

ZUM AUFBAU DES PFLANZLICHEN ABSCHLUßGEWEBES: DIE NORMALEN UND VERZWEIGTEN ALKANE VON *MARRUBIUM VULGARE* L.

C. H. BRIESKORN und K. FEILNER*

Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg

(Received 9 October 1967)

Zusammenfassung—Weißer Andorn enthält neben n-Alkanen noch folgende homologe Reihen von Kohlenwasserstoffen: 2-Methylalkane, 3-Methylalkane, 2.(ω -1)-Dimethylalkane 3-9- oder 3.(ω -9)-Dimethylalkane. Die verzweigten Kohlenwasserstoffe besitzen hauptsächlich Kettenlängen mit 27 bis 33 C-Atomen. Wie bei den n-Alkanen überwiegen die Homologen mit ungerader C-Atomzahl. 2- und 3-Methylalkane kommen im Bereich von 27–34 C-Atomen alternierend vor. 2-Methylalkane weisen ungerade, 3-Methylalkane gerade C-Atomzahlen auf. Im Bereich kürzerer Kettenlängen scheinen die beiden homologen Reihen in annähernd gleichen Mengen vorzukommen.

Abstract—*Marrubium vulgare* contains beside n-alkanes the following homologous series of hydrocarbons: 2-methylalkanes, 3-methylalkanes, 2.(ω -1)-dimethylalkanes and 3-9- or 3.(ω -9)-dimethylalkanes. The branched hydrocarbons are of chain length C_{27} to C_{33} , odd homologues predominating. 2- and 3-methylalkanes alternate in the series from 27 to 34 C-atoms, 2-methylalkanes at odd and 3-methylalkanes at even C-numbers. In compounds of short chain length, the two homologous series exist in approximately equal quantities.

EINFÜHRUNG

DIE OBERFLÄCHE der Pflanze ist nicht nur aus botanischer Sicht interessant. Das Verhalten von unkraut- und insektenschädigenden Chemikalien auf der Pflanzenoberfläche, der Umfang ihres Eindringens in das darunterliegende Gewebe, der Widerstand, den das Abschlußgewebe den Pflanzenschädlingen leistet, sind von großer praktischer Bedeutung geworden. Schon lange ist bekannt, daß die Oberfläche der Pflanzen von einer "Wachsschicht" überzogen ist, die zu einem beträchtlichen Anteil Kohlenwasserstoffe enthält. Kohlenwasserstoffe sind auch im cutinisierten Gewebe eingelagert. Über die Zusammensetzung des Kohlenwasserstoffgemisches des pflanzlichen Abschlußgewebes sind in den letzten Jahren wichtige Analysen durchgeführt worden.¹ Eine Pflanze aus der Familie der Labiaten ist bislang noch nicht untersucht worden. Aus verschiedenen Gründen fiel unsere Wahl auf *Marrubium vulgare*.

ERGEBNIS UND DISKUSSION

Andornextrakt, erhalten durch erschöpfende Perkolation von Andornkraut mit Petroläther, wird durch Methanol in hydrophobe und hydrophile Anteile aufgetrennt. Die hydrophobe Fraktion besteht laut Dünnschichtchromatogramm aus Kohlenwasserstoffen, Wachsen, Triglyceriden, Phäophytin und Carotinoiden. Nach Entfernen des Phäophytins

* Teil der Dissertation Kurt Feilner, Universität Würzburg 1966.

¹ G. EGLINTON, A. G. GONZALEZ, R. J. HAMILTON und R. A. RAPHAEL, *Phytochem.* **1**, 102 (1962); B. NAGY, V. MODZELESKI und M. T. J. MURPHY, *Phytochem.* **4**, 945 (1965); M. MARTIN-SMITH, G. SUBRAMANIAN und H. E. CONNOR, *Phytochem.* **6**, 559 (1967).

durch Zinkcarbonat bleibt eine gelbe, wachsartige Masse zurück. Sie wird über Kieselgel chromatographiert. (Laufmittel: Petroläther). Die Gesamtausbeute an Alkanen beträgt 39,2 Prozent (bezogen auf Petrolätherextrakt).

Eine erste Fraktionierung des Kohlenwasserstoffgemisches läßt sich durch Molekularsiebe erreichen. Hierbei werden *n*-Alkane adsorbiert, während verzweigte Kohlenwasserstoffe nicht in die Kanäle des Siebs hineinpassen. Die adsorbierten *n*-Alkane stellen 83 Prozent des Kohlenwasserstoffgemisches dar. Ihre gaschromatographisch ermittelte Zusammensetzung ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

TABELLE 1. ZUSAMMENSETZUNG DES *n*-KOHLENWASSERSTOFFGEMISCHES

	%		%
<i>n</i> -Heptadecan	0,03	<i>n</i> -Heptacosan	5,2
<i>n</i> -Octadecan	0,07	<i>n</i> -Octacosan	0,9
<i>n</i> -Nonadecan	0,08	<i>n</i> -Nonacosan	22,3
<i>n</i> -Eicosan	0,08	<i>n</i> -Triacontan	1,5
<i>n</i> -Heneicosan	0,2	<i>n</i> -Hentriacontan	39,4
<i>n</i> -Docosan	0,1	<i>n</i> -Dotriacontan	1,9
<i>n</i> -Tricosan	0,06	<i>n</i> -Tritriacontan	25,0
<i>n</i> -Tetracosan	0,1	<i>n</i> -Tetratriacontan	0,5
<i>n</i> -Pentacosan	0,5	<i>n</i> -Pentatriacontan	2,3
<i>n</i> -Hexacosan	0,08		

Die Hauptbestandteile, *n*-Nonacosan, *n*-Hentriacontan und *n*-Tritriacontan, haben wir durch präparative Gaschromatographie isoliert und anhand der Schmelzpunkte identifiziert. Ähnlich wie bei anderen Pflanzen überwiegen auch bei Andorn die Kohlenwasserstoffe mit ungerader Kohlenstoffzahl.

Das Abtrennen methylverzweigter Alkane mit längerer unverzweigter Kette von stark verzweigten und eventuell makrocyclischen Verbindungen gelingt über Harnstoffaddukte. Die verzweigten Alkane, welche mit Harnstoff unter Adduktbildung reagieren, machen 10,6 Prozent des Gesamtkohlenwasserstoffgemisches aus. Sie besitzen eine vaselineähnliche Konsistenz, sind farblos und schmelzen bei 44–45°.

Rund 6 Prozent beträgt der Anteil an Alkanen, der weder von dem Molekularsieb adsorbiert wird noch mit Harnstoff reagiert.

Die Identifizierung der verzweigten Alkane muß gaschromatographisch erfolgen, da wegen der gleichartigen Eigenschaften der einzelnen Komponenten keine Trennung auf anderem Wege gelingt. (Abb. 1).

Die Zuordnung der im Gaschromatogramm erkennbaren Peaks nahmen wir auf Grund der Beziehung zwischen Retentionszeit und Anzahl der Kohlenstoffatome bei homologen Reihen vor:² $\log t_r = a \cdot n + b$ (t_r = Retentionszeit, n = Kohlenstoffzahl und a, b = Konstanten). Der Logarithmus der Retentionszeiten von Substanzen einer homologen Reihe ändert sich proportional mit der Anzahl der C-Atome. (Abb. 2).

Die Retentionszeiten der verzweigten Kohlenwasserstoffe werden in einem Diagramm logarithmisch gegen die zunächst vermuteten C-Atomzahlen aufgetragen. Hierbei resultieren vier parallele Geraden. Jede entspricht jeweils einer homologen Reihe verzweigter Kohlenwasserstoffe.

Die Zuordnung des Bautyps erfolgte durch gaschromatographischen Vergleich mit authentischen methylverzweigten Alkanen. Aus jeder homologen Reihe isolierten wir

gaschromatographisch die mengenmäßig höchsten Anteile und zogen ihre massenspektrometrischen Bruchstücke für die Zuordnung heran.

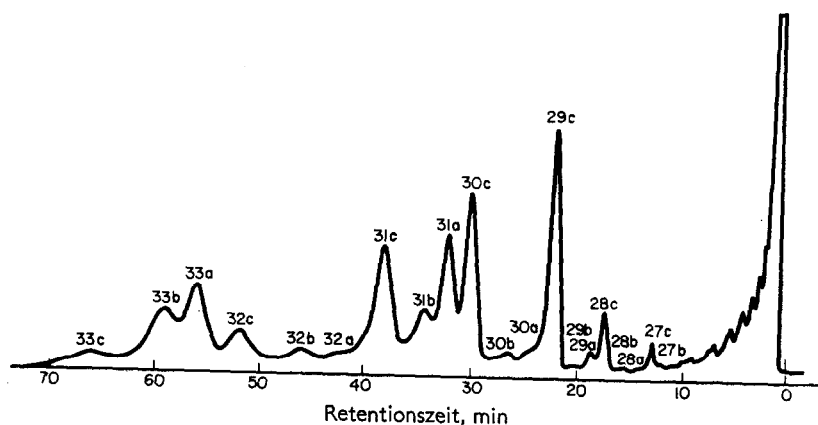


ABB. 1. GASCHROMATOGRAMM DER VERZWEIGTEN KOHLENWASSERSTOFFE.

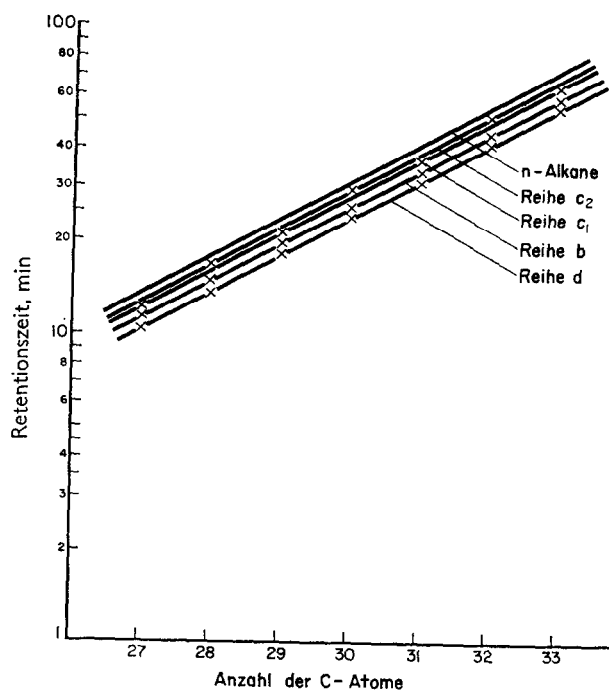


ABB. 2. RETENTIONSZEITEN HOMOLOGER REIHEN VERZWEIGTER KOHLENWASSERSTOFFE IN ABHÄNGIGKEIT VON DER KETTENLÄNGE.

Die homologe Reihe c_1 (s. Abb. 2) identifizierten wir als 2-Methylalkane. 2-Methyloctacosan und 2-Methyltriacontan wurden präparativ abgetrennt. Im i.r.-Spektrum dieser Substanzen läßt sich die Isopropylgruppierung an der symmetrischen Aufspaltung der δ C-H-Schwingung der CH_3 -Gruppe bei 1375 cm^{-1} erkennen. Die Schmelzpunkte der beiden

isolierten Kohlenwasserstoffe entsprechen dem Literaturwert. Das Massenspektrum von 2-Methyloctacosan bestätigt das Ergebnis.

Die homologe Reihe c_2 ist den 3-Methylalkanen zuzuordnen. 3-Methylnonacosan und 3-Methylhentriacontan werden präparativ abgetrennt und ihre Schmelzpunkte bestimmt. Sie stimmen mit dem Literaturwert überein. Das Massenspektrum des 3-Methylnonacosans bestätigt das Ergebnis.

2- und 3-Methylalkane kommen im Bereich der C-Atomzahlen 27 bis 34 alternierend vor (Abb. 2). Die ungeradzahligten Verbindungen sind stets Isoalkane, die geradzahligten regelmäßig Anteisoalkane. Begleitstoffe sind, wie das Massenspektrum anzeigt, jeweils geringe Mengen des isomeren Alkans der Reihe c_1 bzw. c_2 . Mold³ fand bei den Kohlenwasserstoffen des Tabakblattes eine gleiche Verteilung von Iso- und Anteisoalkanen.

Im Bereich kürzerer Kettenlängen können die Verbindungen anhand der Retentionszeiten nicht mehr eindeutig den 2- oder 3-Methylalkanen zugeordnet werden. Die Peaks weisen Retentionszeiten auf, die sich zwischen denen von reinen 2- bzw. 3-Methylalkanen bewegen. Wir nehmen an, daß in diesem Bereich ein Gemisch von annähernd gleichen Mengen der jeweils isomeren Verbindungen vorliegt. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangen Šorm und Mitarb^{4,5} bei dem Kohlenwasserstoffgemisch des Hopfenzapfens und des Rosenblütenblattes.

Die Kohlenwasserstoffe der Reihe b weisen im Vergleich zu den Iso- und Anteisoalkanen kürzere Retentionszeiten auf. Wir vermuteten entweder zwei Methylverzweigungen an den Kettenenden oder eine Methylverzweigung in der Nähe der Kettenmitte. Das Retentionsverhalten entspricht Alkanen, welche von Šorm^{4,5} und Mitarbeitern in Rosenblütenblättern und Hopfenzapfen aufgefunden worden sind. Als Struktur nehmen die Autoren 2.(ω -1)-Dimethylalkane oder Monomethylalkane mit Verzweigung in der Kettenmitte an. Der gaschromatographische Vergleich mit authentischen 2.(ω -1)-Dimethylalkanen und $\left(\frac{\omega+1}{2}\right)$ -Methylalkanen ließ keine Unterscheidung zu. Durch präparative Gaschromatographie gelingt es, Substanz 33b (s. Abb. 1) aus der homologen Reihe abzutrennen und durch Massenspektrometrie als 2.30-Dimethylhentriacontan zu identifizieren. In Reihe b liegen demnach 2.(ω -1)-Dimethylalkane vor.

Für die homologe Reihe a konnten keine Vergleichssubstanzen erhalten werden. Die Retentionszeitverkürzung gegenüber n-Alkanen gleicher C-Atomzahl läßt 2 Stellen vermuten: Alkane mit insgesamt 3 Methylgruppen in der Nähe der Kettenenden oder mit 2 Methylgruppen, von denen sich eine am Kettenende und die andere in der Nähe der Kettenmitte befindet. Zwei durch präparative Gaschromatographie gewonnenen Substanzen 31a u. 33a kann auf Grund ihres Massenspektrums als wahrscheinliche Struktur die eines 3.9- oder 3.(ω -9)-Dimethylalkans zugesprochen werden. Diese Annahme wird unterstützt durch die Berechnung der gaschromatographischen Retentionsindices nach Kovats⁶⁻⁸ mit Apiezon L als stationärer Phase. Hierbei erhalten n-Alkane definitionsgemäß einen Retentionsindex, der der Zahl der C-Atome $\times 100$ entspricht. Befinden sich an der Alkankette funktionelle Gruppen, z.B. eine Methylgruppe, so erhöht sich der Indexwert um einen Wert H, der nur von der Art des Substituenten und seiner Stellung in der Molekel abhängig ist.

³ I. D. MOLD, R. K. STEVENS, R. E. MEANS und I. M. RUTH, *Biochemistry* **2**, 605 (1963).

⁴ V. WOLLRAB, M. STREIBL und F. ŠORM, *Collection Czech. Chem. Commun.* **30**, 1654 (1965).

⁵ V. WOLLRAB, M. STREIBL und F. ŠORM, *Collection Czech. Chem. Commun.* **30**, 1670 (1965).

⁶ E. KOVATS, *Helv. Chim. Acta* **41**, 1915 (1958).

⁷ P. TOT, E. KUGLER und E. KOVATS, *Helv. Chim. Acta* **42**, 2519 (1959).

⁸ G. SCHOMBURG, *J. Chromatog.* **23**, 1 (1966).

Das Indexinkrement H ist von der Kettenlänge des Alkanrestes unabhängig. Mit Hilfe dieses Verfahrens können die Retentionszeiten von Substanzen berechnet werden. Die Retentionsindices geben Hinweise zur Struktur unbekannter Verbindungen.

Für die Strukturzuordnung der Substanzen der Reihe a wurden die H -Werte von Methylgruppen in verschiedenen Positionen mit Hilfe authentischer methylverzweigter Alkane ermittelt: 2-Methyl, H -Wert = 65; 3-Methyl, H -Wert = 78, und Methylgruppe in der Mitte der Alkankette, H -Wert = 31.

Errechnet man hieraus den H -Wert für ein Dimethylalkan mit einer Verzweigung in der Mitte und einer weiteren an C-3, so ergibt sich $H = (78 + 31) = 109$. Dieser Wert stimmt mit dem für die Kohlenwasserstoffe der Reihe a gefundenen Indexinkrement von 110 recht gut überein. Hierdurch wird das massenspektrometrische Ergebnis auf Vorliegen eines 3,9- oder 3.(ω -9)-Dimethylalkans noch gestützt.

Die quantitative Zusammensetzung der verzweigten Alkane, ermittelt aus den Flächen der einzelnen Peaks, gibt Tab. 2 wieder.

TABELLE 2. ZUSAMMENSETZUNG DER VERZWEIGTEN KOHLENWASSERSTOFFE

	2-bzw. 3-Methyl- alkane	2.(ω -1) Dimethyl- alkane	3,9-bzw. 3.(ω -9) Dimethylalkane
	%	%	%
C ₁₉	0,3	0,1	
C ₂₀	0,5	0,2	0,05
C ₂₁	0,6	0,3	0,06
C ₂₂	0,4	0,5	0,05
C ₂₃	0,5	0,6	0,2
C ₂₄	0,5	0,7	0,2
C ₂₅	0,6	0,6	0,3
C ₂₆	0,4	0,6	0,2
C ₂₇	0,9	0,5	0,2
C ₂₈	2,2	0,3	Spur
C ₂₉	13,2	0,4	0,7
C ₃₀	11,2	0,9	Spur
C ₃₁	13,5	4,3	8,8
C ₃₂	5,0	2,1	0,5
C ₃₃	5,0	8,2	10,0
C ₃₄	1,3	1,2	0,7

Gesamtmenge der verzweigten Kohlenwasserstoffe \approx 100 Prozent.

Die Fraktion, welche mit Harnstoff kein Addukt bildet, ist eine schwach gelb gefärbte, ölige Flüssigkeit. Sie besteht wahrscheinlich zu einem großen Teil aus Kohlenwasserstoffen isoprenoiden Charakters. Genauere Untersuchungen wurden an dieser Fraktion noch nicht durchgeführt.

EXPERIMENTELLES

Isolierung des "Wachsanteils"

30 kg Andornkraut, aus Jugoslawien importiert, wurden grob gepulvert und 15 mal mit je 120 l Petroläther (b.p. 50–70°) perkoliert. Nach Abdampfen des Petroläthers blieben 665 g (\approx 2,2 Prozent) einer dunkelgrünen, wachsartigen, bitter schmeckenden Substanz zurück. Sie wurde in 5 l heißem Methanol suspendiert. Den ungelöst verbliebenen Anteil behandelten wir mehrfach in gleicher Weise. Beim Erkalten des heiß gewonnenen Filtrats fielen hellgrüne Flocken aus. Sie wurden abfiltriert und vom restlichen

Methanol durch Erwärmen i. Vak. befreit. Auf diesem Wege erhielten wir 290 g des für unsere Untersuchungen benötigten "Wachsanteils" der Cuticularschicht. Sie ist durch Phäophytin grün gefärbt. Durch Lösen in Petroläther und Schütteln mit basischem Zinkcarbonat konnte ein gelbes Ausgangsmaterial gewonnen werden.

Abtrennung der Kohlenwasserstoffe aus dem "Wachsanteil"

40 g Wachsanteil werden in Petroläther (b.p. 50–70°) gelöst über eine Säule mit 2 kg Kieselgel (0,2–0,5 mm; Durchmesser 6 cm) chromatographiert. Als Elutionsmittel dient Petroläther. Das Kohlenwasserstoffgemisch stellt eine farblose, wachsartige Masse dar, die zwischen 65–66° schmilzt. Das Gas-Chromatogramm läßt erkennen, daß ein Gemisch von Kohlenwasserstoffen vorliegt. Abb. 3.

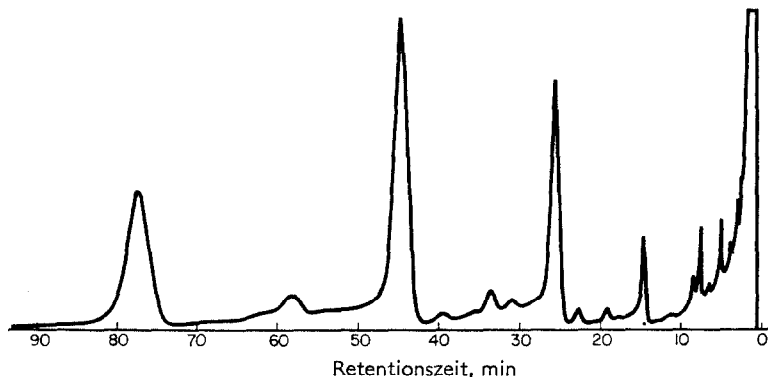


ABB. 3. GASCHROMATOGRAMM DER KOHLENWASSERSTOFFE DES ANDORNKRAUTES.

Molekularsiebadsorption

19,4 g Gesamtkohlenwasserstoffe werden in 500 ml Benzol reinst "Merck", über Natriumdraht getrocknet, gelöst. Der Lösung werden 200 g Molekularsieb 5 Å "Merck", Korngröße 0,2–0,5 mm, 6 Stdn. bei 400° aktiviert, zugegeben. Die Mischung wird 100 Stdn. unter Rühren am Rückfluß erhitzt.

Anschließend werden die Molekularsiebe von der Benzollösung durch Filtration abgetrennt und die in Lösung befindlichen Kohlenwasserstoffe gaschromatographisch auf einer SE 52-Säule auf noch vorhandene *n*-Kohlenwasserstoffe geprüft.

In den nicht adsorbierten Kohlenwasserstoffen sind nach der ersten Behandlung mit den Molekularsieben noch *n*-Alkane enthalten. Das Filtrat wird daher noch zweimal in gleicher Weise mit Molekularsieben behandelt. In dem nicht adsorbierten Kohlenwasserstoffgemisch sind dann gaschromatographisch keine *n*-Alkane mehr nachweisbar.

*Desorption der *n*-Kohlenwasserstoffe von den Molekularsieben*

Die beladenen Molekularsiebe werden mit Benzol gewaschen und an der Luft getrocknet. Die Rückgewinnung der *n*-Alkane erfolgt durch 100-stündiges Erhitzen mit *n*-Heptan auf 95°. Aus den Kanälen der Molekularsiebe werden hierbei die adsorbierten höheren *n*-Paraffine durch das kurzkettige *n*-Heptan verdrängt. Die Verwendung von *n*-Heptan als Desorptionsmittel hat gegenüber dem üblicherweise verwendeten *n*-Pentan den Vorteil, daß die Desorption offensichtlich wegen der höheren anwendbaren Temperaturen schneller vonstatten geht. Nach Erneuerung des Lösungsmittels wird der Vorgang noch zweimal wiederholt. Ausbeute: 10,9 g *n*-Kohlenwasserstoffe.

Auftrennen der verzweigten Kohlenwasserstoffe durch Harnstoffadduktion

3,9 g des Kohlenwasserstoffanteils, welcher vom Molekularsieb nicht adsorbiert wurde, werden in 100 ml Benzol gelöst und unter Rühren mit einer gesättigten methanolischen Harnstofflösung versetzt. Sofort fallen Kristalle des Harnstoffaddukts aus. Das Gemisch bleibt über Nacht stehen. Der Niederschlag wird auf einer Nutsche gesammelt. Die Kristalle werden mehrmals mit gesättigter methanolischer Harnstofflösung gewaschen und dann in heißem Wasser gelöst. Hierbei erfolgt Sprengung des Adduktes und Abscheidung der Kohlenwasserstoffe. Sie werden von der Harnstofflösung durch zweimaliges Ausschütteln mit Petroläther abgetrennt. Ausbeute: 2,07 g.

Das Filtrat, in welchem vielfachverzweigte und cyclische Kohlenwasserstoffe enthalten sein können, wird zur Trockne eingedampft. Der Harnstoff wird in Wasser gelöst, die Alkane werden mit Petroläther ausgeschüttelt. Ausbeute: 1,24 g.

Nachweis der normalen und verzweigten Alkane durch analytische Gaschromatographie

Fraktometer F 6/4 HF der Firma Perkin-Elmer in Verbindung mit einem Siemens Kompensograph L 288 × 288 (2,5 mV Vollausschlag). Detektor: Flammenionisationsdetektor, Detektorspannung: 140 V.

Arbeitsdaten	<i>n</i> -Alkane	Verzweigte Alkane
Säule	2 m × 3 mm	2 m × 3 mm
Träger (mesh)	Chromosorb W (80–100)	Chromosorb W (80–100)
Stationäre Phase	Apiezon L 5%	Apiezon L 5%
Trägergas	Stickstoff	Stickstoff
Strömungsgeschwindigkeit (ml/min)	30	30
Temperatur		
(a) Säule	{ 240° für C ₁₇ –C ₂₉ 280° für C ₂₅ –C ₃₄	240° für C ₂₀ –C ₂₉ 280° für C ₂₅ –C ₃₄
(b) Einspritzblock	340°	340°
(c) FID-Zuleitung		
Papiervorschub cm/min	0,5	0,5
Detektorempfindlichkeit	{ 1:32 (280°) 1:4 (240°)	1:32 (280°) 1:4 (240°)
Mengenaufgabe	1 µl	1 µl
Konzentration der Lösung in %	3	3

Die Substanzen wurden in Benzol gelöst und mit einer Hamiltonspritze aufgegeben.

Präparative Gaschromatographie

Zur präparativen Trennung diente der automatische präparative Gaschromatograph Autoprep 700 der Firma Varian-Aerograph. Das Gerät ist mit einer Wärmeleitfähigkeitszelle ausgestattet. Die Anzeige erfolgt über einen Brown Class 15 Schreiber (1 mV Vollausschlag).

Das Gerät wurde mit Hand bedient. Säule: Aluminiumrohr, 9 mm Durchmesser, etwa 3 Meter Länge. Säulenfüllung: 5% Silikonkautschuk SE 52 auf Chromosorb W 60–80 mesh. Trägergas: Helium; Strömungsgeschwindigkeit, 200 ml/min; Detektortemperatur: 280°; Detektorstrom: 200 mA; Detektorempfindlichkeit: 1:2. Die Probenaufgabe erfolgte mit der eingebauten Einspritzpumpe direkt auf die Säule.

Probensammelgefäße waren die von der Firma Varian Aerograph gelieferten Kühlfallen für Festsubstanzen, im oberen Teil mit Glaswolle gefüllt. Die Kühlung erfolgte mit Aceton-Trockeneis.

Abtrennung geradkettiger und verzweigter Alkane

	<i>n</i> -Nonacosan <i>n</i> -Hentriacontan <i>n</i> -Tritriacontan	Verzweigte Alkane
Ofentemperatur	Nichtlineares Temperaturprogramm 250–300° Anstiegsrate ca. 5°/min Anschließend isotherm	15 min 250° isotherm Nichtlineares Temperaturprogramm 250–300° Anstiegsrate ca. 10°/min
Lösungsmittel	<i>n</i> -Heptan	<i>n</i> -Heptan

Wegen des sehr komplexen Gemisches und der daraus resultierenden vielfachen Überschneidungen der Peaks ist die Abtrennung einzelner Substanzen recht schwierig. Das Schneiden der Fraktionen muß sehr scharf erfolgen; Verluste sind unvermeidbar. Um eine möglichst gute Trennung zu erreichen, darf die Substanz nur in kleinen Anteilen eingespritzt werden, da sonst wegen Überlastung der Säule Peakverbreiterungen auftreten.

Quantitative Auswertung der Gaschromatogramme⁹

Die quantitative Auswertung erfolgte durch Ausschneiden der Peakflächen. Die Chromatogramme werden auf Agfa Copyrapidpapier kopiert. Die Kopie wird bei 80° getrocknet und anschließend bei normaler Temperatur an der Luft bis zum Feuchtigkeitsgleichgewicht klimatisiert. Die ausgeschnittenen Peaks werden auf der Analysenwaage genau gewogen.

⁹ R. KAISER, *Chromatographie in der Gasphase Teil IV*, Bibliographisches Institut, Mannheim (1965).

Die Peakflächen werden prozentual zur Fläche der Gesamtpeaks ermittelt. Korrekturfaktoren sind für die Kohlenwasserstoffe nicht erforderlich, da der Flammenionisationsdetektor für alle den Chromatographen passierenden Substanzen gleich empfindlich ist.

Wir haben zur danken:

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für die Förderung dieser Arbeit durch Sachspenden. Der Firma Merck, Darmstadt, für die Extraktion der Droge. Herrn Dr. Hasserodt, Shell Grundlagenforschung Gesellschaft m.b.H., Schloß Birlinghoven, für die Aufnahme und Auswertung der Massenspektren. Herrn F. Korte, Bonn, Herrn Pitkethly, British Petroleum Company Ltd., Sunbury-on-Thames, Herrn J. D. Mold, Liggett & Myers Tobacco Co., Durham N.C., USA. Herrn M. Streibl, Institut für Chemie und Biochemie, Tschechoslowak. Akad. d. Wissenschaft., Prag, und Herrn E. Stenhagen, Institutionen för medicinsk Biokemi, Göteborgs Universität, für die Überlassung von Vergleichssubstanzen.