

CHROM. 6271

Spezifischer, Fluoreszenznachweis der Citronensäure und der Aconitsäuren nebeneinander

Citronensäure, *cis*- und *trans*-Aconitsäure kondensieren unter gegebenen Bedingungen zu im filtrierten, ultravioletten Licht grünlich oder blau fluoreszierenden Verbindungen¹⁻³. Eine ähnliche Reaktion der Citronensäure in einem Pyridin-Essigsäureanhydrid-Gemisch wurde von FURTH UND HERRMANN⁴ beschrieben und von MARIER UND BOULET⁵ zur colorimetrischen Bestimmung herangezogen. Diese Mischung eignet sich nach BUCH *et al.*⁶ auch als Sprühreagenz zum Nachweis der Citronensäure. Hierbei können allerdings die Aconitsäuren nicht von der Citronensäure besonders in kleinen Konzentrationen unterschieden werden, da sich die Flecken der Citronensäure gleichzeitig mit denen der Aconitsäuren bereits bei Zimmertemperatur entwickeln.

Früher⁷ wurde gezeigt, dass die Aconitsäuren in Gegenwart von Essigsäureanhydrid in Lösungen gelbgrüne und blaue Fluoreszenzen erzeugen, deren Bildung durch kleine Mengen Alkali begünstigt wird. Citronensäure bildet in solchen Ansätzen ebenfalls ähnliche Fluoreszenzen, wogegen in Ansätzen ohne Alkali die Fluoreszenzbildung ausbleibt. In beiden Fällen, in Ansätzen mit Aconitsäuren und solchen mit Citronensäure jeweils mit Alkalizusatz laufen in Lösungen die Reaktionen schon bei Zimmertemperatur ab.

Nach unseren Versuchen eignen sich zum Nachweis der Citronensäure und der Aconitsäuren auf Chromatogrammen, besonders auf Papierchromatogrammen und im Tüpfeltest auf Papier als Sprühreagenz eine Mischung von Essigsäureanhydrid und Essigsäure, die eine kleine Menge Alkali enthält. Nach dem Besprühen entwickeln sich binnen weniger Minuten bereits bei Zimmertemperatur die unter einer Analysenquarzlampe intensiv grüngelb fluoreszierenden Flecken der Aconitsäuren, wobei die *trans*-Aconitsäure schneller reagiert als die *cis*-Aconitsäure. Zum Unterschied dazu entwickelt die Citronensäure bei Zimmertemperatur noch keine Fluoreszenz auf dem Chromatogramm oder Papier. Diese erscheint erst nach dem Erhitzen auf 80° bis 100° während 5 bis 10 min als intensiv hellblauer Fluoreszenzleck. Alle erwähnten Fluoreszenzen werden durch langwelliges ultraviolettes Licht (366 nm) wesentlich stärker angeregt als durch kurzwelliges (255 nm). Weinsäuren, Äpfelsäure, α -Ketoglutarinsäure, *meso*-Weinsäure, Bernsteinsäure, Isocitronensäure und Agaricinsäure entwickeln bei der beschriebenen Handhabung keine oder praktisch keine Fluoreszenzen. Auf Chromatogrammen können so noch 5 μ g bis 10 μ g der drei Säure nachgewiesen werden. Im Tüpfeltest wurden nach dem Besprühen der aufgetragenen Säuren eine Erfassungsgrenze von 1 μ g erreicht. Dabei kann die Anwesenheit von Aconitsäuren neben Citronensäure erkannt werden.

Experimentelles

Reagenzlösung. 1 g Kaliumcarbonat wird in 80 ml Eisessig gelöst und 20 ml Essigsäureanhydrid zugesetzt.

Ausführung. Die Chromatogramme (auf Celluloseschichten oder günstiger auf Papier; Fließmittel: *n*-Butanol-Benzylalkohol-85 % Ameisensäure-Wasser (7:7:1:2)^{8,9}) oder für den Tüpfeltest das Papier mit der aufgetragenen Untersuchungs-

lösung werden mit der Reagenzlösung besprüht und 5 bis 10 min lang bei Zimmertemperatur belassen. Während dieser Zeit bilden sich an den Stellen mit den Aconitensäuren besonders im langwelligen, filtrierte UV-Licht intensiv grüngelb fluoreszierende Flecken aus. Citronensäure ist jetzt noch nicht erkennbar. Nach dem anschließendem Erhitzen auf 80° bis 100° während 5 bis 10 min entstehen in den Bereichen, die Citronensäure enthalten, im filtrierte, besonders im langwelligen UV-Licht (366 nm) intensiv hellblaue Fluoreszenzen.

Arzneimittelprüfstelle des Saarlandes,
D-6600 Saarbrücken 2 (B.R.D.)

HILDE LANG
ERNST LANG

- 1 A. BEHRMANN UND A. W. HOFMANN, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 17 (1884) 2688.
- 2 F. FEIGL, V. ANGER UND O. FREHDEN, *Mikrochem.*, 17 (1935) 29; *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 106 (1936) 123.
- 3 H. STEIGMANN, *J. Soc. Chem. Ind.*, 62 (1943) 176.
- 4 O. FURTH UND H. HERRMANN, *Biochem. Z.*, 280 (1935) 488.
- 5 J. R. MARIER UND M. BOULET, *J. Dairy Sci.*, 41 (1958) 1683.
- 6 M. L. BUCH, R. MONTGOMERY UND W. L. PORTER, *Anal. Chem.*, 24 (1952) 489.
- 7 E. LANG UND H. LANG, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 260 (1972) 8.
- 8 J. STARK, A. GOODBAN UND H. OWENS, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 413; *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.*, 98 (1954) 250.
- 9 E. BECKER, *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.*, 98 (1954) 249.

Eingegangen am 25. Juli 1972

J. Chromatogr., 73 (1972) 290-291