aus einem handelsüblichen Produkt gelang durch Entfernung des vorhandenen Geraniols nach TIEMANN UND

SCHMIDT<sup>17</sup>, Überführung des Citronellols nach REICHSTEIN<sup>18</sup> in sein 3,5-Dinitrobenzoat und säulenchromatographischer Reinigung desselben. Dazu wurde es zunächst über eine Aluminiumoxydsäule (20 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> neutral Woelm + 6 % Wasser, ø 21 mm) und anschliessend mit Chloroform über eine Kieselgelsäule (20 g aktiviertes Kieselgel Merck 0.2–0.5 mm, ø 21 mm) chromatographiert. Nach 20 stündiger kalter Verseifung mit 10 %iger methanolischer Kalilauge erhielten wir das in Freiheit gesetzte Citronellol nach Verdünnen mit reichlich Wasser und Ausschütteln mit Äther.

### Fehlerrechnung

Zunächst war der Fehlerumfang zu ermitteln, der durch die Flüchtigkeit der ätherischen Öle entsteht. Zu diesem Zweck wurden Versuche mit Linalool angestellt, wobei jeweils 40 µg aufgetragen, 10 Min. lang chromatographiert und dann erst nach wachsenden Zeiten angefärbt und gemessen wurde. Der Vergleich der Extinktionen mit entsprechenden Werten der Eichkurve ergab zu niedrige Mengen bei den Verdunstungsversuchen (siehe Tabelle III). Da die Eichkurven aber unter den gleichen Bedingungen aufgestellt werden, wie sie bei den eigentlichen Messungen unbekannter Werte herrschen, wird dieser Verdunstungsfehler weitgehend kompensiert.

TABELLE III  
VERDUNSTUNGSVERLUSTE BEIM LINALOOL DENSITOMETRISCH BESTIMMT

Verdunstungszeit (Min.)	Substanzverlust* bezogen auf die Werte nach sofortiger Anfärbung (%)
30	etwa 1
60	2.5– 5.0
120	5.0– 8.0
240	6.0–10.0

\* Die Werte bewegen sich in gewissen Spannen, was wohl mit den Bedingungen wie Luftbewegung, Temperatur und Luftfeuchtigkeit zusammenhängt.

Zur Berechnung der Fehler\* bei den Messungen wurden die bei der Aufstellung der Eichkurven erhaltenen Werte herangezogen. Aus ihnen war zunächst der Anstieg der Kurven nach der Formel:

$$m = \frac{\text{Extinktionsflächenwert}}{\mu\text{g Testsubstanz}}$$

zu ermitteln.

Für Geraniol erhielten wir z.B. bei 10 Werten mit je 30 µg aufgetragener und normal chromatographierter Substanz folgende Werte:

$$\frac{647}{30} \quad \frac{665}{30} \quad \frac{671}{30} \quad \frac{668}{30} \quad \frac{698}{30} \quad \frac{695}{30} \quad \frac{690}{30} \quad \frac{632}{30} \quad \frac{643}{30} \quad \frac{678}{30}$$

Aus den Quotienten wurden die Fehler errechnet und in der gleichen Weise mit den Eichkurvenwerten der übrigen Testsubstanzen verfahren. Die erhaltenen Fehler sind in Tabelle IV zusammengestellt.

\* Nach F. W. KÜSTER UND A. THIEL, *Logarithmische Rechentafeln*, Berlin, 1955, S. 188 und Tafel 12, I.

TABELLE IV

FEHLERGRÖSSEN BEI DER DENSITOMETRISCHEN MESSUNG DER TESTSUBSTANZEN

Substanz	M	$10^6 \cdot f^2$	$f_m$	$F_m$	$E_m$	$E_w$
Geraniol	22.32	536, 840, 000	0.77	0.24	$22.32 \pm 0.24$	$\pm 0.16$
Linalool	18.54	2,209, 300, 000	1.57	0.50	$18.54 \pm 0.50$	$\pm 0.33$
Linalylacetat	10.25	230, 540, 000	0.51	0.16	$10.25 \pm 0.16$	$\pm 0.11$
Citronellol	10.39	808, 170, 000	0.95	0.30	$10.39 \pm 0.20$	$\pm 0.20$

In Prozenten ausgedrückt ergibt sich für die einzelnen Stoffe folgender mittlerer Fehler ( $f_m$ ) für die Einzelmessung:

Geraniol  $\pm 0.7$   
Linalool  $\pm 1.8$

Linalylacetat  $\pm 1.1$   
Citronellol  $\pm 1.9$

## ERGEBNISSE

*Vergleichende Qualitätsermittlung einiger handelsüblicher ätherischer Öle auf chemisch-analytischem, densitometrischem und gaschromatographischem Wege*

Eine Anzahl frischer und gelagerter Lavendel-, Lavandin-, Citronell-, und Melissenöle (vgl. Fig. 6) untersuchten wir mit Hilfe der aufgestellten Eichkurven nach unserem

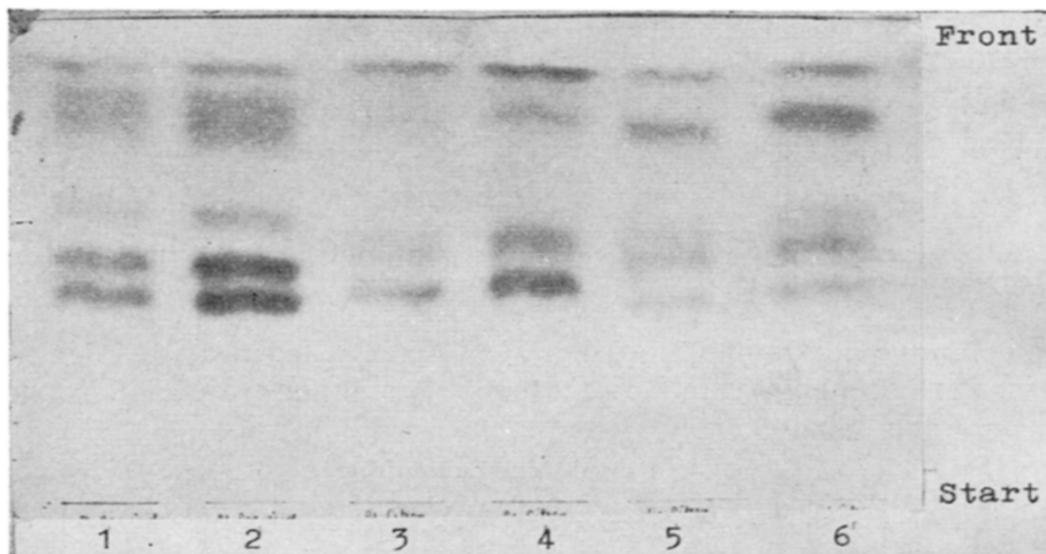


Fig. 6. Für die densitometrische Messung angefertigtes Papierchromatogramm. Fließmittel: Methylisopropylketon-*n*-Heptan (5:20, V/V); Anfärbung: Osmiumtetroxyd. 1 und 2 = 100 und 200  $\mu\text{g}$  ägyptisches Geraniumöl; 3 und 4 = 100 und 200  $\mu\text{g}$  ceylonesisches Citronellöl; 5 und 6 = 150 und 200  $\mu\text{g}$  javanisches Citronellöl.

densitometrischen Verfahren und nach bisher üblichen chemisch-analytischen Methoden (siehe Tabelle V und VI). Dabei liessen sich oft erhebliche Unterschiede zwischen den Analysenergebnissen feststellen.

Die densitometrisch und gaschromatographisch bestimmten Werte liegen unter den chemisch bestimmten. Die Abweichungen der densitometrischen Ergebnisse von den gaschromatographischen sind einmal dadurch zu erklären, dass es sich bei

TABELLE V  
ANALYSENERGEBNISSE VON ÄTHERISCHEN ÖLEN

Ätherische Öle	Methode					
	Chem.-analyt.		Densitometrisch		Gaschromatogr.	
	A	B <sup>10</sup>	C	D	C	D
Lavendelöl Mt. Blanc 38-40 %	38.8	19.1	33.1	20.7	37.0	37.0
Lavendelöl Mt. Blanc 40-42 %	40.2	19.5	35.4	23.4	23.0	19.0
Lavendelöl Barrême	32.1	21.0	21.5	16.1	22.0	33.0
Lavendelöl Mt. Blanc	42.8	24.8	38.3	21.6	27.0	31.0
Lavandinöl 22-24 %	22.9	22.1	22.1	16.7	21.0	35.0

Erläuterungen: A = Estergehalt (%); B = Alkoholgehalt (%); C = Linalylacetatgehalt (%); D = Linaloolgehalt (%).

TABELLE VI  
ANALYSENERGEBNISSE VON ÄTHERISCHEN ÖLEN

Ätherische Öle	Methode						
	Densitometrisch			Gaschromatogr.			Chem.-analyt.
	A	B	C	A	B	C	D
Citronellöl ceylon.	14.2	28.0	—	23.0	22.0	—	60.2
Citronellöl javan.	6.1	22.7	6.8	9.0	18.0	—	75.6
Geraniumöl ostind.	54.5	—	—	68.0	4.0	5.0	—
Melissenöl deutsch	5.5	26.2	8.2	6.0	30.0	5.0	—

Erläuterungen: A = Geraniolgehalt (%); B = Citronellolgehalt (%); C = Linaloolgehalt (%); D = Gesamtgeraniolgehalt (%).

ersteren um Gewichts-, bei letzteren aber um Volumenprozent handelt. Ausserdem beziehen sich die gaschromatographischen Ergebnisse nicht wie bei der Densitometrie auf die gesamte chromatographierte Ölmenge, sondern nur auf den flüchtig gewordenen Anteil. Mit den chemisch-analytischen Methoden andererseits werden bekanntlich nicht einzelne Stoffe erfasst, sondern meist ganze Stoffgruppen.

#### DISKUSSION

Zwei Faktoren haben hauptsächlich dazu beigetragen, das Problem der direkten chromatographischen Auftrennung von ätherischen Ölen auf Papier und die Frage der densitometrischen Auswertung solcher Papierchromatogramme zu lösen. Es sind die Herstellung eines mit Paraformaldehyd imprägnierten Papierses und die Ausarbeitung einer reproduzierbaren Anfärbemethode für ungesättigte Substanzen\* mit Osmiumtetroxid. Neben der Qualität des Papierses<sup>13</sup> ist die Anfärbung der zu messenden Substanzen auf dem Chromatogramm für die Reproduzierbarkeit von ausschlaggebender Bedeutung. Eine farbintensive Anfärbung, die dem Lambert-Beerschen Gesetz folgt und von möglichst vielen Inhaltsstoffen ohne eine Verfärbung des Papierhintergrundes in einem weiten Messbereich gegeben wird, ist die schwer zu erfüllende Voraussetzung. Das von uns verwendete Osmiumtetroxid genügt diesen Anforderungen in idealer Weise. Das mit ungesättigten Substanzen gebildete

\* Die densitometrische Bestimmung anderer, auch nicht flüchtiger Naturstoffe soll Gegenstand weiterer Arbeit sein.

Schwarz kommt dem "idealen Grau"<sup>20</sup> sehr nahe, sodass es nicht notwendig ist, monochromatisches Licht zu verwenden. Eine Verfärbung des Hintergrundes tritt nicht ein. Da das Reagens als Dampf zur Anwendung kommt, wird eine 100%ige Durchfärbung der Flecken gewährleistet.

Mit dem von uns entwickelten Verfahren ist es nun in wenig aufwendiger Weise möglich, die Qualität ätherischer Öle in Bezug auf ihre ungesättigten Hauptbestandteile zu bestimmen. Chromatogramme von guten Qualitäten lassen sich als Standardmasstäbe für später produzierte bzw. eingekaufte Öle aufbewahren, da die Färbung unbegrenzt haltbar ist und noch nach Monaten dieselben Messwerte ergibt. Genauso lässt sich das Auftreten von Autoxydationsprodukten während der Lagerung leicht überwachen, da diese am Startpunkt zurückbleiben. Das Verfahren der densitometrischen Bestimmung von ätherischen Ölsubstanzen stellt sich damit neben die Gas- und die Dünnschichtchromatographie. Der Vorteil, dass im Gegensatz zur gaschromatographischen Analyse auch die nicht oder nur sehr schwer flüchtigen Bestandteile in einem Arbeitsgang mit erfasst werden, spielt bei der Beurteilung von alten und schlecht gelagerten Ölen, bei denen sich nicht mehr flüchtige Polymerisationsprodukte gebildet haben, eine Rolle. Während bei der gaschromatographischen Routineanalyse in einem solchen Falle die Summe der Peakflächen aller flüchtigen Stoffe gleich 100% gesetzt und daraus der Prozentgehalt der einzelnen Komponenten berechnet wird, die nicht flüchtigen Anteile also unberücksichtigt bleiben, bezieht man bei der Densitometrie auf eine genau eingewogene Stammlösung. Ausserdem kann man im Gegensatz zur Gaschromatographie sehr verdünnte Lösungen zur Analyse bringen. Verglichen mit der dünnenschichtchromatographischen Methode<sup>21-26</sup> besitzt unser Verfahren deren Trennvermögen und den Vorteil kurzer Entwicklungszeiten, ohne ihre Schwierigkeiten bei der quantitativen Auswertung zu teilen.

In einer kürzlich erschienenen Veröffentlichung deutet YORK<sup>27</sup> in einer Arbeit über Harze und Balsame wohl an, dass diese Schwierigkeiten mit Hilfe eines Reflexionsdensitometers überwunden werden können, doch fehlen noch nähere Einzelheiten des Verfahrens. Man würde ausserdem im Falle der Reflexionsmessung eine im Vergleich zur Transmissionsmessung fünf mal geringere Empfindlichkeit in Kauf nehmen müssen<sup>28</sup>.

#### DANK

Unser besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. L. HÖRHAMMER, Direktor des Institutes für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München für die freundliche Förderung unserer Arbeit und Herrn Priv.-Doz. Dr. H. WAGNER für Korrektur und Diskussion.

Ferner sind wir der Fa. Dragoco, Holzminden, die uns die gaschromatographischen Analysen der von uns untersuchten ätherischen Öle anfertigte zu aufrichtigem Dank verbunden. Ausserdem gebührt ihr, wie auch den Firmen Haarmann & Reimer in Holzminden, Frey & Lau in Hamburg-Bahrenfeld und E. Ziegler in Aufsess, unser bester Dank für die freundliche Überlassung von ätherischen Ölen und Testsubstanzen. Ausserdem sind wir der Firma A. Boake, Roberts & Co, London, für die freundliche Überlassung reiner Testsubstanzen sehr verbunden.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Nach papierchromatographischer Trennung auf Ederol-Papier Nr. 208/P und Anfärbung mit Osmiumtetroxid lassen sich ungesättigte Bestandteile ätherischer Öle

reproduzierbar densitometrisch mit Hilfe eines gebräuchlichen Transmissionsdensitometers bestimmen. Es werden die Eichkurven der gut zu trennenden Alkohole Linalool, Geraniol und Citronellol (Fließmittel: Methylisopropylketon-*n*-Heptan (5:20, V/V)) sowie von Linalylacetat aufgestellt und mit ihnen Gehaltsbestimmungen an Lavendel-, Lavandin-, Geranium-, Citronell- und Melissenölen durchgeführt. Die so erhaltenen Werte werden mit chemisch-analytisch und gaschromatographisch gewonnenen Analysendaten verglichen.

## SUMMARY

A method is described with which unsaturated components of essential oils can be determined with good reproducibility. After separation on Ederol paper No. 208/P and coloration by treatment with osmium tetroxide, the components are determined by means of a common transmission densitometer. Using the solvent system methyl isopropyl ketone-*n*-heptane (5:20, v/v), calibration curves were drawn for the alcohols linalool, geraniol and citronellol, which are well-separable, as well as for linalyl acetate. With these curves the contents of these components in oil of lavender, lavandin, geranium, citronella and melissa were determined. The values were compared with those obtained by means of chemical analysis and gas chromatography.

## LITERATUR

- <sup>1</sup> L. HÖRHAMMER, G. RICHTER UND H. WAGNER, *J. Chromatog.*, 10 (1963) 108.
- <sup>2</sup> G. RICHTER UND P. MUSCHOLL, *J. Chromatog.*, 14 (1964) 439.
- <sup>3</sup> A. LACOURT, *Mikrochim. Acta*, (1957) 269.
- <sup>4</sup> K. E. SCHULTE UND C. B. STORP, *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 57 (1955) 36, 600; 58 (1956) 35.
- <sup>5</sup> R. MIRAM UND S. PFEIFER, *Pharm. Zentralhalle*, 96 (1957) 457.
- <sup>6</sup> H. P. KAUFMANN UND H. J. HENNIG, *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 63 (1961) 908.
- <sup>7</sup> P. ALBERS UND R. FREISKORN, *Ann. Chem.*, 622 (1959) 150.
- <sup>8</sup> J. B. HIMES, L. D. METCALFE UND H. RALSTON, *Anal. Chem.*, 33 (1961) 364.
- <sup>9</sup> D. N. BERNHART UND W. B. CHESSE, *Anal. Chem.*, 31 (1959) 1026.
- <sup>10</sup> A. BAERHEIM SVENDSEN, E. DROTTNING UND A. PAULSEN, *Med. Norsh Farm. Selskap*, 17 (1955) 116.
- <sup>11</sup> H. GÄNSHIRT UND K. MORIANZ, *Arch. Pharm., Ber. Deut. Pharm. Ges.*, 293/65 (1960) 1065.
- <sup>12</sup> F. W. HEFENDEHL, *Planta Med.*, 8 (1960) 65.
- <sup>13</sup> W. GRASSMANN UND K. HANNIG, *Z. Physiol. Chem.*, 290 (1952) 1.
- <sup>14</sup> W. GRASSMANN UND K. HANNIG, *Klin. Wochschr.*, 32 (1954) 838.
- <sup>15</sup> J. MASTNER, F. FRANEK UND L. NOVAK, *Collection Czech. Chem. Commun.*, 24 (1959) 2959.
- <sup>16</sup> O. JACOBSEN, *Ann. Chem.*, 81 (1871) 232.
- <sup>17</sup> F. TIEMANN UND R. SCHMIDT, *Ber.*, 29 (1896) 903.
- <sup>18</sup> T. REICHSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 9 (1926) 799.
- <sup>19</sup> L. S. GLICHITCH UND S. SABETAY, *Intern. Perfumer*, 1 (1951) 11.
- <sup>20</sup> G. KORTÜM, *Kolorimetrie, Photometrie und Spektrometrie*, Bd. II, 3. Aufl., Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1955, S. 86.
- <sup>21</sup> E. STAHL, *Angew. Chem.*, 19 (1961) 646.
- <sup>22</sup> E. STAHL, *Pharmazie*, 11 (1956) 633.
- <sup>23</sup> E. STAHL, *Chemiker Ztg.*, 82 (1958) 323.
- <sup>24</sup> E. STAHL, *Parfuem. Kosmetik*, 39 (1958) 564.
- <sup>25</sup> E. STAHL, *Pharm. Rundschau*, 1 (1959) 1.
- <sup>26</sup> R. JASPERSEN-SCHIB, *Pharm. Acta Helv.*, 36 (1961) 141.
- <sup>27</sup> H. YORK, *Deut. Apotheker-Ztg.*, 102 (1962) 1163.
- <sup>28</sup> E. H. WINSLOW UND H. A. LIEBHAFSKY, *Anal. Chem.*, 21 (1949) 1338.