

STANOVENIE PRCHAVÝCH MASTNÝCH KYSELÍN PAPIEROVOU CHROMATOGRATIOU

DUŠAN HALAMA

Katedra technickej mikrobiológie a biochémie Slovenskej vysokej školy technickej
v Bratislave

Pri analýzach zápar po anaeróbných fermentáciách sme sa stretli s nevyhnutnosťou stanoviť prchavé mastné kyseliny vedľa kyseliny mliečnej. Na stanovenie celkového množstva prchavých kyselín sme použili bežnú metódu destilácie s vodnou parou. Tieto metódy sa používajú aj na stanovenie zmesi dvoch i viac kyselín. Zdalo sa preto výhodné použiť metódu, ktorú navrhli Lepper, Flieg a Malkomesius (cit. [16]) pre stanovenie kyseliny octovej, maslovej a mliečnej v silážach.

Napriek tomu, že sme si pre použitú aparatúru určili koeficienty prchavosti kyseliny octovej a kyseliny maslovej, často sme pre niektorú z nich dostávali záporné hodnoty. To nasvedčovalo prítomnosti aj iných prchavých kyselín. Okrem toho sa ukázalo, že uvedená metóda nestanoví presne kyselinu mliečnu. Pri analýze čistých roztokov tejto kyseliny sme z nej dokázali iba 80—90 %. Preto sme ďalej koncentráciu kyseliny mliečnej zisťovali metódou založenou na jej oxydácii roztokom manganistanu draselného na acetaldehyd [20] a pre stanovenie prchavých kyselín sme hľadali iné metódy. (Veľmi dobrý prehľad rozličných metód podáva W Ritter [18].)

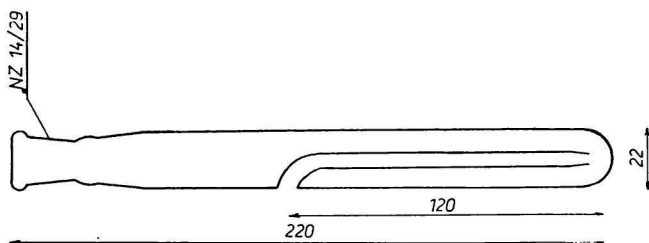
Mnohí autori (napr. F. Lebert a P. Tardieux [11]) uvádzajú na stanovenie zmesi prchavých kyselín metódu podľa Duclauxa. Pre stanovenie viacerých kyselín vedľa seba, najmä v kultúrach baktérií, je však táto metóda málo vhodná [8]. Preto sme zvolili chromatografiu na papieri.

Až donedávna metóda papierovej chromatografie dovoľovala iba kvalitatívne určenie zmesi kyselín. Závadou je tu totiž ich prchavosť, pre ktorú sa nemôžu oddeliť priamo ako kyseliny. Na zníženie prchavosti niektorí autori pracujú v alkalickom prostredí amoniaku alebo amónnych báz, pričom kyseliny detegujú postriekaním acidobázickým indikátorom (napr. F. Brown [5], E. P. Kennedy, H. A. Barker [10], B. Lindquist, T. Storgårds [13, 14], W Ritter [18], J. Guillaume, R. Osteux [8]). Hlavnou nevýhodou je obťažná a málo reprodukovateľná detekcia. Škvrnny sú často málo výrazné a rýchlo miznú. Pokiaľ sa robili pokusy o kvantitatívne vyhodnotenie, išlo väčšinou iba o nevelmi presnú metódu merania plochy škvŕn. Výhodnejšie je previesť kyseliny na neprchavé deriváty. Podobne ako viacerí autori (napr. F. Lipmann, L. C. Tuttle [15], K. Fink, R. M. Fink [6], E. Bayer, K. H. Reuther [1], F. Bergmann, R. Segal [2]) použili sme hydroxámové

deriváty nižších mastných kyselín. Sú výhodné jednak pre stabilitu, jednak pre spôsob detekcie (chloridom železitým), ktorý je vhodný pre kvantitatívne vyhodnotenie priamou fotometriou.

Experimentálna časť

Destilácia kyselín. Väčšina štandardizovaných metód na stanovenie prchavých kyselín vyžaduje väčšie množstvá vzorky (a tým aj destilátu), prípadne i štandardizovanú aparatúru. Na urýchlenie analýz sme použili destilačné nádobky podľa E. A. Mortona (cit. [19]) v obyčajnej alebo zábrusovej úprave. Rozmery a tvar nádobiek sú zrejmé z obr. 1.



Obr. 1. Nádobka na destiláciu prchavých kyselín s vodnou parou. Nádobka sa používala alebo zábrusová (podľa obrázka), alebo bez zábrusu, pričom jej dĺžka bola 180 mm. Nádobka sa pomocou gumovej zátky upevnila do hrdla 500 ml varnej banky naplnenej vodou, umiestenej šikmo pod uhlom asi 45° na horizontálnu rovinu.

Pre stanovenie sa použilo 3—5 ml vzorky, ktoré sa odpipetovali do destilačnej nádobky. Ku vzorke sa pridala zmes kyseliny stearovej a metylviolete (asi 0,05 g), 0,5 ml kyseliny sírovej 1 : 1, asi 3 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, prípadne i 0,2 ml 40 % formaldehydu.

Kyselina stearová sa pridávala na zabránenie penenia. Metylviolet indikovala dostatočný nadbytok minerálnej kyseliny a súčasne — pre jej intenzívne sfarbenie — indikovala kontamináciu dšťilátu obsahom destilačnej banky. Niekedy (zriedkavo) sa stáva, že pri prudkom vare vystrekne obsah banky až do chladiča a môže byť prúdom pary strhnutý do destilátu. Na zníženie prchavosti kyseliny mliečnej, ktorá sa vyskytovala vo vzorkách vedľa prchavých kyselín, pridávali sme síran horečnatý [7]. Na viazanie prípadne prítomných siričitanov sme niekedy pridávali formaldehyd [12].

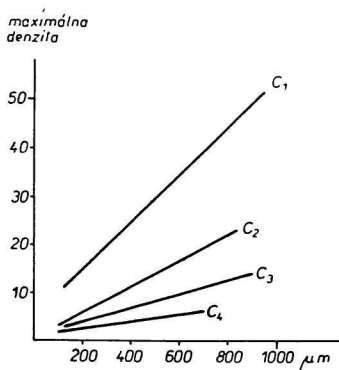
Pre overenie presnosti destilačnej metódy sa vykonalo stanovenie prchavých kyselín v 5 ml vzorky (anaeróbne sfermentované odpady po výrobe kyseliny mliečnej) v šiestich paralelných rozboroch. Spotreby asi na 120 ml destilátu boli (ml 0,05 N-NaOH): 4,6—4,45—4,55—4,35—4,35—4,25. Variačný koeficient bol 3,0 %. Pri analýzach vzoriek s vyšším obsahom prchavých kyselín (okolo 250 mval/liter) bol variačný koeficient iba 1,4 %, čo možno považovať za dobrý výsledok pri analýze takého malého objemu vzorky.

Titrácia destilátu (100—130 ml) sa vykonala s 0,05 N-NaOH na fenoltaleín (5—6 kvapiek nasýteného alkoholického roztoku). Aby sa zabránilo vplyvu kyslíčnika uhličitého, destilát sa pred titráciou zahrial takmer do varu, až kým sa objavili prvé drobné bublinky, načo sa titroval do slabozružového trvalého sfarbenia. Pri titrácii nebola na závalu kyselina stearová, ktorej časť vydestilovala s vodnou parou.

Úprava destilátu pre chromatografiu i sama chromatografia sa pôvodne uskutočňovali podľa A. Thompsonovej [21], avšak výsledky veľmi kolísali. Jednou z príčin kolísania výsledkov, ktorú sa podarilo zistiť, bol rozklad alkalického roztoku hydroxylamínu. Ďalšou príčinou by mohla byť malá rozpustnosť hydroxamátov v etyl-éteri. Beilstein udáva, že hydroxamáty mastných kyselín, okrem hydroxamátu kyseliny mravečej, sú v éteri nerozpustné. Kvantitatívne sme toto nesledovali, ale zvyšky na filtri po filtrácii éterického roztoku dávali s roztokom chloridu železitého intenzívnu reakciu na hydroxamáty. Preto sme preskúšali stanovenie hydroxamátových derivátov kyselín [3], s tým rozdielom, že sme na oddeľovanie použili zmes *n*-propanol—kyselina octová—voda v pomere 8 : 1 : 1, ktorá má byť lepšia než Blockom navrhované zmesi s *n*-butanolom alebo *n*-pentanolom [17].

Pre kvantitatívne vyhodnotenie chromatogramov sa použil registračný reflexný denzitometer [9].

Pri overovaní kalibračnej závislosti chromatogramov hydroxamátov kyseliny mravečej, octovej, propiónovej a *n*-maslovej (pripravených podľa A. Thompsonovej) sa zistilo, že kalibračná krivka je pre kyseliny s dlhším uhlíkatým reťazcom stále plochejšia (obr. 2).



Obr. 2. Kalibračné priamky hydroxamátov kyseliny mravečej až kyseliny maslovej. Maximálna denzita sa udáva ako mm výchylky galvanometra; priemery troch meraní.

Pretože sme predpokladali, že sfarbenie železitých komplexov hydroxamátov iba málo závisí od acylového zvyšku, hľadali sme príčiny tohto javu. Predpokladali sme, že príčinou je buď rozdielny stupeň esterifikácie kyselín, alebo ich neúplná extrakcia po uvoľnení z alkalických solí.

Skutočne pri esterifikácii v zatavených ampulkách pri 100 °C priebehom 24 hodín boli výťažky, najmä kyseliny propiónovej a maslovej, oniečo vyššie, takže kalibračná priamka mala oniečo väčšiu smernicu. Okrem toho sme sa pokúsili ovplyvniť esterifikáciu prídavkom dimetylsulfátu (0,1 ml na jednu skúmavku) alebo pripraviť estery pomocou metyljodidu zo strieborných solí spomenutých kyselín. Avšak v oboch posledných prípadoch sa na chromatogramoch objavili po detekcii škvŕny odchyľnej farby od škvŕn hydroxamátov kyselín.

Niektorí autori [1, 2] uskutočňujú esterifikáciu diazometánom. Diazometán sme pripravili z *p*-N-nitrozo-N-metyltoluénsulfónamidu, ktorý sme syntetizovali podľa T. J.

Boera a H. J. Backera [4]. Výsledky pri použití diazometánu neboli podstatne lepšie a kontrolou koncentrácie jeho éterického roztoku [22] sme zistili, že sa diazometán rozkladal už priebehom 24 hodín pri teplote -2°C .

Pre extrakciu kyselín z ich alkalických solí sme modifikovali metódu, ktorú uvádzajú B. Lindquist, T. Storgårds a M.-B. Göransson [13, 14].

Celkový postup analýzy: Uvedeným postupom sme v 3 ml alebo 5 ml vzorky stanovili destilačne celkové prechavé organické kyseliny. Ich obsah vo vzorkách sa pohyboval v rozmedzí 50—300 mval/liter. Po titracii s 0,05 N-NaOH sa do titračnej banky s titrovaným destilátom pridal 1 ml N-NaOH a v sušiarňi pri 110°C sa obsah vysušil do sucha. K suchému odparku sa potom pridali 2 ml presýteného roztoku KHSO_4 (nasýtený roztok s $\frac{1}{4}$ nadbytku KHSO_4) a 10 ml etyléteri bez peroxydov. Suchý odparok sa s touto zmesou zmiešal pomocou sklenej tyčinky, na konci zdrsnenej, a uvoľnené kyseliny sa jednu minútu extrahovali do éteru za stáleho miešania. Éterický extrakt sa zliat do skúmavky. Niekedy sa pritom do skúmavky dostala i časť zrazeniny. Preto sa extrakt nechal ustáť a zvrchu sa odpipetovalo 5 ml do druhej skúmavky, v ktorej bol 1 ml metanolu, okysleného kyselinou sírovou (na 100 ml absolútneho metanolu 1 ml koncentrovanej kyseliny sírovej). Po uzavretí gumovou zátkou sa skúmavky nechali stáť pri laboratórnej teplote. Po 24 hodinách sa do každej skúmavky odpipetovali 2 ml roztoku hydroxylamínu. Tento sa pripravil zmiešaním 1,67 N- $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ a 7 N- CH_3ONa v pomere 1 : 1 pri 0°C . Po odfiltrovaní NaCl sa na pôvodný objem doplnil metanolom.

Po usadení zrazeniny (asi 1 hod.) sa takto upravené roztoky nanašali mikropipetkou v množstvách 5—10 μl v podobe škvŕn s priemerom asi 0,7 cm na papier Whatman 1. Rovnako dobré oddelenie bolo i na papieri Whatman 4. Po vysušení sa hydroxamáty oddeľovali zostupne v zmesi *n*-propanol—kyselina octová—voda 6 až 8 hodín. Za ten čas čelo rozpúšťaďa dosiahlo vzdialenosť asi 20 cm od štartu.

Po vysušení chromatogramu a po detekcii (5 % FeCl_3 v metanole v zmesi s acetónom v pomere 4 : 3) sa chromatogram rozstrihal na pásiky 30 mm široké, ktoré sa automaticky vyhodnocovali už spomínaným fotometrom pri štrbine 15 mm dlhej a za použitia zeleného filtra.*

Analogicky sa spracovala i známa zmes prechavých kyselín, pomocou ktorej sa zistili rovnice kalibračných kriviek (priamok), potrebné na vyhodnotenie chromatogramov vzoriek.

Výsledky a diskusia

Pripravil sa roztok, ktorý obsahoval tieto kyseliny (v zátvorke je ich koncentrácia vyjadrená v mval/liter zmesi): kyselina mravčia (252), kyselina octová (239,5), kyselina propiónová (227) a kyselina maslová (227), teda asi v koncentrácii 0,25 N pre každú kyselinu. Aby sa zabránilo chybám spôsobeným ich prechavosťou, roztok sa pripravoval v zriedenom amoniaku. Išlo teda o amoniakálny roztok amónnych solí kyselín. Z tohto štandardného roztoku sa do 250 ml baniek, ktoré sa používali aj ako predlohy pre destiláciu prechavých kyselín z analyzovaných neznámych vzoriek, pipetovalo po 0,4; 1; 2 a 4 ml,

* Po odovzdaní práce sme zistili, že táto zmes nie je optimálna. Menšia chyba pri denzitometrickom vyhodnotení je pri chromatogramoch detegovaných jednorazovým pretiahnutím éterickým roztokom FeCl_3 s malým množstvom metanolu.

pridalo sa kyselinám ekvivalentné množstvo 0,05 N-NaOH a nadbytok 1 ml N-NaOH. Po vysušení do sucha sa odparky spracovali už opísaným spôsobom.

Pre kontrolu správnosti metódy sa časť upravených štandardných vzoriek (t. j. kyseliny boli už prevedené na hydroxamáty) nanášala na chromatogram v množstvách 5 μ l a 10 μ l, zatiaľ čo väčšina roztokov štandardov i vzoriek sa aplikovala v množstve 5 μ l.

Po kvantitatívnom vyhodnotení chromatogramov štandardných roztokov sa pre kyselinu mravčiu získali tieto priemerné hodnoty (v mm výchylky galvanometra):

		ml zmesi
1	2	4
8,2	13	12,4

(Chromatogramy z 0,4 ml zmesi sa nehodnotili — pre nízku koncentráciu mali veľký rozptyl denzitometrických hodnôt.) Je zrejmé, že reakcie pri úprave vzorky, teda extrakcia kyselín, ich esterifikácia a prevod esterov na hydroxamové deriváty kyselín neboli kvantitatívne. Preto sme porovnali denzitometrické hodnoty chromatogramov získaných z 1 ml zmesi, ktorá sa (po úprave) nanášala v množstvách 5 μ l a 10 μ l. Výsledky sú uvedené v tab. 1. Pri chromatogramoch od č. 245 sa použila iná citlivosť. V tabuľke uvádzané denzitometrické hodnoty sú prepočítané na rovnakú citlivosť.

Podľa Blocka medzi maximálnou intenzitou sfarbenia (denzitou) škvŕn hydroxamových derivátov nižších mastných kyselín a ich koncentráciou je lineárny vzťah. Koeficienty kalibračných rovníc

$$M = x \cdot m + x$$

(M = množstvo, koncentrácia danej látky v škvŕne, m = nameraná denzita, x = smernica kalibračnej priamky, y = úsek na abscisovej osi, vytínaný kalibračnou priamkou) sa potom vypočítali z denzitometrických hodnôt chromatogramov tej istej zmesi, nanášanej v množstve 5 μ l a 10 μ l.

Ak hodnoty pre jednonásobné nanášanie (5 μ l) označíme indexom I a hodnoty pre dvojnásobné nanášanie ($2 \times 5 = 10 \mu$ l) indexom II , platí vzťah

$$x = \frac{M_{II} - M_I}{m_{II} - m_I}$$

alebo v našom prípade

$$x = \frac{M_I}{m_{II} - m_I} \quad (\text{pretože } M_{II} = 2 M_I)$$

a

$$y = M_I - x \cdot m_I$$

T a b u l k a 1

1	2	3	4				
			C ₁ a	C ₂ b	C ₃ c	C ₄ d	
1	1	110	9	14	11	10,5	
		111	10	15,5	17	16,5	
		116	11	19	17	16,5	
		117	10,5	16	13	12	
		118	7	15	18,5	12	
		119	8,5	16,5	14	12	
		120	7	12,5	12,5	11,5	
		128	12	15	10,5	9	
		134	7,5	13,5	9,5	7	
		153	14	19,5	14	13	
		159	6	11,5	9,5	9	
		174	10	14	12	13	
		175	8	15	11	12	
		176	9,5	15,5	12	11	
		177	8	15	12	10,5	
		178	10	15,5	12	10	
		187, 203, 231	— vyradené				
		232	7	13	11	9,5	
		238	7,5	12,5	9,5	9	
		239	6,5	11	8	7,5	
		240	6,5	12	9	8,5	
		241	6	11,5	8	7	
		242	7	13	10,5	10	
			2	166	15	22	18,5
188	13,5			20	14,5	15	
259	15,2			26,1	24,4	24,8	
260	16,4			27,4	26,1	26,9	
261	16			28,5	24,4	24,4	
262	15,1			24,4	22,3	21	
263	15,2			26,9	24,4	24,4	

Vysvetlivky: 1 — ml zmesi pôvodne vzaté do práce,
 2 — $\mu\text{l} \times 5$ zmesi po konečnej úprave, nanesené na chromatogram,
 3 — poradové číslo chromatogramu (protokol),
 4 — maximálne intenzity jednotlivých škvŕn, merané v mm výchylky galvanometra.

Hoci v našom prípade, keď reakcie úpravy vzoriek nie sú kvantitatívne, nepoznáme presné hodnoty M , môžeme za ne dosadiť ľubovoľné čísla, ktoré sú v pomere koncentrácií jednotlivých kyselín v štandardnej zmesi. Pritom samozrejme predpokladáme, že tieto reakcie prebehnú vždy do určitého stupňa, a preto medzi pomerom koncentrácií kyselín vo vzorke pred úpravou a medzi pomerom ich hydroxámových derivátov po úprave vzorky je jednoduchá lineárna závislosť.

Ak ďalej označíme množstvá kyseliny mravčej a kyseliny maslovej postupne

písmenami A, B, C, D a im odpovedajúce namerané denzitometrické hodnoty písmenami a, b, c, d , kalibračné rovnice budú:

$$\begin{aligned} A &= x_1 \cdot a + y_1 & B &= x_2 \cdot b + y_2 \\ C &= x_3 \cdot c + y_3 & D &= x_4 \cdot d + y_4 \end{aligned}$$

Priemerné hodnoty a, b, c, d v tab. 1 sú:

	a	b	c	d
M_I	11,1	10,55	10	10
m_I	8,57	14,36	11,89	10,77
m_{II}	14,91	24,76	22,09	22,14

Za hodnoty M_I sa dosadili čísla 11,1; 10,55; 10; 10, ktoré sú v pomere koncentrácií kyselín.

Vypočítané hodnoty koeficientov kalibračných priamok potom sú:

$$x_1 = \frac{11,1}{6,34} = 1,75; \quad y_1 = 11,1 - 1,75 \cdot 8,75 = -3,90$$

Analogicky

$$\begin{aligned} x_2 &= 1,01 & y_2 &= -3,95 \\ x_3 &= 0,98 & y_3 &= -1,65 \\ x_4 &= 0,88 & y_4 &= +0,52 \end{aligned}$$

Pomocou kalibračných rovníc sa potom vypočítajú pomerné hodnoty koncentrácií jednotlivých kyselín. Z týchto hodnôt sa ďalej vypočíta percentuálne zloženie analyzovanej zmesi, ktoré spolu s hodnotou celkového množstva prechavých kyselín (zistenou titráciou destilátu) udáva ich absolútne množstvá.

V tab. 2 je uvedený spôsob výpočtu na príklade prvých troch chromatogramov z tab. 1. V tab. 3 sú hodnoty vypočítané z tab. 1 i s vypočítaným variačným koeficientom.

T a b u ľ k a 2

Číslo chromatogramu	Namerané hodnoty maximálnej denzity (m)				Prepočet na pomer koncentrácií; horná hodnota: $x \cdot m$ dolná hodnota: $x \cdot m + y$				Suma	Prepočet na percentá			
	a	b	c	d	A	B	C	D		$A \%$	$B \%$	$C \%$	$D \%$
110	9	14	11	10,5	15,75 11,85	14,14 10,19	10,78 9,13	9,24 9,77	40,94	28,9	24,9	22,3	23,9
111	10	15,5	17	16,5	17,50 13,60	15,66 11,71	16,66 15,01	14,52 15,05	55,37	24,6	21,1	27,1	27,2
116	11	19	17	16,5	19,25 15,35	19,19 15,24	16,66 15,01	14,52 15,05	60,65	25,3	25,1	24,8	24,8

T a b u l k a 3

Prepočet denzitometrických hodnôt chromatogramov z tab. 1

	Namerané hodnoty maximálnej denzity (v mm výchylky galvanometra)				Prepočet na percentá			
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>A</i> %	<i>B</i> %	<i>C</i> %	<i>D</i> %
Prvých 22 chromatogramov (po 5 l)	8,57 ± 2,08 (24,3)	14,36 ± 2,24 (15,6)	11,89 ± 2,83 (23,8)	10,77 ± 2,57 (23,9)	26,33 ± 4,38 (16,6)	25,53 ± 1,89 (7,4)	23,95 ± 3,23 (13,5)	24,19 ± 2,59 (10,7)
Ďalších 7 chromatogramov (po 10 l)	14,91 ± 1,21 (8,1)	24,76 ± 2,79 (11,3)	22,09 ± 4,14 (18,7)	22,14 ± 4,19 (18,9)	26,91 ± 2,83 (10,5)	25,33 ± 0,68 (1,67)	23,8 ± 2,09 (8,8)	23,93 ± 1,08 (4,5)
Všetky chromatogramy z tab. 1	—	—	—	—	26,47 ± 4,04 (15,1)	25,48 ± 1,67 (6,6)	23,91 ± 2,96 (12,4)	24,13 ± 2,30 (9,5)

V hornej časti riadkov sú uvedené priemerné hodnoty maximálnej denzity (*a*, *b*, *c*, *d*), resp. z nej vypočítaného percentuálneho zloženia (*A* %, *B* %, *C* % *D* %) i so strednou kvadratickou chybou (štandardná deviácia). V dolnej časti je jej veľkosť v percentách (v zátvorke).

Je zrejmé, že týmto spôsobom možno zistiť zloženie analyzovanej zmesi aj v prípade, že reakcie úpravy vzoriek pre chromatografiu nie sú kvantitatívne, a to za predpokladu, že pri úprave analyzovanej zmesi prebiehajú rovnako ako pri úprave štandardnej zmesi. Presnosť je pritom pomerne dobrá (vzhľadom na chromatografické metódy). Výhodou tohto spôsobu je i to, že pri oddeľovaní nie veľkého počtu látok netreba pracovať so štandardnými roztokmi jednotlivých látok, ale stačí použiť ako štandard ich zmes so známym zložením.

Súhrn

Opisuje sa modifikácia stanovenia nižších mastných kyselín metódou chromatografie na papieri. Kyseliny sa po destilácii previedli na hydroxamové deriváty a po detekcii roztokom chloridu železitého sa kvantitatívne stanovili densitometricky.

Ďalej sa uvádza metóda pre výpočet výsledkov analýz z densitometrických meraní a jej použiteľnosť i v prípade, keď reakcie úpravy vzoriek pre chromatografické oddeľovanie neprebiehajú úplne kvantitatívne.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕТУЧИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ХРОМАТОГРАФИЕЙ НА БУМАГЕ

ДУШАН ГАЛЯМА

Кафедра технической микробиологии и биохимии Химического факультета Словацкой высшей технической школы в Братиславе

Выводы

Описана модификация определения низших жирных кислот методом хроматографии на бумаге. Кислоты были после перегонки переведены на гидроксамовые производные и после проявления раствором хлористого железа (III) были определены количественно денситометрическим методом.

Дальше приведен метод расчета результатов анализов из денситометрических измерений и его применительность и в случае, когда реакции при обработке образцов для хроматографического деления не происходят совсем количественно.

Поступило в редакцию 18. 9. 1958 г.

BESTIMMUNG FLÜCHTIGER FETTSÄUREN MITTELS DER PAPIERCHROMATOGRAPHIE

DUŠAN HALAMA

Lehrstuhl für technischen Mikrobiologie und Biochemie der Chemischen Fakultät an der Slowakischen Technischen Hochschule in Bratislava

Zusammenfassung

Der Autor beschreibt eine Modifikation der Bestimmung niedrigerer Fettsäuren durch die Methode der Papierchromatographie. Die Säuren wurden nach der Destillation in Hydroxamderivate überführt und nach der Entwicklung mittels einer Eisen-(III)-chloridlösung quantitativ densitometrisch bestimmt.

Es wird weiter eine Methode für die Berechnungen der Analysenergebnisse aus den densitometrischen Messungen und ihre Brauchbarkeit auch in jenem Falle angeführt, in welchem die Reaktionen der Musterzubereitung für die chromatographische Trennung nicht völlig quantitativ verlaufen.

In die Redaktion eingelangt den 18. 9. 1958

LITERATÚRA

1. Bayer E., Reuther K. H., *Papierchromatographische Analyse von Carbonsäure-ester-Gemische sowie deren Anwendung zur Untersuchung von Aromastoffen*, Angew. Chem. 68, 698—701 (1956). — 2. Bergmann F., Segal R., *The Separation and Determination of Micro-quantities of Lower Aliphatic Acids, Including Fluoroacetic Acid*, Biochem. J. 62, 542—546 (1956). — 3. Block R. J., Durrum E. L., Zweig G., *A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis*, New York 1955. — 4. Boer T. J., Backer H. J., *Organic Syntheses* 34, 24, 96 (1954). — 5. Brown F., *Separation of the Lower Fatty Acids as Anions by Paper Chromatography*, Biochem. J. 47, 598—600 (1950). — 6. Fink K., Fink R. M., *Application of Filter Paper Partition Chromatography to Qualitative Analysis of Volatile and Non-volatile Organic Acids*, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 70, 654—656 (1949). — 7. Friedmann T. E., *The Identification and Quantitative Determination of Volatile Alcohols and Acids*, J. Biol. Chem. 123, 161—184 (1938). — 8. Guillaume J., Osteux R., *Détermination des acides aliphatiques volatils des C₁ à C₆ dans les liquides biologiques par chromatographie sur papier*, Compt. rend. 241, 501—502 (1955). — 9. Halama D., *Automatický registračný fotometer*, Chem. zvesti 13, 254—264 (1959). — 10. Kennedy E. P., Barker H. A., *Paper Chromatography of Volatile Acids*, Anal. Chem. 23, 1033—1034 (1951).
11. Lebert F., Tardieux P., *Technique d'isolement et de détermination des bactéries anaérobies*, Paris 1952. — 12. Lind C., 1955; cit. Dierssen G. A., Holtegaard K., Ienssen B., Rosen K., *Volatile Carboxylic Acids in Molasses and Their Inhibitory Action on Fermentation*, Internat. Sugar J. 58, 35—39 (1956). — 13. Lindquist B., Storgårds T., *Paper Chromatographic Separation of Volatile Acids. A Study of a Number Factors Involved*, Acta Chem. Scand. 7, 87—96 (1953). — 14. Lindquist B., Storgårds T., Göransson M.-B., *Determination of the Volatile Fatty Acids in Cheese by Means of Paper Chromatography*, Proc. XIIIth Int. Dairy Congress III, 1250—1253 (1953). — 15. Lipmann F., Tuttle L. C., J. Biol. Chem. 159, 21 (1945). — 16. Metge G., *Laboratoriumsbuch für Agrikulturchemiker*, Halle (Saale) 1951. — 17. Michalec Č., osobné oznámenie, 1955. — 18. Ritter W., *Der Nachweis der flüchtigen Fettsäuren*, Milchwissenschaft 10, 122—127 (1955). — 19. Rozengart M. I., *Technika laboratorní destilace a rektifikace*, Praha 1953. — 20. Šefčík V., *Úvod do biochemické analyzy mikroorganismů*, Praha 1954. —
21. Thompson A., *Separation of Saturated Mono-hydroxamic Acids by Partition Chromatography*, Australian. J. Sci. Res. 1954, B 4, 180—186 (1954). — 22. Vogel A. I., *A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis*, London—New York 1948.

Došlo do redakcie 18. 9. 1958

Adresa autora:

Inž. Dušan Halama, Bratislava, Kollárovo nám. 2, Chemický pavilón.