

not or only to a limited extent miscible with the first phase, makes it possible to separate various water soluble substances due to their different distribution tendency between the two phases. This has found wide application not only for the analysis of amino acids and peptides, but also of, e.g., organic acids of plants¹, sugars², creatine³, flavine nucleotides⁴, and the lower volatile fatty acids⁵.

In order to make possible a much broader application of the partition chromatography method, Boscott⁶ has suggested the use of cellulose acetate, which has absorbed a certain amount of an organic solvent, as the stationary phase. However, we did not find any examples in the literature.

We attempted to apply the principle of partition chromatography for analysis of the higher fatty acids and used the paper strip modification. Filter paper strips (Schleicher & Schuell, No. 595) are treated with diluted vulcanized rubber latex, dried in air, rinsed with alcohol and acetone, and stored in the latter solvent until use. When the rubber content was approximately 30% on a dry weight basis the strips had not lost their porous structure, thus enabling organic solvents to move along by capillary forces.

Strips prepared in this way serve well for the separation of esters of higher fatty acids as is shown in the following table, where approximate R_F values for the ethyl esters of six fatty acids in different solvents are recorded. The rubber acts as the stationary "solvent" phase. Moreover, by using a solvent mixture containing a polar and a less polar component, e.g. methanol and benzene, the rubber may also act as a carrier for the less polar solvent by a sort of "salting out" effect. One considerable difficulty which needs to be overcome is the present lack of a suitable colour reaction to trace the ester spots. So far, their detection has been found possible by immersing the dried strips in a solution of Sudan IV in 50% acetone/water for a short period, when the esters become visible as red spots on a slightly less coloured background. To obtain reproducible results the use of perfectly uniform strip material is necessary. As will be seen from the table, the differences between the R_F values of the esters are so pronounced that separation is fairly easily effected if the necessary precautions are taken. The reproducibility is great enough to enable the different fatty acids to be identified from the R_F value. For quantitative purposes two parallel runs should be made since losses will occur during staining.

| Ester | Approximate R_F Value | |
|------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | Methanol | Methanol/ Acetone 1:1 |
| Ethyl stearate | 0.20 | 0.35 |
| Ethyl palmitate . . . | 0.28 | 0.60 |
| Ethyl myristate . . . | 0.39 | — |
| Ethyl laurate | 0.49 | — |
| Ethyl oleate | — | 0.52 |
| Ethyl erucate | — | 0.28 |

¹ J. W. H. LUGG and B. T. OVERELL, *Nature* 160, 87 (1947). – F. A. ISHERWOOD, *Biochem. J.* 40, 688 (1946).

² S. M. PARTRIDGE, *Nature* 158, 270 (1946). – A. E. FLOOD, E. L. HIRST, and J. K. N. JONES, *Nature* 160, 86 (1947).

³ G. A. MAW, *Nature* 160, 261 (1947).

⁴ J. L. GRAMMER, *Nature* 161, 349 (1948).

⁵ S. R. ELSDEN, *Biochem. J.* 40, 252 (1946).

⁶ R. J. BOSCOTT, *Nature* 159, 342 (1947).

Work is proceeding on further fatty acid esters, on the use of other solvents and of other suitable polymers, on the more sensitive detection of the ester spots, and on the perfection of the method for quantitative analysis of fatty acid esters and lipid constituents.

It is evident that this modification of partition chromatography is very promising in regard to the resolution of mixtures of water-insoluble organic substances in general.

J. BOLDINGH

Research Laboratory Unilever N.V., Zwijndrecht, Holland, April 12, 1948.

Résumé

En appliquant du caoutchouc (ou bien un autre polymère) sur le papier filtre, la méthode chromatographique à partition peut être considérablement amplifiée de manière à rendre possible la séparation des substances non solubles dans l'eau. Le caoutchouc représente donc la phase stationnaire, le dissolvant organique, la phase mobile. Il est fait mention de quelques applications de cette méthode pour séparer les différents esters éthyliques des acides gras.

Beitrag zur Kenntnis oxydierter Stärke

In einer früheren Arbeit¹ wurde über eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Karbonylgruppen in Oxyzellulose durch Oxydation berichtet.

Zum qualitativen Nachweis von Karboxylgruppen in Oxyzellulose wurden als Reagens aromatische Diamine benutzt (Diaminreaktion²). Dabei wurden die Diamine von den Karboxylgruppen durch Addition gebunden und nach anschließender Diazotierung und Kuppelung zu Farbstoffen entwickelt.

In Fortsetzung dieser Arbeit befaßte ich mich mit der quantitativen Bestimmung der Karboxylgruppen in der Oxyzellulose. Es wurde Benzidin benutzt, welches in analoger Weise gebunden wird. Die gefundenen Werte wurden als *Benzidinzahl* ausgedrückt.

F. MÜLLER³ bestätigte mit seiner Überprüfung die Angaben HALLERS, daß eine Reihe von bisher bekannten Reaktionen zum Nachweis von Oxyzellulose bei der Bestimmung von oxydierter Stärke nicht anwendbar sind. Viele dieser Reaktionen werden bei Temperaturen ausgeführt, die höher sind als die Quellungstemperatur der Stärke.

Die beiden Methoden: 1. Nachweis von Oxyzellulose mit Hilfe von aromatischen Diaminen und 2. Charakterisierung des Oxydationsgrades durch Bestimmung der Karbonyl- und Benzidinzahl versuchte ich nun auch bei den durch Oxydation modifizierten Stärken anzuwenden. Ich fand, daß die Oxydation zur Bestimmung von Aldehyd- und Ketogruppen bei oxydierten Stärken mit Erfolg benutzt werden kann. Gleichzeitig wurde mittels aromatischer Diamine die Anwesenheit von Karboxylgruppen in den oxydierten Stärken nachgewiesen. Auf analoge Art wie bei der Oxyzellulose erfolgte auch bei der oxydierten Stärke die quantitative Bestimmung der Karboxylgruppen durch Feststellung des gebundenen Benzidins.

Einer besonderen Untersuchung wurden auch die Lösungen oxydierter Stärken in kalter Normalnatronlauge unterzogen. In diesen alkalischen Lösungen versuchte ich die Ausfällung der oxydierten Stärke durch Zugabe

¹ M. u. M. KRAJCINOVIC, *J. App. Chem. (Moscow)* 19, 424 (1946).

² M. u. M. KRAJCINOVIC, *J. Text. Inst.* 38, t. 11 (1947).

³ F. MÜLLER, *Helv. chim. acta* 29, 21 (1946).