

CHROM. 4730

## NACHWEIS VON FREIEN IONEN IN MARKIERTEN ÖLEN

M. MICHAÏLOV\* UND H. SORANTIN

*Institut für Chemie, Reaktorzentrum Seibersdorf, Österreichische Studiengesellschaft für Atomenergie G.m.b.H., Lenaugasse 10, A-1082 Wien (Österreich)*

(Eingegangen am 18. März 1970)

## SUMMARY

*Detection of free ions in labelled oils*

For the detection of free radionuclide ions in labelled mineral and vegetable oils and some of their components thin-layer chromatography, paper chromatography and paper electrophoresis were used. According to the results obtained thin-layer chromatography was particularly suitable for the examination of  $^{51}\text{Cr}$ -,  $^{59}\text{Fe}$ - and  $^{65}\text{Zn}$ -labelled oils, whereas for  $^{82}\text{Br}$ -labelled compounds paper electrophoresis was the method of choice.

## EINFÜHRUNG

In vorangegangenen Arbeiten wurde die Herstellung von öllöslichen  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{54}\text{Mn}$ ,  $^{59}\text{Fe}$ ,  $^{65}\text{Zn}$ ,  $^{82}\text{Br}$  und  $^{131}\text{J}$  beschrieben<sup>1-5</sup>, die eine Reihe von Anwendungen wie Ermittlung von Strömungsgeschwindigkeiten, Bestimmung von Mischzeiten etc. in nichtwässrigen Systemen ermöglichen. Die markierten Öle dürfen die genannten Radionuklide jedoch nur in organisch gebundener Form und nicht als Ionen enthalten, denn beispielsweise würde freies Radiobrom oder -jod an Metalloberflächen adsorbiert werden und fehlerhafte Resultate verursachen.

In der vorliegenden Arbeit wurde daher versucht möglichst einfache Nachweisverfahren für Radionuklide in Ionenform in markierten organischen Verbindungen aufzufinden. Als Methoden wurden Dünnschichtchromatographie, Papierchromatographie und Elektrophorese in die engere Wahl gezogen, da sie bereits für ähnliche Problemstellungen verwendet worden waren<sup>1-8</sup>.

## EXPERIMENTELLES

*Materialien und Geräte*

Es wurden die folgenden Materialien verwendet:  $^{51}\text{Cr}$  in 0.1 N HCl, 35  $\mu\text{Ci/ml}$ , Träger 1 mg Cr/ml;  $^{54}\text{Mn}$  in 0.1 N HCl, 10  $\mu\text{Ci/ml}$ , Träger 10  $\mu\text{g}$  Mn/ml;  $^{59}\text{Fe}$  in 0.1 N HCl, 1  $\mu\text{Ci/ml}$ , Träger 1 mg Fe/ml;  $^{65}\text{Zn}$  in 0.1 N HCl, 3  $\mu\text{Ci/ml}$ , Träger 2 mg Zn/ml;

\* Reaktorzentrum Sofia, Bulgarien.

$^{82}\text{Br}$  als 0.1 N  $\text{NH}_4\text{Br}$ -Lösung, 100  $\mu\text{Ci/ml}$ . Markierte Mineral- und Pflanzenöle, Öl- und Naphthensäure. Kaliumferrocyanid, 2%ige wässrige Lösung; 0.1% Auritricarbonsäure in 1%iger wässriger Ammoniumacetatlösung; 1% Diphenylcarbacid-lösung in Äthanol; Veronalpufferlösung pH 8.6. Petroläther, Diäthyläther, Tetrachlorkohlenstoff, Benzol, Essigsäureäthylester und Äthanol. HCl, NaOH,  $\text{NH}_3$  usw. Kieselgel zur Analyse (Merck, Darmstadt).

Die nachstehenden Geräte wurden angewandt: Glasplatten (20 × 20 cm); Papierstreifen (2 × 20 cm) Whatman Nr. 3MM, Schleicher & Schüll 2043b; Elektrophoreseapparatur; 3 × 3 in. NaJ(Tl) Kristall "Harshaw" mit "Intertechnique"; 400 Kanal Impulshöhenanalysator mit Schreiber und Drucker; Dünnschicht-Scanner "Berthold" LB 2721 mit Servogor-Kompensationsschreiber Type RE 511.

### Dünnschichtchromatographische Untersuchungen

Nach Literaturangaben sind für die Trennung von Mono-, Di- und Triglyceriden Mischungen von Petroläther mit 10–15% Diäthyläther geeignet<sup>1–4</sup>. Dieselbe Laufmittelmischung kann auch zur Trennung von organischen Substanzen, die freie Fettsäuren enthalten, verwendet werden. Allerdings ist ein Zusatz von 1–2% Eisessig zu empfehlen um Streifen und Schwanzbildungen durch die Fettsäuren zu verhindern<sup>1,2,5,6</sup>. Pflanzenöle, die Epoxy- und Hydroxyverbindungen enthalten sind polarer als die meisten tierischen Fette und lassen sich ebenfalls mit Gemischen von Petroläther auftrennen<sup>7</sup>. Die zuletzt genannten Fließmittel schienen daher sehr allgemein verwendbar und für unsere Zwecke geeignet.

Zur Ausführung wurden Glasplatten mit Kieselgel (Merck) als Adsorbens beschichtet und 24 Std. stehen lassen. Vor den Versuchen wurden die Platten 1 Std. bei

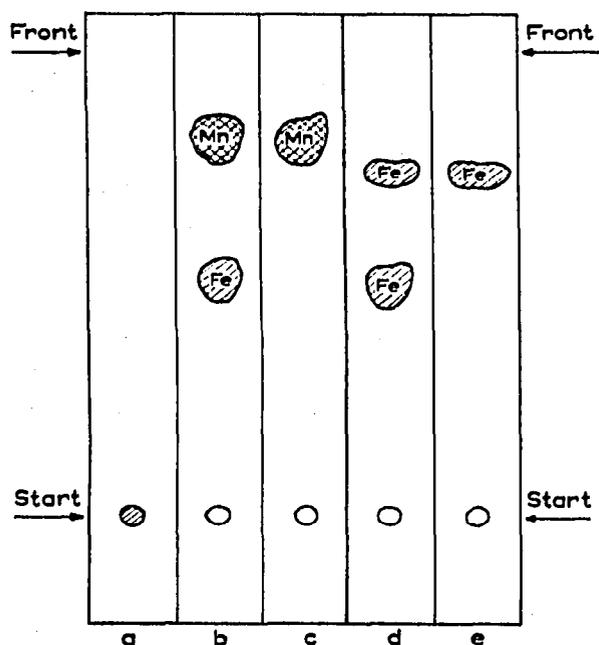


Fig. 1. Nachweis von freien Ionen in  $^{54}\text{Mn}$ - und  $^{59}\text{Fe}$ -markierter Naphthensäure und Spindelöl. a = Wässrige  $^{54}\text{Mn}$ - und  $^{59}\text{Fe}$ -Lösung; b =  $^{54}\text{Mn}$ - und  $^{59}\text{Fe}$ -Naphthensäure,  $R_F$ -Werte 0.92 und 0.75; c =  $^{59}\text{Fe}$ -Naphthensäure,  $R_F$ -Wert 0.75; d =  $^{54}\text{Mn}$ -Naphthensäure,  $R_F$ -Wert 0.92; e =  $^{59}\text{Fe}$ -Spindelöl,  $R_F$ -Wert 0.83.

100° getrocknet. Die fertigen Gelschichten wiesen eine Dicke von 1 mm auf. Nach Einritzen in 2 cm breite Streifen wurden auf jedem, verschiedene Proben in Mengen von 1–2  $\mu$ l auf die am unteren Ende befindliche Startlinie aufgetropft. Die beladenen Gele wurden anschliessend in eine Mischung von Petroläther–Diäthyläther–Eisessig (80:20:1) gestellt und das Fließmittel in einem geschlossenen Gefäss 1 Std. lang einwirken lassen. Nach Beendigung des Versuches und Verdunsten des Lösungsmittels, wurden die Eisenverbindungen mit einer frisch zubereiteten 2%igen wässrigen Kaliumferrocyanid Lösung sichtbar gemacht. Mangan konnte dagegen durch Besprühen der Platten mit einer 1%igen Lösung von Diphenylcarbacid in Äthanol lokalisiert werden.

Fig. 1 zeigt die bei der Auftrennung von markierten Naphthenaten bzw. markierten Spindelöl erhaltenen Ergebnisse. Als sehr wesentlicher Befund ergab sich, dass die für die Markierung verwendeten ionenhaltigen Radionuklidlösungen unter den angegebenen Bedingungen am Startfleck verblieben. Lagen die Radionuklide jedoch in organischer Bindung vor, wanderten sie mit dem Lösungsmittelgemisch und es zeigten sich in den erhaltenen  $R_F$ -Werten deutliche Unterschiede für  $^{59}\text{Fe}$  und  $^{54}\text{Mn}$ .

Unter den gleichen Bedingungen wurde auch mit  $^{59}\text{Fe}$  und  $^{54}\text{Mn}$  markierter Ölsäure, Rüböl und Triolein chromatographiert und entwickelt. Wie Fig. 2 beweist ergaben sich auch hier dieselben Laufdifferenzen.  $\text{Fe}^{3+}$  und  $\text{Mn}^{2+}$  Ionen wanderten

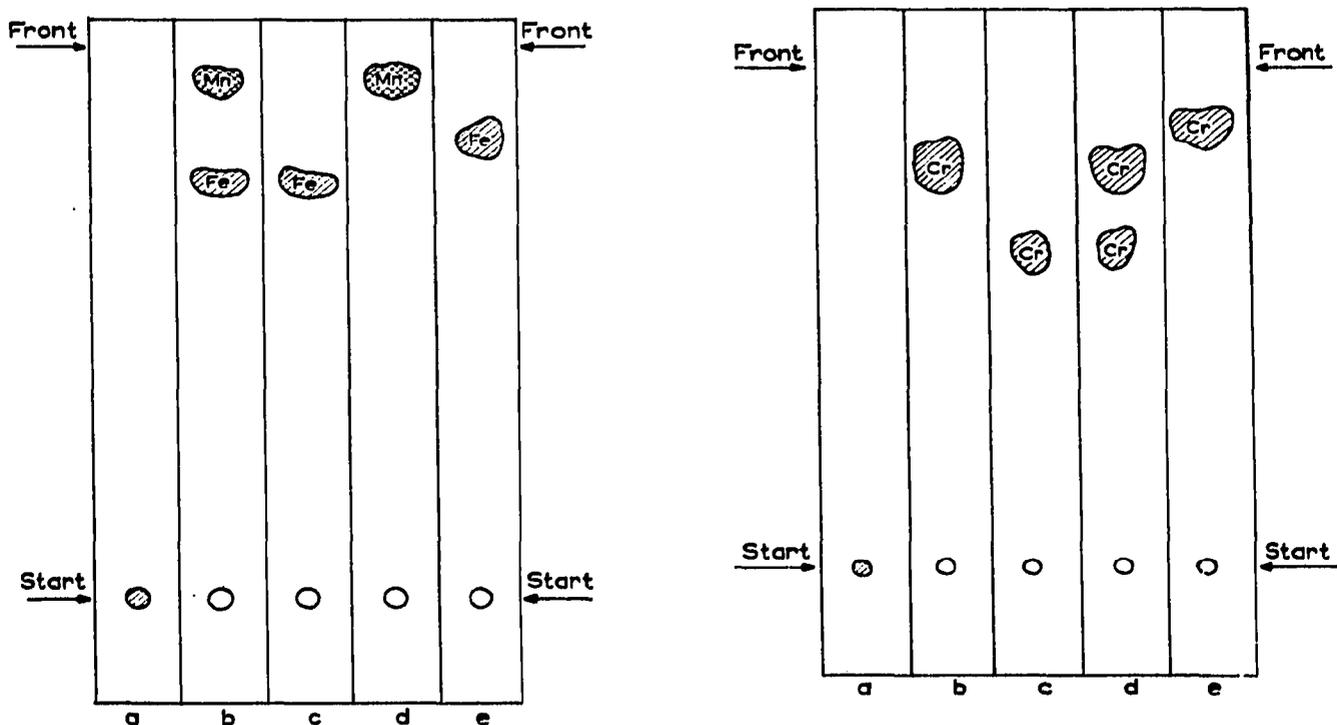


Fig. 2. Nachweis von freien Ionen in  $^{54}\text{Mn}$ - und  $^{59}\text{Fe}$ -markierter Ölsäure, Rüböl und Triolein. a = Wässrige  $^{54}\text{Mn}$ - und  $^{59}\text{Fe}$ -Lösung; b =  $^{54}\text{Mn}$ - und  $^{59}\text{Fe}$ -Ölsäure,  $R_F$ -Werte 0.81 und 0.42; c =  $^{54}\text{Mn}$ -Ölsäure,  $R_F$ -Wert 0.80; d =  $^{59}\text{Fe}$ -Rüböl,  $R_F$ -Werte 0.74 und 0.46; e =  $^{54}\text{Mn}$ - und  $^{59}\text{Fe}$ -Triolein,  $R_F$ -Werte 0.91 und 0.74.

Fig. 3. Nachweis von freien Ionen in  $^{51}\text{Cr}$ -markiertem Triolein, Ölsäure, Rüböl und Naphthensäure. a = Wässrige  $^{51}\text{Cr}$ -Lösung; b =  $^{51}\text{Cr}$ -Triolein,  $R_F$ -Wert 0.80; c =  $^{51}\text{Cr}$ -Ölsäure,  $R_F$ -Wert 0.63; d =  $^{51}\text{Cr}$ -Rüböl,  $R_F$ -Werte 0.80 und 0.63; e =  $^{51}\text{Cr}$ -Naphthensäure,  $R_F$ -Wert 0.88.

TABELLE I

## TRENNUNG VON MARKIERTEN ÖLEN BZW. ÖLKOMPONENTEN DURCH PAPIERCHROMATOGRAPHIE

Papiersorte: Whatman Nr. 3MM. Laufzeit: 50 min. Fließmittel: (I) Petroläther-Diäthyläther-Eisessigsäure (80:20:1); (II) Petroläther-Diäthyläther-Eisessigsäure (70:30:2); (III) Chloroform-Benzol (2:1); (IV) Diäthyläther-Petroläther-Eisessigsäureäthylester (1:1:1); (V) Benzol-Äthanol abs. (9:1); (VI) Tetrachlorkohlenstoff-Benzol-Äthanol abs. (16:8:1).

Markierte Substanz	R <sub>F</sub> -Werte											
	I		II		III		IV		V		VI	
	<sup>59</sup> Fe	<sup>51</sup> Cr	<sup>65</sup> Zn	<sup>59</sup> Fe	<sup>51</sup> Cr	<sup>65</sup> Zn	<sup>59</sup> Fe	<sup>51</sup> Cr	<sup>65</sup> Zn	<sup>59</sup> Fe	<sup>51</sup> Cr	<sup>65</sup> Zn
Naphthensäure	—	0.82	—	—	0.86	—	0.89	0.96	0.93	0.89	0.91	0.92
Ölsäure	—	0.78	—	—	0.87	—	0.85	0.88	0.83	0.93	0.92	0.89
Rüböl	—	0.58	—	—	0.73	—	—	0.64	—	—	0.82	—
Triolein	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
											0.81	0.88
											0.83	0.90
											0.81	—
											0.81	—

nicht, dagegen wurden für organisch gebundenes  $^{59}\text{Fe}$  und  $^{54}\text{Mn}$  deutliche Differenzen in den Wanderungstrecken erhalten.

Dasselbe Laufmittel wurde auch zur Untersuchung von  $^{51}\text{Cr}$ -markierten Triolein, Ölsäure, Rüböl und Naphthensäure benützt. Gleichzeitig wurde auch die für die Markierung verwendete Chrom(III)chlorid-Lösung mit in die Versuchsreihe aufgenommen. Es wurde ebenfalls eine Wanderung des organisch gebundenen  $^{51}\text{Cr}$  beobachtet, nachdem Chrom durch Besprühen mit 0.1% von Auritricarbonsäurelösung und nach Entwicklung mit einer 25%igen Ammoniaklösung sichtbar gemacht worden war (Fig. 3). Wie im Falle von  $^{59}\text{Fe}$ -markierten Rüböl (Fig. 2) konnten auch hier zwei Flecke von  $^{51}\text{Cr}$  festgestellt werden. Diese Tatsache deutet auf die gleichzeitige Markierung von zwei in Rüböl vorhandene Substanzen hin. Gegenüber den mit  $^{59}\text{Fe}$  und  $^{54}\text{Mn}$  markierten Ölen, wanderten solche die  $^{51}\text{Cr}$  enthielten langsamer, und gute Trennungen wurden erst nach 80 Min. Laufzeit erhalten.

#### Papierchromatographische Untersuchungen

Da Öle und Ölsäure bereits durch papierchromatographische Verfahren<sup>8-11</sup> analysiert wurden, haben wir auch diese Methode geprüft. Die Auffindung eines geeigneten Laufmittels war jedoch schwierig, da sich nur wenige Arbeiten mit einer ähnlichen Problemstellung beschäftigt hatten und daher wenig Hinweise vorhanden waren. So verwendeten RUSSIN *et al.*<sup>12</sup> eine Mischung von Butanol-Dioxan-Ammoniak, 2 N (4:1:1.5) zum Nachweis von freien  $^{131}\text{J}$  in jodierten Ölen, während ANGHILERI<sup>13</sup> für qualitative Bestimmung von  $\text{Na}^{131}\text{J}$  in markierter Ölsäure und Triolein, mit Kupferhydroxyd imprägniertes Whatman-Papier empfehlen. Das Jodid verblieb auf der Startstelle zurück während deutliche Unterschiede zwischen den schnell laufenden

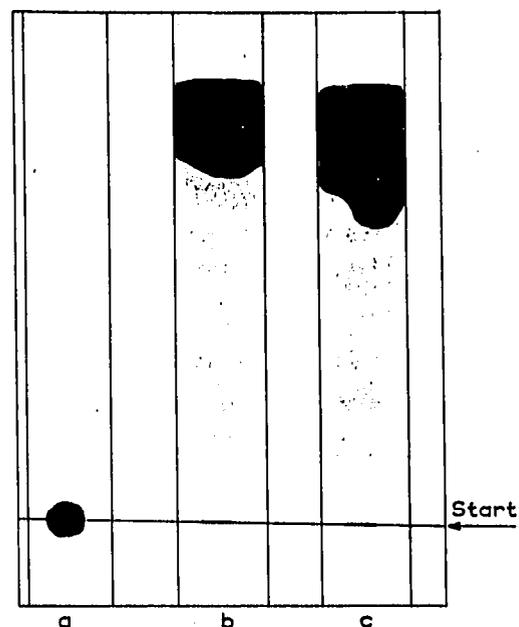
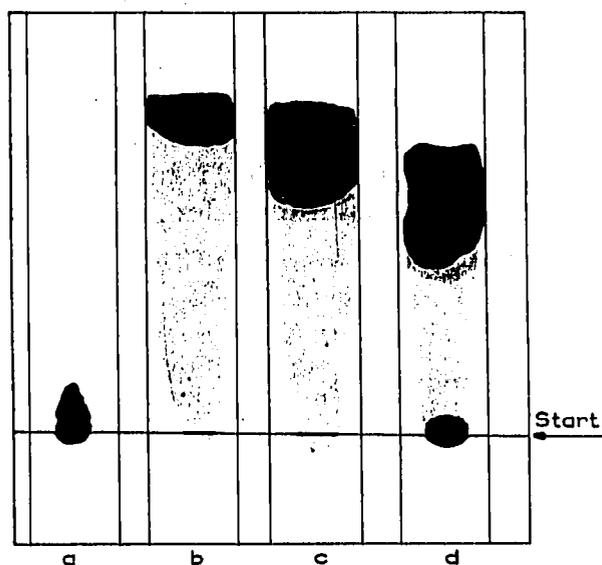


Fig. 4. Nachweis von freien Ionen in  $^{59}\text{Fe}$ -markierter Naphthensäure, Ölsäure und Rüböl. a = Wässrige  $^{59}\text{Fe}$ -Lösung; b =  $^{59}\text{Fe}$ -Naphthensäure; c =  $^{59}\text{Fe}$ -Ölsäure; d =  $^{59}\text{Fe}$ -Rüböl.

Fig. 5. Nachweis von freien Ionen in  $^{66}\text{Zn}$ -markierter Naphthensäure und Ölsäure. a = Wässrige  $^{66}\text{Zn}$ -Lösung; b =  $^{66}\text{Zn}$ -Naphthensäure; c =  $^{66}\text{Zn}$ -Ölsäure.

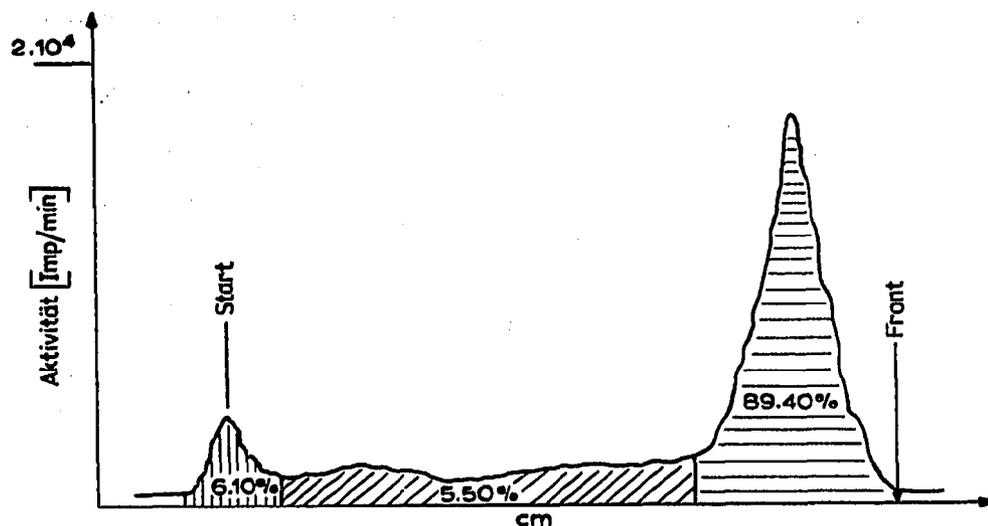


Fig. 6. Scanning diagramm einer mit  $^{66}\text{Zn}$  markierten Naphthensäure.

Triolein und der langsam wandernden Ölsäure zu beobachten waren. Wir verwendeten dagegen das sich schon bei der Dünnschichtchromatographie bewährte Gemisch von Petroläther, Diäthyläther und Eisessigsäure. Die Papierstreifen wurden nach Aufbringung von  $^{51}\text{Cr}$ -,  $^{59}\text{Fe}$ - bzw.  $^{66}\text{Zn}$ -markierten Ölen aufsteigend 50 Min. lang chromatographiert.

Als weitere Lösungsmittelgemische wurden noch Chloroform-Benzol (2:1), Benzol-Äthanol (9:1), Diäthyläther-Petroläther-Essigsäureäthylester (1:1:1), sowie Tetrachlorkohlenstoff-Benzol-Äthanol (16:8:1) verwendet. Die Ergebnisse sind in Tabelle I zusammengefasst. Bei allen Mischungen traten deutliche Schleierbildungen auf (Fig. 4 und 5).

Zur quantitativen Erfassung der Verteilung wurden die Streifen daher millimeterweise abgetastet. Ein Scanning-Diagramm ist in Fig. 6 zu sehen und zeigt, dass sich am Start 6.1%, im Mittelteil 5.5% und im eigentlichen Peak 89.4% der Aktivität befanden. Die Ergebnisse weiterer Versuche sind ebenfalls in Tabelle II zusammengestellt. Es wird noch versucht die Zusammensetzung und Bindung der am Start und im Mittelfeld verbliebenen Aktivität aufzuklären.

TABELLE II

AKTIVITÄTSVERTEILUNG IN DEN PAPIERSTREIFEN NACH CHROMATOGRAPHIE

Markierte Substanz	Aktivität (%) am		
	Start	Zwischenteil	Front
$^{66}\text{Zn}$ -Naphthensäure	6.10	5.50	89.40
$^{59}\text{Fe}$ -Naphthensäure	1.87	5.12	93.01
$^{51}\text{Cr}$ -Naphthensäure	3.45	8.20	82.10
$^{66}\text{Zn}$ -Ölsäure	3.05	4.10	92.85
$^{59}\text{Fe}$ -Ölsäure	5.50	10.30	84.20
$^{51}\text{Cr}$ -Ölsäure	1.20	4.65	94.15
$^{59}\text{Fe}$ -Rüböl	9.40	8.50	82.10

*Elektrophoretische Untersuchungen*

Wie bereits Versuche mit jodierter Ölsäure oder Ölen gezeigt hatten<sup>11,12,14</sup> ist es mit Hilfe der Papierelektrophorese möglich den umgekehrten Effekt zu erzielen, d.h. die freien Ionen wandern zu lassen, während organisch gebundene Radionuklide am Startpunkt verbleiben. Wegen der bestehenden Analogie zu <sup>131</sup>J-hältigen Ölen haben wir daher die von uns mit <sup>82</sup>Br-markierten Öle ebenfalls mit dieser Methode untersucht.

Es wurden 2 cm breite und 30 cm lange Whatmann Nr. 3MM Papierstreifen verwendet. Die Aufbringung der Proben erfolgte aber hier im Gegensatz zu der Papierchromatographie nicht am Ende sondern in der Mitte. Nach dem Anfeuchten der Streifen mit Veronalpufferlösung wurde eine Spannung von 180 V angelegt. Die Stromstärke betrug durchschnittlich 1.6 mA und die Versuchsdauer 90 Min.

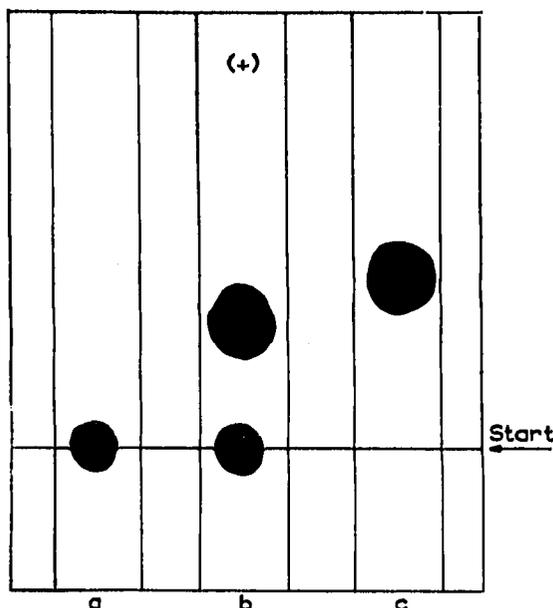


Fig. 7. Nachweis von freien Ionen in <sup>82</sup>Br-markiertem Olivenöl. a = <sup>82</sup>Br-Olivenöl allein; b = NH<sub>4</sub><sup>82</sup>Br-Lösung und <sup>82</sup>Br-Olivenöl; c = NH<sub>4</sub><sup>82</sup>Br-Lösung.

Nach Trocknen der Papierstreifen wurde von jedem eine Autoradiographie angefertigt. Fig. 7 zeigt das Ergebnis einer derartigen Untersuchung von <sup>82</sup>Br-markiertem Olivenöl. Auf die Startlinie des Streifens "a" wurde nur reines markiertes Olivenöl, auf Streifen "c" NH<sub>4</sub><sup>82</sup>Br-Lösung und auf Streifen "b" ein Gemisch der beiden aufgebracht. Das Autoradiogramm lässt daher den Schluss zu, dass das markierte Olivenöl keine freien <sup>82</sup>Br-Ionen enthielt.

## DISKUSSION

Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie unter Verwendung einer Mischung von Petroläther, Diäthyläther und Eisessig konnten freie Ionen deutlich von <sup>51</sup>Cr-, <sup>54</sup>Mn-, <sup>59</sup>Fe-, bzw. <sup>65</sup>Zn-markierten Pflanzen- oder Mineralölen unterschieden werden, da die wässrigen Radionuklidlösungen in diesem Milieu nicht wanderten.

Die Dünnschichtchromatographie erlaubte in einigen Fällen noch weitere Aus-

sagen. So deutete die Auffindung von zwei  $^{59}\text{Fe}$ -Flecken mit verschiedenen  $R_F$ -Werten bei Rüböl darauf hin, dass zwei verschiedene Verbindungen mit  $^{59}\text{Fe}$  markiert wurden. Ein Vergleich der Autoradiographien der Platten von markiertem Rüböl und Triolein ergab auf Grund der Übereinstimmung der Wanderungswege, dass das im Rüböl vorhandene Triolein ebenfalls mit  $^{59}\text{Fe}$  markiert wurde. Genau dieselbe Übereinstimmung konnte auch bei  $^{51}\text{Cr}$ -markiertem Rüböl bzw. Ölsäure und Triolein gefunden werden.

Bei Doppelmarkierungen können die einzelnen Radionuklide ebenfalls durch Dünnschichtchromatographie aufgetrennt werden. So wurden beispielsweise bei  $^{54}\text{Mn}$ - und  $^{59}\text{Fe}$ -haltiger Öl- oder Naphthensäure für beide Radionuklidverbindungen verschiedene  $R_F$ -Werte erhalten.

Obwohl die Dünnschichtchromatographie sehr gute Ergebnisse zeigte, wurde versucht die teuren Gelplatten durch die wesentlich billigeren Papierstreifen zu ersetzen. Bei Verwendung der gleichen Laufmittelmischung trat jedoch starke Schleier- und Schwanzbildung auf (Fig. 4 und 5). Diese konnte auch nicht durch die Wahl anderer Lösungsmittel (Tabelle II) unterdrückt werden. Die Autoradiographien der Papierchromatogramme zeigten jedoch einwandfrei, dass die markierten Verbindungen mit der Lösungsmittelfront wanderten.

Mit  $^{82}\text{Br}$ -markierten Mineral- und Pflanzenölen wurden auf Grund der von uns bei  $^{131}\text{J}$ -markierten Ölen gemachten guten Erfahrungen mit Hilfe der Papierelektrophorese auf freie Radionuklid-Ionen untersucht. Die Autoradiographien—als Beispiel sei Fig. 7 genannt—bewiesen, dass organisch gebundenes  $^{82}\text{Br}$  am Startfleck verblieb, während freie Ionen im elektrischen Feld längere Strecken wanderten und so deutlich identifiziert werden konnten.

#### DANK

Der eine von uns (M.M.) dankt der International Atomic Energy Agency für die Gewährung eines Forschungsstipendiums und der Österreichischen Studiengesellschaft für Atomenergie für die Benützung ihrer Einrichtungen im Reaktorzentrum Seibersdorf.

Herrn Dipl. Ing. Dr. H. BILDSTEIN, dem Leiter des Chemie Institutes, gilt unser Dank für zahlreiche anregende Diskussionen.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Zum Nachweis von freien Radionukliden in markierten Mineral- und Pflanzenölen sowie einigen ihrer Komponenten wurde Dünnschichtchromatographie, Papierchromatographie und Papierelektrophorese herangezogen. Nach den bisher vorliegenden Ergebnissen war für die mit  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{59}\text{Fe}$ ,  $^{54}\text{Mn}$  und  $^{65}\text{Zn}$  markierten Öle die Dünnschichtchromatographie als Untersuchungsmethode besonders geeignet, während mit  $^{82}\text{Br}$  markierte, organische Verbindungen mit Vorteil durch Papierelektrophorese analysiert werden konnten.

#### LITERATUR

- 1 H. K. MANGOLD UND D. C. MALINS, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 37 (1960) 383.
- 2 L. J. MORRIS, R. T. HOLMAN UND K. FONTELL, *J. Lipid Res.*, 2 (1961) 68.

- 3 O. S. PRIVETT UND M. L. BLANK, *J. Lipid Res.*, 2 (1961) 37.
- 4 O. S. PRIVETT, M. L. BLANK UND W. O. LUNDBERG, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 38 (1961) 312.
- 5 D. C. MALINS UND H. K. MANGOLD, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 37 (1960) 576.
- 6 J. A. WILLIAMS, A. SHARMA, L. J. MORRIS UND R. T. HOLMAN, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 105 (1960) 192.
- 7 E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1962.
- 8 E. VAN HANDL UND D. B. ZILVERSCMIT, *J. Lab. Clin. Med.*, 52 (1958) 831.
- 9 M. P. TJOR UND J. E. RUFFIN, *Proc. Soc. Exptl. Med.*, 99 (1958) 61.
- 10 A. Z. BUDZYUSKI, Z. J. ZUBRZYCKI UND I. G. CAMPPELL, *Nucleonika*, 3 (1958) 133.
- 11 J. A. BERGER, G. MEYNIEL, H. RENAULT, P. BLANQUET UND R. COUDERT, *Bull. Soc. Chim. France*, (1961) 955.
- 12 K. RUSSIN, A. SZUCHNIK, A. KOLACZKOWSKI UND K. WITKOWSKA, *Poln. Akad. Wiss., Inst. Kernforsch.*, Bericht Nr. 390/XIII (Dec. 1962).
- 13 L. J. ANGHILERI, *Intern. J. Appl. Radiat. Isotopes*, 15 (1964) 95.
- 14 H. SORANTIN, *Proceedings of the Second International Conference on Methods of preparing and storing labelled compounds*, Brussels, Nov. 28–Dec. 3, 1966.

*J. Chromatog.*, 50 (1970) 103–111