

# Papierchromatographische Trennung höherer Fettsäuren mit Celluloseacetat-Papier

Von Prof. Dr. FRITZ MICHEEL und Dipl.-Chem. HELMUT SCHWEPPE, Münster/Westf.  
Organisch-chemisches Institut der Universität Münster(Westf.)

Es wird gezeigt, daß gesättigte gradkettige Fettsäuren von  $C_6$ – $C_{18}$  sich an Celluloseacetat-Papier als Hydroxamsäuren chromatographisch trennen lassen. Als intensiv-gefärbte Eisen-III-Komplexe sind sie gut zu identifizieren.

In den früheren Mitteilungen<sup>1)</sup> wurde die Herstellung von Celluloseacetat-Papier und die chromatographische Trennung verschiedener überwiegend hydrophober Stoffgruppen beschrieben, deren Trennung mit gewöhnlichem Cellulosepapier nicht oder nur schlecht gelingt. Im Gegensatz zum hydrophilen Cellulosepapier bildet im Acetatpapier ein hydrophobes Lösungsmittelgemisch in der gequollenen Faser die stationäre Phase, während das wäßrig-hydrophile Lösungsmittelgemisch als wandernde Phase auftritt. Stoffe mit vorwiegend oder ausschließlich hydrophobem Charakter wandern also bei Verwendung von Cellulosepapier so schnell, daß ihre  $R_F$ -Werte sehr groß sind und gewöhnlich zu geringe Unterschiede aufweisen, als daß sie für eine analytische Auftrennung ausreichen. Umgekehrt wandern sie bei Verwendung von Acetatpapier nur relativ langsam und zeigen demgemäß bei der Wahl geeigneter Lösungsmittelgemische größere Unterschiede in den  $R_F$ -Werten.

Wir berichten im folgenden über die Trennung von Gemischen homologer Fettsäuren an Acetat-Papier. Frühere Arbeiten anderer Autoren haben nur zu begrenzten Erfolgen geführt. So trennt Boldingh<sup>2)</sup> die Äthylester mit einem Papier, das durch Imprägnieren mit Kautschuklatex hydrophobiert wurde. H. P. Kaufmann und Budwig<sup>3)</sup> erreichen die Trennung jeweils einiger höherer Fettsäuren an Cellulosepapier mit Methanol, das 1% Wasser und je nach den zu trennenden Säuren kleine Zusätze von Isobutanol, Eisessig, Tetrachlorkohlenstoff oder Chloroform-Eisessig enthält. Auch mit 70proz. Methanol und 70proz. Aceton wurden Trenneffekte erzielt<sup>4)</sup>. Nach Inoue und Noda<sup>5)</sup> können die Hydroxamate der niederen Fettsäuren an Cellulosepapier in n-Butanol getrennt werden. Jedoch sind die  $R_F$ -Werte bei einer Kette von 5 C-Atomen bereits größer als 0,90. Dieser  $R_F$ -Wert muß aber als die obere Grenze für die Trennbarkeit angesehen werden. Bei Verwendung von Di-propylketon wird eine Auftrennung bis zur Säure mit 10 C-Atomen (Caprinsäure) angegeben. Auch Papier, das mit Kieselgel imprägniert ist, wird ohne nähere Angaben über den Anwendungsbereich verwendet<sup>6)</sup>. Ferner sind durch Tränkung des Papiers mit Olivenöl Erfolge erzielt worden<sup>7)</sup>.

Wir erreichen eine sichere und generelle Trennung und analytische Bestimmung der Fettsäuren an Celluloseacetat-Papier (22–26% Acetyl), das nach dem früher beschriebenen Verfahren<sup>1)</sup> gewonnen wird. Zu diesem Zwecke werden die Methylester der Fettsäuren hergestellt (leicht mit Diazomethan zu erhalten) und diese durch kurzes Erhitzen mit Hydroxylamin und Kaliumhydroxyd

in Methanol in die Kaliumsalze der Hydroxamsäuren übergeführt. Sollen Fette analysiert werden, so können die Glyceride unmittelbar und ohne vorherige Verseifung in gleicher Weise wie die Methylester in die Hydroxamsäuren umgewandelt werden. Bei aufsteigender Chromatographie ist mit einem Gemisch von Essigsäureäthylester-Tetrahydrofuran-Wasser (0,6:3,5:4,7 Volumteile) bei einer Steighöhe von 30–35 cm eine sichere Trennung der meisten höheren Fettsäuren zu erreichen. Die intensive Färbung der Eisen(III)-komplexe der Hydroxamsäuren gestattet einen sehr empfindlichen Nachweis der einzelnen Flecke. Bild 1 zeigt die Wanderungsgeschwindigkeit einer größeren Anzahl von Fettsäuren. Ölsäure und Palmitinsäure lassen sich nicht durch ihren  $R_F$ -Wert unterscheiden. Hier muß der ungesättigte Charakter der Ölsäure ergänzend herangezogen werden. Wie man sieht, enthalten die von uns angewandten Caprylsäure ( $C_8$ ), Pelargonsäure ( $C_9$ ) und Caprinsäure ( $C_{10}$ ) eine geringe Menge Verunreinigungen.

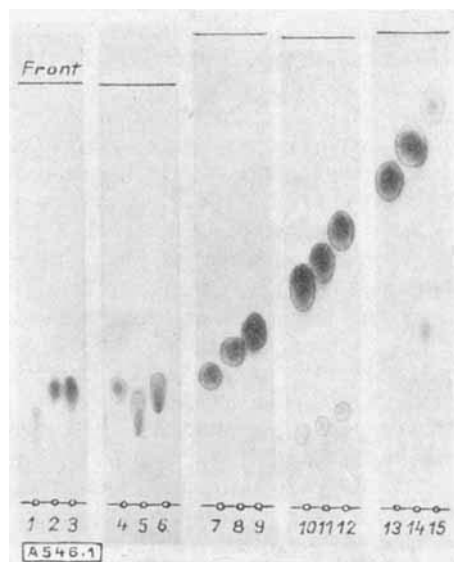


Bild 1

1.) Erucasäure, 2.) Ölsäure, 3.) Palmitinsäure, 4.) Ölsäure, 5.) Stearinsäure, 6.) Palmitinsäure, 7.) Myristinsäure, 8.) Laurinsäure, 9.) Undecylsäure, 10.) Caprinsäure, 11.) Pelargonsäure, 12.) Caprylsäure, 13.) Önanthsäure, 14.) Capronsäure, 15.) Valeriansäure.

Acetyliertes Papier Whatman Nr. 1 (25 % Acetyl), Essigsäureäthylester/Tetrahydrofuran-Wasser (0,6:3,5:4,7).

$R_F$ -Werte von Fettsäuren  
(Papier und Lösungsmittel wie bei Bild 1)

Valeriansäure .....	0,84	Laurinsäure .....	0,38
Capronsäure .....	0,72	Myristinsäure .....	0,34
Önanthsäure .....	0,64	Palmitinsäure .....	0,30
Caprylsäure .....	0,57	Ölsäure .....	0,30
Pelargonsäure .....	0,51	Stearinsäure .....	0,24
Caprinsäure .....	0,46	Erucasäure .....	0,22
Undecylsäure .....	0,40		

Die Tabelle der  $R_F$ -Werte zeigt, daß Palmitinsäure und Ölsäure nicht getrennt werden können und daß auch der Unterschied der  $R_F$ -Werte von Undecylsäure (0,40) und

<sup>1)</sup> Micheel u. Schweppe, Naturwiss. 39, 380 [1952]; Mikrochim. Acta 1954, 53; vgl. auch Vortragsreferat diese Ztschr. 66, 150 [1954].  
<sup>2)</sup> Experientia 4, 270 [1948]; Rec. trav. chim. Pays-Bas 69, 247 [1950].

<sup>3)</sup> Fette u. Seifen 52, 331 [1950]; 53, 390 [1951].  
<sup>4)</sup> H. P. Kaufmann, Budwig u. Dudge, Fette u. Seifen 53, 285 [1951].

<sup>5)</sup> Y. Inoue u. M. Noda, J. Agric. chem. Soc. Japan 23, 294 [1950]; Chem. Abstr. 45, 8449 [1951].

<sup>6)</sup> Y. Inoue u. M. Noda, J. Agric. chem. Soc. Japan 25, 496 [1952]; Chem. Abstr. 46, 6408 [1952].

<sup>7)</sup> Spiteri u. Nunez, C. r. hebdom. Séances Acad. Sci. 234, 2603 [1952].

Laurinsäure (0,38) für eine eindeutige Unterscheidung nicht ausreicht. Da sich jedoch die in den natürlichen Fetten vorkommenden Säuren durch 2 C-Atome unterscheiden, ist dies für deren Analyse ohne Bedeutung.

Bild 2 zeigt die Aufspaltung von Fettsäuregemischen und die Analyse eines verseiften Cocosfetts.

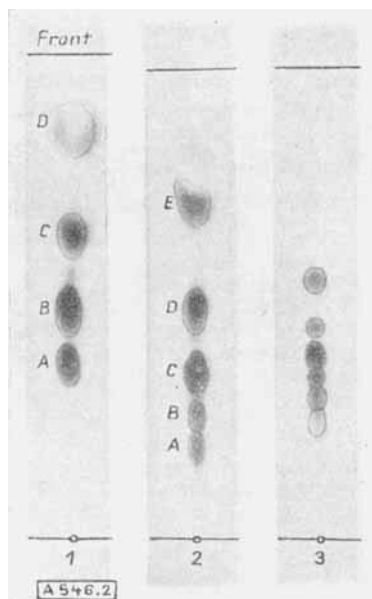


Bild 2

- 1.) Undecylsäure (A), Pelargonsäure (B), Önanthensäure (C), Valeriansäure (D).
- 2.) Myristinsäure (A), Laurinsäure (B), Caprinsäure (C), Caprylsäure (D), Capronsäure (E).
- 3.) Säuren eines Cocosfetts.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß nach den bisherigen Untersuchungen die gesättigten, geradkettigen Fettsäuren von  $C_5$  bis  $C_{18}$  sich generell nach diesem Verfahren trennen lassen.

## Versuche<sup>a)</sup>

Die Fettsäuren werden in ätherischer Lösung mit Diazomethan in bekannter Weise verestert. Nach dem Abdampfen des Äthers wird der Rückstand mit einer alkalischen Lösung von Hydroxylamin, die am besten pro Mol. Ester 1 Mol. Hydroxylamin und 1 Mol. Kaliumhydroxyd enthält, 2–3 min auf dem Wasserbade gekocht. Man erhält diese Lösung, indem man zu einer methanolischen Lösung von Hydroxylamin-hydrochlorid (1 Mol.) n/1 KOH (2 Mol.) in Methanol gibt und vom abgeschiedenen Kaliumchlorid absaugt. Die Lösung der Fettsäure-hydroxamate wird mit Tetrahydrofuran-Eisessig (4:1) neutralisiert und kann unmittelbar zum Chromatographieren verwendet werden.

Vorbereitung eines Fettes für die chromatographische Analyse:

100 mg des wasserfreien Fettes werden mit einer Mischung von 1 cm<sup>3</sup> m/1 Hydroxylamin-hydrochlorid und 2 cm<sup>3</sup> n/1 Kaliumhydroxyd in Methanol 2–3 min auf dem Wasserbade gekocht bzw. bis die Lösung homogen ist. Es wird vom Kaliumchlorid abgesaugt und mit Tetrahydrofuran/Eisessig (4:1) neutralisiert. Von dieser Lösung werden solche Mengen auf die Startlinie des Papiers aufgetragen, daß von jeder darin erwarteten Fettsäure 20–50 µg vorhanden sind.

### Die chromatographische Trennung

Auf ein Celluloseacetat-Papier vom Acetyl-Gehalt 22–26 % (dargestellt wie früher beschrieben<sup>1)</sup>) werden in bekannter Weise die Lösungen mit einem Gehalt von 20–50 µg pro Fettsäure aufgetragen. Lösungsmittelgemisch: Essigsäure-äthylester/Tetrahydrofuran/Wasser (0,6:3,5:4,7 Vol.). Bei aufsteigender Chromatographie ist nach 5–6 Stdn. eine Strecke von 30–35 cm erreicht. Das Papier wird 5 min bei 90 °C getrocknet und sodann mit einer Lösung von 2 % Eisen(III)-chlorid in Äthanol/n-Butanol (1:4) besprüht. Man erhält purpur-rote bis rotbraune Flecken.

*Wir sind der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Bereitstellung von Mitteln für diese Arbeiten zu Dank verpflichtet.*

Eingeg. am 21. Januar 1954 [A 546]

<sup>a)</sup> Ausführliche Angaben über die Herstellung eines geeigneten Acetatspapiers und über das gesamte Verfahren seiner Verwendung zur chromatographischen Trennung hydrophober Substanzen finden sich außer in der Veröffentlichung *Mikrochim. Acta* 1954, 53 in der Dissertation *H. Schweppe*, Münster 1954.

## Zuschriften

### Über die chromatographische Trennung der isomeren Phthalsäuren an Cellulosepapier

Von Prof. Dr. FRITZ MICHEEL

und Dipl.-Chem. HELMUT SCHWEPPE,

Organisch-chemisches Institut der Universität Münster (W.)

Die Trennung und Identifizierung der isomeren Phthalsäuren hat ein gewisses Interesse bei der Untersuchung von Oxydationsprodukten aus Kohle oder aromatischen Verbindungen. Während sich o-Phthalsäure auf Cellulosepapier ohne weiteres von m- und p-Phthalsäure trennen läßt<sup>1)</sup>, sind die beiden letzteren jedoch mit den üblichen Lösungsmittelgemischen wegen ihrer sehr ähnlichen  $R_f$ -Werte voneinander kaum zu unterscheiden. Eine sichere Bestimmung der Iso- und Terephthalsäure nebeneinander ist aber über ihre Hydroxamsäuren ohne Schwierigkeiten möglich. Man verestert das Gemisch der drei Phthalsäuren mit Diazomethan in ätherischer Lösung. Zur Überführung in die Hydroxamsäuren stellt man sich aus 1 Vol. m/1 Hydroxylamin-hydrochlorid und 2 Vol. n/1 Kaliumhydroxyd in Methanol und anschließendem Absaugen des ausgeschiedenen Kaliumchlorids eine Lösung von Hydroxylamin her. Zu 100 mg des Gemisches der Phthalsäuremethylester gibt man 6 cm<sup>3</sup> dieser Lösung und erwärmt kurze Zeit. Diese Lösung der nunmehr gebildeten Hydroxamsäuren trägt man unmittelbar auf die Startlinie des Chromatogramms auf, wobei es für die Bestimmung der Komponenten am vorteilhaftesten ist, wenn letztere etwa in einer Menge von 150 µg vorliegen. Zur Entwicklung des Chromatogrammes (absteigend) wird ein

Gemisch von Essigsäure-n-butylester-Eisessig-Wasser (4:2,5:1 Vol.) verwendet. Nach dem Trocknen des Papiers wird mit einer 2proz. Lösung von Eisen(III)-chlorid in Äthanol-n-Butanol (1:4) besprüht: man erhält violette Flecke. o-Phthalsäure läßt sich unter diesen Bedingungen nicht nachweisen. Ihre Abtrennung von den beiden anderen gelingt aber, wie erwähnt, ohne weiteres nach der üblichen Trennung an Cellulosepapier. Die Iso- und die Terephthalsäure geben jede 3 Flecke, die sehr verschiedenen  $R_f$ -Werten entsprechen. Möglicherweise handelt es sich bei zweien von ihnen um eine Mono- und eine Di-hydroxamsäure. Die  $R_f$ -Werte sind:

	I	II	III
Iso-phthalsäure	0,18	0,46	0,72
Tere-phthalsäure	0,16	0,46	0,72

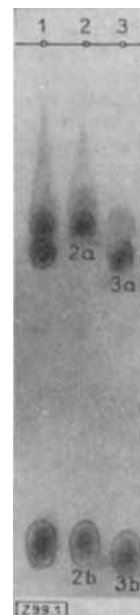
Nur die Flecke I sind analytisch verwertbar. Man läßt die Flecke III am besten mit der Lösungsmittelfront aus dem Papier herauslaufen und erhält ein Chromatogramm entsprechend Bild 1.

Bild 1

Durchlaufchromatogramm

- 1.) Gemisch der Hydroxamsäuren von Iso- und Terephthalsäure
- 2.) Terephthal-hydroxamsäuren (2a:  $R_f$  = 0,16; 2b:  $R_f$  = 0,46)
- 3.) Iso-phthal-hydroxamsäuren (3a:  $R_f$  = 0,18; 3b:  $R_f$  = 0,46).

Eingeg. am 21. Januar 1954 [Z 99]



<sup>1)</sup> Long, Quayle u. Stedman, J. chem. Soc. [London] 1951, 2197; eine gewichtsanalytische Trennung von Iso- und Terephthalsäure ist über die Thallosalze möglich: Bryce-Smith, Chem. a. Ind. 1953, 244; vgl. diese Ztschr. 65, 357 [1953].