

CHROM. 3764

ABTRENNUNG VON TERPENALKOHOLEN AUS TERPENGEMISCHEN ALS 3,5-DINITROBENZOATE AUF KIESELGEL-DÜNNESCHICHTEN

M. v. SCHANTZ, S. JUVONEN, A. OKSANEN UND I. HAKAMAA

Abteilung für Pharmakognosie an der Universität Helsinki (Finnland)

(Eingegangen am 25. Juli 1968)

SUMMARY

Separation of terpene alcohols from terpene mixtures as their 3,5-dinitrobenzoates on Kieselgel thin layers

The separation of terpene alcohols from volatile oils and mixtures of turpentine oils in the form of their 3,5-dinitrobenzoyl esters is studied in this work. The following results have been obtained by use of thin-layer chromatography.

(1) The dinitrobenzoyl esters of the following terpene alcohols have been isolated in crystalline form from turpentine oils: (25 % excess reagent used) citronellol, geraniol, nerol, borneol, menthol, *d*-isomenthol, *d*-neomenthol, *d*-neoisomenthol, α -terpineol and linalool.

(2) The primary and secondary alcohols can be separated by their different reaction time from the tertiary alcohols. In this way α -terpineol and linalool could be separated on thin layers from the other terpene alcohols by using 3,5-dinitrobenzoyl chloride; as well as from turpentine oil and from coriander oil, lavender oil, pelargonium oil, sweet orange peel oil, orange flower oil and rose oil. For complete reaction the tertiary alcohols need a reaction time of at least one hour, whereas the reaction for the primary and secondary terpene alcohols is complete after five minutes.

(3) The secondary alcohols, borneol and menthols do not yield coloured spots with antimony(V) chloride before the plates have been dried at 120° and can accordingly be differentiated from the tertiary alcohols.

(4) Neryl 3,5-dinitrobenzoate has mustard yellow crystals, m.p. 31–32°.

(5) Menthyl 3,5-dinitrobenzoate can be separated from isomenthyl 3,5-dinitrobenzoate as well as neomenthyl 3,5-dinitrobenzoate from neo-isomenthyl 3,5-dinitrobenzoate.

Schon im Jahre 1926 hat REICHSTEIN¹ gezeigt, dass 3,5-Dinitrobenzoylchlorid zur Identifizierung von Alkoholen geeignet ist. Seitdem ist diese Verbindung häufig dazu benutzt worden^{2,3}. Mit den meisten Alkoholen werden durch scharfe Schmelzpunkte charakterisierte Ester gebildet. Die verschiedenen 3,5-Dinitrobenzoate (DNB) weisen oft auch grosse Differenzen im Schmelzpunkt auf. Öfters ist es auch möglich Alkohole aus Gemischen durch Herstellung der 3,5-DNB und darauffolgende

fraktionierte Kristallisation zu trennen. Besonders zur Trennung von stereoisomeren Mentholen ist die Methode brauchbar⁴⁻⁹.

Von den quantitativen Bestimmungsmethoden für Alkohole ist die von JOHNSON UND CRITCHFIELD¹⁰ zu nennen. Durch kolorimetrische Methoden konnten die Alkohole quantitativ bestimmt werden. Weiter haben ROBINSON und Mitarb.¹¹ eine potentiometrische Titriermethode ausgearbeitet, mit deren Hilfe es möglich ist, durch Verwendung von 3,5-Dinitrobenzoylchlorid den Alkohol quantitativ zu bestimmen.

Die 3,5-DNB lassen sich auch chromatographisch trennen. Durch Anwendung von Säulenchromatographie haben WHITE UND DRYDEN¹² die 3,5-DNB aliphatischer Alkohole und MONTES UND CLAVET¹³ sowie HOLLEY UND HOLLEY¹⁴ die 3,5-DNB einiger Terpenalkohole isoliert.

Auch einige papierchromatographische Arbeiten, die die 3,5-DNB von Alkoholen behandeln sind bekannt¹⁵⁻¹⁷. Es handelt sich meistens um 3,5-DNB von aliphatischen Alkoholen, die mit Naphtylamin oder Rhodamin sichtbar gemacht werden können. Dagegen gibt es von Terpenalkoholen weniger Auskunft.

Schon KIRCHNER UND MILLER¹⁸ haben 3,5-DNB zur Identifizierung von Terpenalkoholen auf Dünnschichten benutzt. Die Methode ist von DHONT UND ROOY¹⁹ weiter entwickelt und auch zur Reindarstellung von Alkoholen aus Terpengemischen benutzt worden. MEHLITZ, GIERSCHNER UND MINAS²⁰ haben die Methode zur Trennung von Alkoholen in Fruchtaromen benutzt und GRAF UND HOPPE²¹ zum Nachweis von Isomenthol in Menthol. BRAUN²² hat die 3,5-DNB der Alkohole in Weichmachern durch direkte Umesterung dargestellt und dann die Verbindungen dünnschichtchromatographisch identifiziert. Schliesslich hat OKINAGA²³ versucht auf Mikro-Platten die 3,5-DNB einiger Terpenalkohole zu separieren, die sich jedoch mit dieser Methode nicht befriedigend trennen liessen.

In vorliegender Arbeit wurden die Möglichkeiten zur Isolierung der Terpenalkohole aus Terpengemischen als 3,5-DNB untersucht. Die isolierten Ester wurden weiter dünnschichtchromatographisch getrennt um festzustellen, ob die Alkohole so leichter zu trennen sind als in freier Form.

DIE 3,5-DINITROBENZOATE DER TERPENALKOHOLE AUS LÖSUNGEN IN TERPENTINÖL

Durch Verwendung von 3,5-Dinitrobenzoylchlorid in 25 %igem Überschuss war es möglich die 3,5-DNB in ziemlich guter Ausbeute auch aus Terpentinöllösungen darzustellen. Tabelle I gibt Auskunft über die dargestellten Ester. Aus der Tabelle I ist auch zu ersehen, dass die Ausbeute der Ester aus den tertiären Alkoholen viel kleiner ist als aus den primären und sekundären. Es ist schon seit langem bekannt, dass sich Acylchloride schwierig mit tertiären Alkoholen umsetzen. Nach REICHSTEIN¹ setzt sich 3,5-Dinitrobenzoylchlorid mit primären und sekundären Alkoholen recht glatt um. Auch mit tertiären Alkoholen werden Ester gebildet aber viel langsamer.

TRENNUNG DER 3,5-DINITROBENZOATE AUF KIESELGEL-DÜNNSCHICHTEN

Mit Benzol-Äthylacetat (95 + 5) als Laufmittel konnten einige Alkohole voneinander getrennt werden (Tabelle II). Zur Trennung der 3,5-DNB war dieses Laufmittel zu polar.

TABELLE I

DARGESTELLTE 3,5-DINITROBENZOATE

Alkoholderivat (3,5-DNB)	Ausbeute %	Mal umkrist.	Schmp.	Schmp. in Litt.	Litt. Hinweis
Citronellyl-	67.1	2	22-24	30	13
Geranyl-	58.8	2	53-55	63	1
Neryl-	84.4	7	31-32	—	—
Bornyl-	63.8	10	147-149	154	24
Menthyl-	71.0	1	150-152	153	9
<i>d</i> -Isomenthyl-	80.0	3	141-143	145	6
<i>d</i> -Neomenthyl-	79.8	3	149-151	155	7
<i>d</i> -Neoisomenthyl-	58.2	6	94-96	101	8
α -Terpinyl-	44.5	18	78-79	79	1
Linalyl-	32.8	2	85-87	89	13

TABELLE II

 R_F -Werte der untersuchten Terpenalkohole und ihrer 3,5-Dinitrobenzoate

Laufmittel	Nach Besprühen mit Antimon(V)chlorid	Nach Trocknung	R_F -Wert $\times 100$
<i>Benzol</i> -Äthylacetat (95 + 5)			
Citronellol	gelbbraun	braun	14
Nerol	gelbbraun	braun	16
Geraniol	gelbbraun	braun	15
Linalool	gelbbraun	braun	25
α -Terpineol	gelbbraun	braun	16
Menthol	—	braun	21
<i>d</i> -Neomenthol	gelbbraun	braun	29
<i>d</i> -Neoisomenthol	gelbbraun	braun	29
Borneol	—	braun	17
Citronellyl-3,5-DNB	gelb	braun	70
Neryl-3,5-DNB	gelb	braun	70
Geranyl-3,5-DNB	gelb	braun	67
Linalyl-3,5-DNB	gelb	braun	67
α -Terpinyl-3,5-DNB	gelb	braun	68
Menthyl-3,5-DNB	—	braun	64
<i>d</i> -Neoisomenthyl-3,5-DNB	—	braun	64
<i>d</i> -Neomenthyl-3,5-DNB	—	braun	64
<i>d</i> -Isomenthyl-3,5-DNB	—	braun	65
Bornyl-3,5-DNB	—	braun	64
<i>Benzol</i> -Petroläther (1 + 1)*			
Citronellyl-3,5-DNB	gelb	braun	33
Neryl-3,5-DNB	gelb	braun	34
Geranyl-3,5-DNB	gelb	braun	32
Linalyl-3,5-DNB	gelb	braun	35
α -Terpinyl-3,5-DNB	gelb	braun	35
Menthyl-3,5-DNB	—	braun	49
<i>d</i> -Neoisomenthyl-3,5-DNB	—	braun	43
<i>d</i> -Neomenthyl-3,5-DNB	—	braun	48
<i>d</i> -Isomenthyl-3,5-DNB	—	braun	45
Bornyl-3,5-DNB	—	braun	38

* Zweimal eluiert.

Mit Benzol-Petroläther (1 + 1) wurde eine bessere Trennung erreicht.

Von den freien Alkoholen gingen Citronellol, Nerol, Geraniol und α -Terpineol in demselben Fleck, während Linalool sich ziemlich gut von diesen trennt. Borneol trennt sich schlecht von Linalool, und Menthol geht mit Linalool fast in demselben Fleck. Die Mentholisomeren trennten sich befriedigend von einander als 3,5-DNB und auch gut von Citronellyl-, Geranyl-, Neryl-, Linalyl- und α -Terpinyl-3,5-DNB. Der Fleck des Bornyl-3,5-DNB lag zwischen den Flecken dieser Gruppen (Fig. 1 und 2).

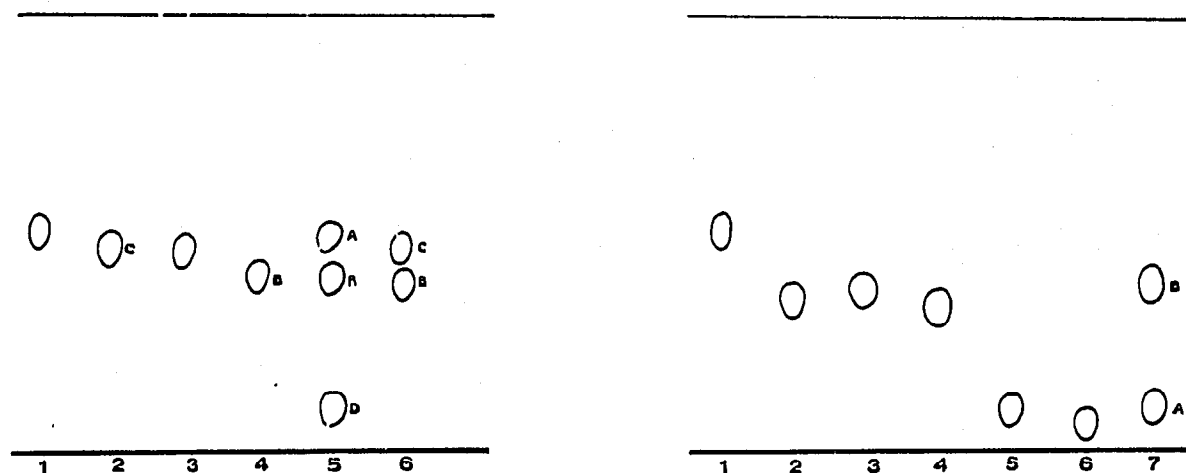


Fig. 1. Dünnschichtchromatogramm (DC) von einigen isolierten 3,5-Dinitrobenzoaten. 1 = Menthyl-3,5-DNB; 2 = Neoisomenthyl-3,5-DNB (C); 3 = *d*-Isomenthyl-3,5-DNB; 4 = Bornyl-3,5-DNB (B); 5 = Neomenthyl-3,5-DNB (A) + Bornyl-3,5-DNB (B) + Linalool (D); 6 = Neoisomenthyl-3,5-DNB (C) + Bornyl-3,5-DNB (B). Laufmittel: Benzol-Petroläther (1 + 1); Sprühreagenz: Antimon(V)chlorid. Laufstrecke 15 cm, zweimal eluiert.

Fig. 2. DC von einigen isolierten 3,5-Dinitrobenzoaten. 1 = Menthyl-3,5-DNB; 2 = Citronellyl-3,5-DNB; 3 = Neryl-3,5-DNB; 4 = Geranyl-3,5-DNB; 5 = Linalool; 6 = α -Terpineol; 7 = Linalool (A) und Citronellyl-3,5-DNB (B). Laufmittel: Benzol-Petroläther (1 + 1); Sprühreagenz: Antimon(V)chlorid. Laufstrecke 15 cm, zweimal eluiert.

Bei Benutzung von Antimon(V)chlorid als Sprühmittel traten die Flecke der 3,5-DNB der primären und tertiären Alkohole schon beim Sprühen hervor, während die der sekundären Alkohole erst nach Trocknung der Platten hervortraten. Weder Phenyläthylalkohol noch Amylalkohol noch deren 3,5-DNB lassen sich mit Antimon(V)chlorid kenntlich machen.

Primäre und sekundäre Alkohole lassen sich durch ihre unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeit mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid von den tertiären Alkoholen trennen. Aus Gemischen können die primären und sekundären Alkohole durch kurzzeitige Einwirkung von 3,5-Dinitrobenzoylchlorid entfernt werden und nachher, nach längerer Einwirkung, die tertiären Alkohole.

ÄTHERISCHE ÖLE

Folgende ätherische Öle, deren Gehalt an Alkoholen schon früher durch gaschromatographische Analyse ermittelt war wurden untersucht.

1. *Corianderöl*:

Linalool	}	61.5 %
Linalylacetat		
Borneol		1.1 %
Geranylacetat		2.3 %
Nerol		0.9 %
Geraniol		2.1 %

2. *Lavendelöl*:

Amylalkohol, Cineol und Limonen		12.8 %
Linalool		19.2 %
Linalylacetat		29.7 %
Bornylacetat		<2.7 %
Citronellylacetat		<3.7 %
Borneol	}	2.2 %
Terpinylacetat		
Geranylacetat		1.6 %
Geraniol		2.2 %

3. *Pelargoniumöl*:

Linalool	}	10.3 %
Isopulegol		
Citronellylformiat		9.0 %
Geranylformiat		7.3 %
Citral		2.3 %
Citronellol		8.8 %
Geraniol		16.1 %
Citronellylacetat		8.1 %

4. *Süßes Orangenschalenöl*

Linalool	}	5.3 %
Linalylacetat		
Terpinen-4-ol		<0.4 %
α -Terpineol		1.6 %
Nerylacetat	}	2.2 %
Geranylacetat		
Nerol	}	3.2 %
Geraniol		
Citronellol		2.2 %

5. *Orangenblütenöl*:

<i>n</i> -Heptanol		0.44 %
Linalool		37.4 %
Linalylacetat		11.92 %
Terpinen-4-ol		0.17 %
α -Terpineol		1.72 %
Nerylacetat		0.79 %
Geranylacetat		1.52 %
Nerol		0.60 %
Geraniol		1.52 %
Phenyläthylalkohol		6.77 %
Eugenol		0.05 %

6. Rosenöl:

Linalool	2.9 %
Linalylacetat	0.1 %
Citronellylacetat	2.5 %
Citral	0.5 %
Citronellol	29.5 %
Geranylacetat	
Nerol	6.7 %
Geraniol	26.3 %
Phenyläthylalkohol	0.4 %
Eugenol	0.8 %

TABELLE III

R_F-WERTE DER ALKOHOLE UND DEREN 3,5-DINITROBENZOATE AUS ÄTHERISCHEN ÖLEN

	Freier Alkohol		Nach 5 Min	Nach 30 Min	Nach 60 Min	Nach 75 Min	3,5-DNB		
	<i>R_F</i> × 100						<i>R_F</i> × 100		
	Laufmittel*						Laufmittel		
	A	B					A	B	
1. Corianderöl									
Geraniol und Nerol	4	20	—	—	—	—	43	70	
Linalool	9	33	+	+	(+)	—	45	70	
Borneol	11	40	—	—	—	—	45	70	
Linalyl- und Geranylacetat	29	60	+	+	+	+			
2. Lavendelöl									
Geraniol	6	22	—	—	—	—	45		
Linalool	10	33	+	+	(+)	—	45		
Borneol	12	38	—	—	—	—	45		
Linalyl-, Citronellyl-, Geranyl-, α-Terpinyll- und Bornylacetat	30	60	+	+	+	+			
3. Pelargoniumöl									
Geraniol und Citronellol	5		—	—	—	—	45		
Linalool	10		+	+	(+)	—	45		
Citral	17		+	+	+	+			
Geranylacetat	29		+	+	+	+			
Citronellyl und Geranylformiat	32		+	+	+	+			
4. Süßes Orangenschalenöl									
Geraniol, Nerol, Citronellol und α-Terpineol	6		—	—	—	—	42		
Linalool	9		+	+	(+)	—	42		
Linalyl-, Geranyl- und Nerylacetat	30		+	+	+	+			
5. Orangenblütenöl									
Geraniol, Nerol und α-Terpineol	5		—	—	—	—	40		
Linalool	9		+	+	(+)	—	40		
Linalyl-, Geranyl- und Nerylacetat	30		+	+	+	+			
6. Rosenöl									
Geraniol, Nerol und Citronellol	6	22	—	—	—	—	40	69	
Linalool	9	32	+	+	—	—	40	69	
Citral	16	44	+	+	+	+			
Eugenol	16	48	+	—	—	—			
Geranyl-, Citronellyl und Linalylacetat	28	55	+	+	+	+			

* Laufmittel: A = Benzol-Petroläther (1 + 1); B = Benzol-Äthylacetat (90 + 10).

Die Bildung der 3,5-Dinitrobenzoate der tertiären Alkohole in den ätherischen Ölen liess sich dadurch verfolgen, dass die Reaktionszeit allmählich verlängert wurde.

Tabelle III zeigt die R_F -Werte der identifizierten Verbindungen und die Reaktionszeiten, die erforderlich waren, um auch die tertiären Alkohole der Öle quantitativ in ihre 3,5-DNB umzusetzen (vgl. Fig. 3). Es ist ersichtlich, dass Linalool mindestens eine Reaktionszeit von einer Stunde braucht, um vollständig reagiert zu haben. Die Betrachtung der Flecke in den Figs. 3 und 4 zeigt, dass die Linaloolflecke sich vermindern, während die 3,5-DNB sich vergrössern. Linalyl-3,5-DNB lässt sich chromatographisch nicht von den Geranyl-, Citronellyl- und Nerylderivaten trennen. Linalool kann aber wegen der Trägheit der Reaktion mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid in dieser Weise gut neben den primären und sekundären Terpenalkoholen identifiziert werden.

Sowohl in Corianderöl, Lavendelöl und Orangenblütenöl, die erhebliche Mengen von Linalool enthalten, konnte freies Linalool in dieser Weise neben den anderen Alkoholen und neben Linalylacetat deutlich gezeigt werden.

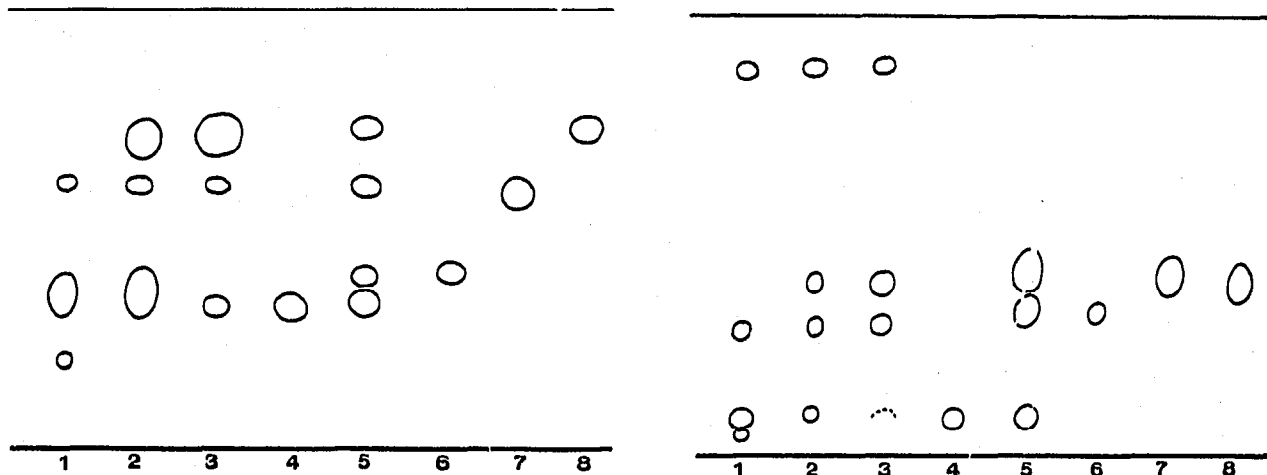


Fig. 3. DC von 1 = Corianderöl; 2 = mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid behandeltes Corianderöl (5 Min); 3 = mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid behandeltes Corianderöl (60 Min); 4 = Linalool; 5 = Linalool, Geraniol, Nerol, Borneol und Linalylacetat; 6 = Borneol; 7 = Linalylacetat; 8 = Linalyl-3,5-DNB. Laufmittel: Benzol-Äthylacetat (90 + 10); Sprühreagenz: Vanillin-Schwefelsäure 3%.

Fig. 4. DC von 1 = Orangenblütenöl; 2 = mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid behandeltes Orangenblütenöl (5 Min); 3 = mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid behandeltes Orangenblütenöl (60 Min); 4 = Linalool; 5 = Linalool, Linalylacetat, Linalyl-3,5-DNB und Geranyl-3,5-DNB; 6 = Linalylacetat; 7 = Linalyl-3,5-DNB; 8 = Geranyl-3,5-DNB. Laufmittel: Benzol-Petroläther (1 + 1); Sprühreagenz: Antimon(V)chlorid.

EXPERIMENTELLES

Herstellung der 3,5-Dinitrobenzoate

Von den Terpenalkoholen wurde eine 10%ige Lösung in Terpentinöl bereitet. 10.0 g davon wurden mit 6 ml Pyridin versetzt und mit einer heissen Lösung von 2 g 3,5-Dinitrobenzoylchlorid in 10 ml frisch destilliertem Benzol vermischt. Nach Kochen unter Rückfluss (die Reaktionszeit wurde verschieden gewählt, von 5 Min für primäre und sekundäre bis sogar 75 Min für tertiäre Alkohole) wurden die Reak-

tionsprodukte in Äther aufgenommen, erst mit 25 ml 10%iger Salzsäure und dann mit 10 ml 10%iger Natriumhydroxydlösung geschüttelt und mit Wasser bis neutrale Reaktion gewaschen. Von dem nach Trocknung und Destillation der ätherischen Phase erhaltenen Rückstand wurde das Terpentinöl unter verminderten Druck abdestilliert und der Rest wurde durch mehrfache Umkristallisation aus Petroläther gereinigt (vgl. Tabelle I).

Aus den ätherischen Ölen wurden die 3,5-DNB-Verbindungen in ähnlicher Weise abgetrennt. Im allgemeinen wurde 1 g 3,5-Dinitrobenzoylchlorid pro 2 g Öl verwendet und die Ätherextrakte wurden auf 3 ml eingengt.

Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtplatten wurden in üblicher Weise mit Kieselgel G "Merck" bedeckt und im Trockenschrank 30 Min bei 110° aktiviert. Die 3,5-DNB und die freien Alkohole wurden in Äther gelöst (10%ige Lösung) und davon 1 μ l auf die Platte appliziert. Laufzeit 35–40 Min. Laufstrecke 15 cm. Sprühmittel: 10% Antimon(V)-chlorid in Chloroform.

ZUSAMMENFASSUNG

In vorliegender Arbeit werden die Möglichkeiten zur Abtrennung von Terpenalkoholen aus ätherischen Ölen und Terpentinölgemischen mit Hilfe der 3,5-Dinitrobenzoyl-ester studiert. Unter Zuhilfenahme der Dünnschichtchromatographie wurden folgende Ergebnisse erzielt.

(1) Die Dinitrobenzoyl-ester folgender Terpenalkohole liessen sich aus Terpentinöllösungen in kristallinischer Form isolieren: (Reagenz in 25%igem Überschuss) Citronellol, Geraniol, Nerol, Borneol, Menthol, *d*-Isomenthol, *d*-Neomenthol, *d*-Neoisomenthol, α -Terpineol und Linalool.

(2) Primäre und sekundäre Alkohole lassen sich durch ihre Reaktionsgeschwindigkeit von den tertiären Alkoholen trennen. In dieser Weise konnten α -Terpineol und Linalool auf Dünnschichten nach Entfernung der anderen Terpenalkohole mittels 3,5-Dinitrobenzoylchlorid getrennt werden, sowohl aus Terpentinöllösungen als aus Corianderöl, Lavendelöl, Pelargoniumöl, Süßes Orangenschalenöl, Orangenblütenöl und Rosenöl. Die tertiären Alkohole benötigen wenigstens einstündige Reaktionszeit zur vollständigen Reaktion, während die Reaktion bei primären und sekundären Terpenalkoholen schon nach fünf Minuten beendet ist.

(3) Die sekundären Alkohole, das Borneol und die Menthole treten beim Sprühen mit Antimon(V)chlorid erst nach Trocknung der Platten bei 120° hervor und sind dadurch von den primären und tertiären Alkoholen zu unterscheiden.

(4) Neryl-3,5-dinitrobenzoat, senfgelbe Kristalle, Schmelzpunkt 31–32°.

(5) Menthol-3,5-dinitrobenzoat lässt sich von Isomenthyl-3,5-dinitrobenzoat trennen, Neomenthyl-3,5-dinitrobenzoat entsprechend von Neoisomenthyl-3,5-dinitrobenzoat.

LITERATUR

- 1 T. REICHSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 9 (1926) 799.
- 2 E. GILDEMEISTER UND FR. HOFFMANN, *Die ätherischen Öle IIIa und IIIb*, Akademie-Verlag, Berlin, 1960.
- 3 E. GUENTHER, *The Essential Oils*, D. van Nostrand, New York, 1949.

- 4 J. READ UND W. J. GRUBB, *J. Chem. Soc.*, (1934) 315.
- 5 J. READ UND W. J. GRUBB, *J. Chem. Soc.*, (1933) 167.
- 6 J. READ, W. J. GRUBB UND D. MALCOLM, *J. Chem. Soc.*, (1933) 170.
- 7 R. T. WILLIAMS, *Biochem. J.*, 34 (1940) 690.
- 8 W. HÜCKEL UND H. NIGGERMEYER, *Chem. Ber.*, 72 (1939) 1354.
- 9 R. T. WILLIAMS, *Biochem. J.*, 33 (1939) 1519.
- 10 D. P. JOHNSON UND F. E. CRITCHFIELD, *Anal. Chem.*, 32 (1960) 865.
- 11 W. T. ROBINSON, JR., R. H. CUNDIFF UND P. C. MARKUNAS, *Anal. Chem.*, 33 (1961) 1030.
- 12 J. W. WHITE, JR., UND E. C. DRYDEN, *Anal. Chem.*, 20 (1948) 853.
- 13 E. E. CLAVET UND A. L. MONTES, *Anales Assoc. Quim. Arg.*, 41 (1953) 99; *Chem. Zentr.*, (1955) 10642.
- 14 A. D. HOLLEY UND R. W. HOLLEY, *Anal. Chem.*, 24 (1955) 216.
- 15 R. C. RICE, G. J. KELLER UND G. J. KIRCHNER, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 194.
- 16 D. F. MEIGH, *Nature*, 169 (1952) 706.
- 17 E. SUNDT UND M. WINTER, *Anal. Chem.*, 29 (1957) 851.
- 18 M. J. MILLER UND J. G. KIRCHNER, *Anal. Chem.*, 25 (1953) 1107.
- 19 J. H. DHONT UND C. DE ROOY, *Analyst*, 86 (1961) 527.
- 20 A. MEHLITZ, K. GIERSCHNER UND TH. MINAS, *Chemiker Ztg.*, 89 (1965) 175.
- 21 E. GRAF UND W. HOPPE, *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 102 (1962) 393.
- 22 D. BRAUN, *Chimia Aarau*, 19 (1965) 82.
- 23 T. OKINAGA, *Hiroshima Nogyoo Tanki Daigaku Kenkuy Hokoku* 2(4) (1965) 237; *C.A.*, 65 (1966) 4240.
- 24 W. HÜCKEL, W. DOLL, S. ESKOLA UND H. WEIDNER, *Ann.*, 549 (1941) 186.

J. Chromatog., 38 (1968) 364-372