

Bestimmung der Jodzahl mit Hilfe eines kombinierten Nomogrammes und Ergebnisse der Analysen von Fettsäuren mittels Verteilungs-Gaschromatographie

^aV. KOMAN und ^bE. DANIELOVÁ

^a*Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie und Biochemie
der Slowakischen Technischen Hochschule,
880 37 Bratislava*

^b*Lehrstuhl für Mathematik und Deskriptive Geometrie der Maschinenbau-Fakultät,
880 31 Bratislava*

Eingegangen am 15. Februar 1973

Es wird ein Verfahren zur Bestimmung der Jodzahl von Fetten und Ölen, bzw. von anderen Lipiden unter Anwendung der Werte ihrer ungesättigten Fettsäuren angeführt, die mit Hilfe der Verteilungs-Gaschromatographie und durch anschließende Ablesung aus einem Nomogramm erhalten wurden. Das Nomogramm wurde zu diesem Zweck aufgestellt. Die Jodzahl kann mit einer Genauigkeit von 0,5 Einheit abgelesen werden. Die Geschwindigkeit und Genauigkeit der Jodzahl-Bestimmung entspricht denjenigen der chromatographischen Analyse eines Fettsäure-Gemisches unter den Bedingungen der Anwendung von Mikromengen der untersuchten Probe.

The determination of the iodine number of triglyceridic fats and oils or other lipids using the results obtained by the determination of unsaturated fatty acids by gas chromatography and by subsequent reading from a nomogram is presented. The nomogram constructed for this purpose enabled the determination of the iodine number with the accuracy of 0.5 unit. The rate and the accuracy of the iodine number determination corresponds to the accuracy of chromatographic analysis of the mixture of fatty acids when using a microamount of the investigated sample.

Bei der industriellen Produktion und Verarbeitung von Fetten und in der Fettstoff-Forschung ist auch heute noch die Jodzahl (weiter nur JZ) eine der bedeutendsten und meistverwendeten enometrischen (die Doppelbindungszahl messenden) Kennzahlen.

Die experimentelle Bestimmung der JZ, die im wesentlichen auf der Addition von Halogenen an die Doppelbindungen der ungesättigten Fettsäuren (UFS) beruht, hatte betreffs der Genauigkeit, Geschwindigkeit, bzw. der Probemenge, einige Begrenzungen. Deswegen hat eine Reihe Autoren im Laufe der Zeit viele Modifikationen für die Bestimmung der JZ vorgeschlagen und ausgearbeitet. Z. B. *Margosches* und Mitarbeiter [1] haben eine Schnellmethode der JZ-Bestimmung, *Rosenmund* und Mitarbeiter [2] eine Mikromethode zur JZ-Bestimmung ausgearbeitet, *Kaufmann* und Mitarbeiter [3] und *Baltes* mit Mitarbeitern [4] haben Verfahren zur Erhöhung der Genauigkeit der JZ-Bestimmung angeführt.

Eine sehr umfangreiche Zusammenstellung von Autoren und eine Übersicht der JZ-Bestimmungsverfahren, die 140 Literatur-Hinweise enthält, veröffentlichte unlängst *Pokorný* [5].

Der JZ-Wert ist der Ungesättigtheit des Fettes oder des Öles proportional, d. h. er ist der Menge der ungesättigten Fettsäuren und der in ihnen vorhandenen Doppelbindungen proportional. Die JZ ist also eine qualitativ-quantitativ additive Größe, die sämtliche ungesättigte Säuren, die in der untersuchten Probe vertreten sind, umfaßt.

Grün [6] führt an, daß man jede ungesättigte Fettsäure durch ihre theoretische JZ (TJZ) charakterisieren kann, wobei diese TJZ aus der Beziehung

$$TJZ = \frac{253,84 \cdot n \cdot 100}{M} \quad (1)$$

hervorgeht, wo

253,84 — die Jodmenge, die einer Doppelbindung entspricht,

n — die Zahl der Doppelbindungen,

M — das Molekulargewicht der ungesättigten Fettsäure bedeuten.

Betrachten wir die JZ als additiven Wert, bzw. als der Zahl der Doppelbindungen und deren Konzentration in der entsprechenden lipidischen Probe proportional, können wir für eine Fettstoffprobe, bei der wir quantitativ die prozentuale Vertretung der einzelnen ungesättigten Fettsäuren kennen (oder bestimmt haben), die folgende mathematische Formulierung anwenden

$$TJZ = \frac{(\% A \cdot TJZ A) + (\% B \cdot TJZ B) + \dots}{100}, \quad (2)$$

wo A , B die theoretischen JZ-Werte der einzelnen ungesättigten Fettsäuren, bzw. die prozentuale Vertretung dieser Säuren in der Probe bedeuten.

Demnach wird dann der Ausdruck der Genauigkeit der theoretischen JZ eines Gemisches ungesättigter Fettsäuren eines Lipids der Genauigkeit proportional sein, mit der man die einzelnen ungesättigten Fettsäuren im untersuchten Gemisch zu bestimmen imstande ist.

Sowohl für die quantitative Bestimmung, als auch für die qualitative Unterscheidung der Fettsäuren kann man heute fast eindeutig die Methode der Verteilungs-Gaschromatographie als die am besten geeignete bezeichnen. Nach der qualitativen und quantitativen Definierung der ungesättigten Fettsäuren kann man die TJZ der Probe entweder direkt aus den Tabellen, die man für jede ungesättigte Fettsäure mit beliebiger Genauigkeit zusammenstellen kann [7], ablesen, oder aus einem geeigneten Nomogramm extrapolieren. Die zuletzt erwähnte Möglichkeit der Bestimmung der TJZ triglyzeridischer Fette und Öle, bzw. anderer Lipide, ist Gegenstand dieser Mitteilung.

Experimenteller Teil

Konstruktion des kombinierten Nomogrammes zur Ablesung der TJZ

Das Nomogramm wurde in zwei Teilen entworfen. Der eine Teil ist ein Netznomogramm, welches die Beziehung (1) darstellt, d. h.

$$TJZ = \frac{25384}{M} \cdot n.$$

Es wurde dabei so verfahren, daß man auf die x -Achse die Skala

$$x = m_1 \cdot M \quad (3)$$

aufgetragen hat. Der Modul (Maßstab) wurde dabei 1 mm gewählt und die Veränderliche M wurde im Intervall $\langle 150; 450 \rangle$ dargestellt; zur bequemen Handhabung wurde dieser Maßstab auf dem oberen Rand des Netznomogrammes noch einmal aufgetragen.

Auf der Parallele mit der y -Achse, die durch den Punkt $M = 450$ hindurchgeht, wurde der Maßstab

$$y = m_2 \cdot \text{TJZ} \quad (4)$$

aufgetragen. Dazu wurde der Modul $m_2 = 2$ mm gewählt und die Veränderliche TJZ wurde im Intervall $\langle 0; 370 \rangle$ dargestellt.

Durch Einführung der Beziehungen (3) und (4) in die Beziehung (1) bekam man nach Umformung den Ausdruck

$$y = \frac{25384 m_1 \cdot m_2}{x} \cdot n. \quad (5)$$

In der Beziehung (5) erscheint also die Veränderliche n als Hyperbel. Für die Konstruktion des Nomogrammes zur Ablesung der TJZ wurden vier Hyperbeln gewählt und eingezeichnet, die ungesättigte Fettsäuren mit einer bis vier Doppelbindungen im Molekül darstellen, d. h. für $n = 1$, $n = 2$, $n = 3$ und $n = 4$.

Als erste Skala des Nomogrammes wurde die Skala $y = m_2 \cdot \text{TJZ}$ gesetzt, welche den rechten Rand des Netznomogrammes darstellt. Zu diesem Maßstab wurde dann die Skala $x = m_3 \cdot p \%$ angeschlossen; dazu wurde ein schiefwinkliges Koordinatensystem gewählt, es wurde der Maßstab $m_3 = 4$ mm verwendet und die Veränderliche p wurde im Bereich $\langle 0\%; 100\% \rangle$ dargestellt.

Analysenbedingungen für Fettsäuren mittels Verteilungs-Gaschromatographie

Für die chromatographischen Analysen der Fettsäuren wurde der Gaschromatograph Research Chromatograph Hewlett—Packard 7620 A mit Zweikolonnen-System mit Flammenionisationsdetektoren verwendet. Die Kolonnen waren aus rostfreiem Stahl, 185 cm lang, Durchmesser 2 mm, gefüllt mit durch Säure und Dichlordimethylsilan desaktiviertem Cellit der Körnung 0,12—0,15 mm (100—120 mesh) als Träger, mit 10% der Flüssigphase DÄGS. Als Trägergas wurde Stickstoff verwendet, wobei experimentell als optimaler Durchfluß 16,44 ml/min. festgestellt wurde. Die übrigen Arbeitsbedingungen der chromatographischen Analyse der Fettsäuren waren folgende:

Temperatur des Kolonnenraumes von 100—215°C bei linearem Temperaturprogramm 8°C/min.

Temperatur des Flammenionisationsdetektors 270°C.

Temperatur der Einspritzkammer 280°C.

Empfindlichkeit des Elektrometer-Verstärkers $1 \cdot 10^4$ mV der Gesamtampfindlichkeit.

Die Menge der eingespritzten Probe mittels Hamilton-Spritze HS war 0,05 bis 0,25 μl des konzentrierten Gemisches der Fettsäure-Methylester.

Für die Analysen wurden vier Proben von Pflanzenölen gewählt und verwendet, die verschiedene ungesättigte Fettsäuren mit 1—3 Doppelbindungen in den Molekülen enthalten. Es waren: Kokosfett, welches Ölsäure, $n = 1$, enthält, Sonnenblumenöl, Öl- und Linol-Säure, $n = 1$ und $n = 2$ enthaltend, Leinöl, Öl-, Linol- und Linolen-

-Säure, $n = 1$, $n = 2$ und $n = 3$, enthaltend und Rapsöl, welches drei ungesättigte Fettsäuren mit einer Doppelbindung, $n = 1$, und zwar Öl-, Eicosen- und Eruca-Säure, und zwei Polyensäuren: Linolsäure, $n = 2$, und Linolensäure, $n = 3$, enthält.

Die Methylester der Fettsäuren wurden aus den Triglyzeriden der angeführten Proben von Pflanzenölen durch direkte Umesterung nach *Peisker* [8] hergestellt.

Die qualitative Identifizierung der einzelnen Fettsäuren im Chromatogramm wurde mit Hilfe von Palmitinsäure als Standard, bzw. aus den relativen Retentionsverhältnissen der einzelnen Peaks relativ zur Palmitinsäure [9] vorgenommen.

Die Werte der Retentionszeiten in Minuten, sowie die Mikrovoltsekunden-Angaben für die einzelnen chromatographischen Zonen wurden den automatisch gedruckten Aufzeichnungen des elektronischen Integrators Hewlett—Packard 3370 A entnommen, der auf folgende Bedingungen eingestellt war: 1 mV am Austritt für den Schreiber, 0,3 mV Empfindlichkeit der Neigung des steigenden und absteigenden Teils und 0,1 Sek. für die Wiedererreichung der Null-Linie.

Parallel mit der chromatographischen Analyse wurden bei den verwendeten Proben der Pflanzenöle auch direkte experimentale Bestimmungen der JZ unter Anwendung von Monobromjod-Lösung und einer 0,1 N Thiosulphat-Lösung nach *Hanus* [10] durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

Unter den im experimentellen Teil angeführten Bedingungen wurde das Nomogramm für die Ablesung der theoretischen JZ konstruiert und es ist in Abb. 1 angeführt. Das Nomogramm ist kombiniert und hat zwei Teile. Den linken Teil bildet eine Netztafel, welche die Beziehung (1) darstellt, auf der rechten Seite ist ein Nomogramm mit parallelen Indizes.

Wie man das kombinierte Nomogramm verwendet, zeigt der Schlüssel in seinem rechten oberen Teil: Auf der Skala der Molekulargewichte sucht man das Molekulargewicht der entsprechenden ungesättigten Fettsäure auf, von diesem Punkt aus führt man eine Parallele mit der y -Achse bis zur zugehörigen hyperbolischen Isoplethe mit der entsprechenden Doppelbindungszahl n ; die Parallele mit der x -Achse, die durch diesen Schnittpunkt geführt wird, zeigt auf der Skala der theoretischen JZ den Wert der theoretischen JZ an, die der ungesättigten Fettsäure mit der vorgegebenen Doppelbindungszahl und dem vorgegebenen Molekulargewicht entspricht.

Falls es sich um eine ungesättigte Fettsäure mit einer einzigen Doppelbindung im Molekül handelt, also $n = 1$, entspricht die gefundene theoretische JZ gleichzeitig auch der Rhodanzahl der entsprechenden Monoen-Säure.

Die Ablesungen entsprechender Werte der Veränderlichen M , n und TJZ für öfters vorkommende Fettsäuren sind im Nomogramm durch gestrichelte Linien gekennzeichnet (zur leichteren Orientierung).

Im rechten Teil des Nomogrammes geht man folgendermaßen vor: die gefundene theoretische Jodzahl einer bestimmten ungesättigten Fettsäure verbinden wir mit dem Punkt $p = 100\%$ und mit dieser Verbindungslinie führen wir eine Parallele durch den Punkt $p\%$, d. h. durch jenen Punkt, der anzeigt, welche prozentuelle Menge der entsprechenden ungesättigten Fettsäure in der untersuchten Probe enthalten ist, bzw. experimentell gefunden wurde; im Schnittpunkt auf der Skala der JZ lesen wir dann den Wert der TJZ ab, die dem vorgegebenen prozentualen Gehalt der ungesättigten Fettsäure in der untersuchten Fett- oder Ölprobe entspricht. Sind in der untersuchten Probe mehrere ungesättigte Fettsäuren mit verschiedener Doppelbindungszahl anwesend,

was öfters vorkommt, so führt man die Ablesung aus dem Nomogramm nach dem oben-angeführten Verfahren für jede ungesättigte Fettsäure gesondert „per partes“ durch und die aus dem Nomogramm gefundenen Jodzahlen werden dann addiert, wodurch man den gesamten resultierenden Wert der TJZ der untersuchten Fettprobe im Einklang mit der Beziehung (2) bekommt.

Aus dem Angeführten kann man schließen, daß die Verlässlichkeit und Genauigkeit, mit der man bei dieser Konzeption der Ermittlung der Jodzahlen rechnen kann, proportional der Genauigkeit, Empfindlichkeit, bzw. der Art der Bestimmung der qualitativen und quantitativen Verhältnisse der ungesättigten Fettsäuren in der vorliegenden lipidischen Probe sein wird. Die genaue qualitative Definierung der ungesättigten Fettsäuren ist deshalb unerlässlich, da es sich um den Determinanten des Molekulargewichtes handelt, welches auf der x -Achse aufgetragen, bzw. abgelesen wird und von diesem Wert aus wird dann der Schnittpunkt auf der entsprechenden hyperbolischen Isoplethe gesucht. Ebenso wichtig und bestimmend ist in diesem Zusammenhang die Angabe über die quantitative Vertretung der ungesättigten Fettsäuren.

Vom experimentellen Standpunkt bieten beide diese für das Gebiet der Fettsäuren unerlässlichen Informationen die Methode der Verteilungs-Gaschromatographie, die man zur Zeit für eine der am meisten verwendeten und wirksamsten Trennungsmethoden überhaupt halten kann. Die qualitative Identifizierung der ungesättigten Fettsäuren kann man — ähnlich wie im Falle anderer Typen organischer Substanzen — mit genügender Genauigkeit mit Hilfe eines der folgenden Verfahren, bzw. ihrer Kombination durchführen: aus den Retentionsdaten bekannter Stoffe, die als Standard verwendet werden; aus dem relativen Verhältnis der Retentionszeiten zum Retentionsverhalten eines bekannten homologischen Gliedes [11]; durch Extrapolation aus den Diagrammen der Abhängigkeit Log der Retentionszeit von der Zahl der Kohlenstoffatome bzw. von der Doppelbindungszahl [12]; durch chromatographische Analyse des untersuchten Gemisches von Fettsäuren an zwei Kolonnen mit polarer und nichtpolarer flüssiger immobilisierter Phase [12]; mittels des Äquivalentes der Länge der Kohlenstoff-Kette [13, 14]; mittels der Retentionsindizes nach Kováts [15]; gegebenenfalls nach vorhergehender chemischer Behandlung der Probe, z. B. durch Hydrierung [16].

Die genaueste quantitative Auswertung der chromatographischen Zonen, inbegriffen der Fettsäuren, wird durch Anwendung eines elektronischen Integrators [17] erreicht.

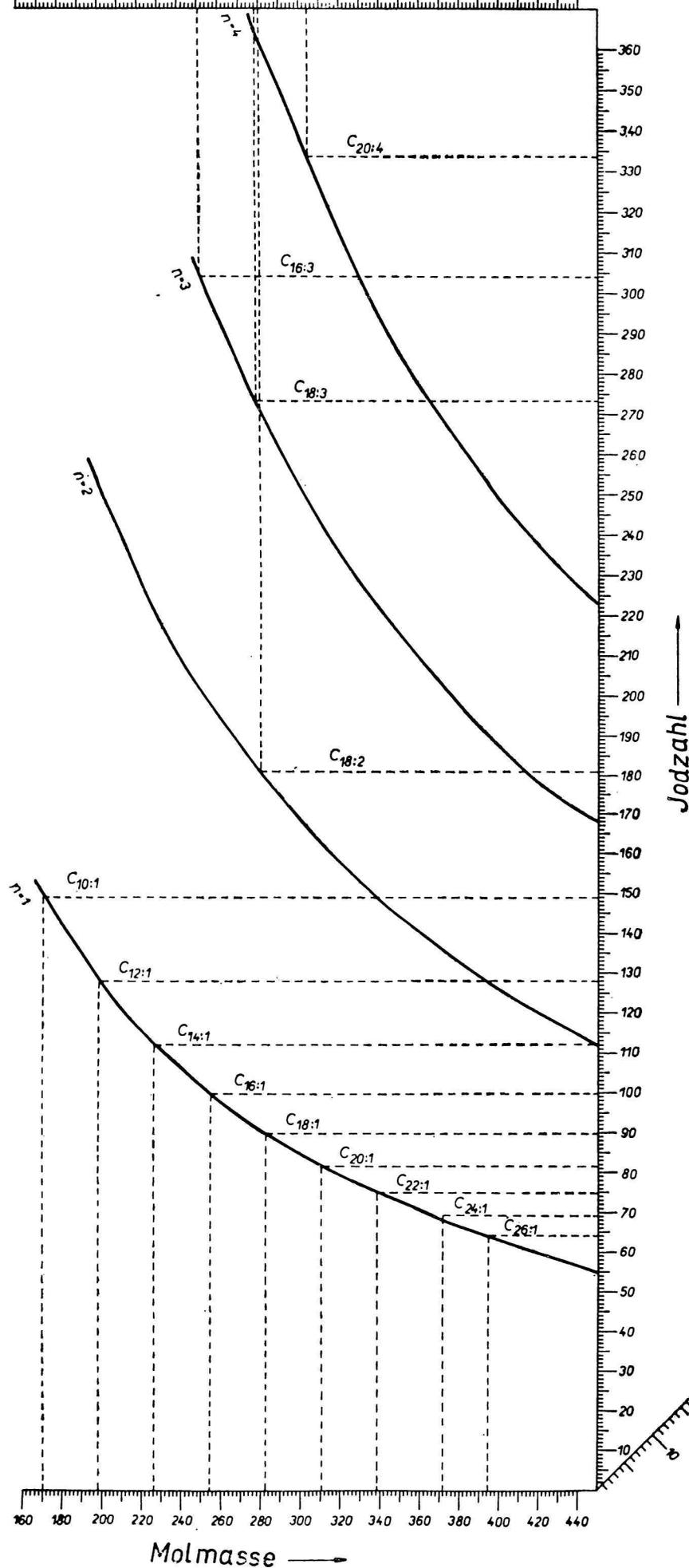
Die eigentliche Bestimmung der Jodzahlen unter Anwendung des kombinierten Nomogrammes und der chromatographisch ermittelten Daten über die ungesättigten Fettsäuren sind mit Resultaten der Analysen der verwendeten Proben von Kokosfett, Sonnenblumen-, Lein- und Raps-Öl ergänzt. Die resultierenden Daten über die quantitative Verteilung der Fettsäuren sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die aus dem kombinierten Nomogramm unter Anwendung der Prozentwerte der ungesättigten Fettsäuren aus Tabelle 1 abgelesenen Jodzahlen sind in Tabelle 2 angeführt. Zum Vergleich sind in Tabelle 2 auch die JZ-Werte angeführt, die mittels der klassischen Methode nach Hanuš bestimmt wurden, sowie auch die JZ-Werte, die für die angewendeten Fettsorten-Proben den Fettchemie-Tabellen entnommen wurden [10].

Aus dem Vergleich der Resultate ist ersichtlich, daß die durch die beschriebene Kombination der chromatographischen Analyse mit dem Nomogramm ermittelten JZ-Werte sehr gut mit den Ergebnissen der klassischen titrimetrischen Bestimmung übereinstimmen und mit Ausnahme des Kokosfettes liegen die gefundenen Werte auch im Bereich der Jodzahlen, die für die gewählten Triglyzerid-Proben der Pflanzenöle in Tabellen angeführt sind.

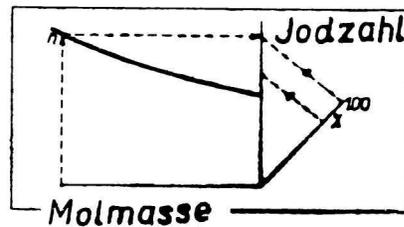
Zur Ergänzung des Standpunktes wurde eine größere Anzahl Ablesungen von Jod-

Molmasse →

160 180 200 220 240 260 280 300 320 340 360 380 400 420 440



Schlüssel



Molmasse →

Abb. 1. Kombiniertes Nomogramm zur Ablesung der Jodzahlen nach den Angaben der Vertretung ungesättigter Fettsäuren.

Tabelle 1

Zusammensetzung der Fettsäuren in den untersuchten Pflanzenöl-Proben, mittels Verteilungs-Gaschromatographie bestimmt

Fettsäure	% Fettsäure im Öl			
	Kokos-	Sonnenblumen-	Lein-	Raps-Öl
$C_8H_{16}O_2$	7,48	—	—	—
$C_{10}H_{20}O_2$	6,23	—	—	—
$C_{12}H_{24}O_2$	50,31	—	—	—
$C_{14}H_{28}O_2$	20,07	—	—	—
$C_{16}H_{32}O_2$	8,51	7,06	8,77	3,84
$C_{16}H_{30}O_2$	—	—	—	0,32
$C_{18}H_{36}O_2$	2,76	9,41	5,67	1,49
$C_{18}H_{34}O_2$	4,64	23,33	21,98	14,77
$C_{18}H_{32}O_2$	—	56,66	12,26	15,12
$C_{18}H_{30}O_2$	—	2,10	51,32	6,29
$C_{20}H_{38}O_2$	—	—	—	9,44
$C_{22}H_{42}O_2$	—	—	—	47,93

Tabelle 2

Vergleich der mittels verschiedener Methoden bestimmten Jodzahlen

Öl	JZ nach Hanuš	JZ — Tabellenwert	JZ aus dem Nomogramm
Kokosöl	4,20	7,5— 10,5	4,9
Sonnenblumenöl	129,55	125 — 136	129,8
Leinöl	181,55	170 — 204	183,5
Rapsöl	103,55	97 — 108	104,0

zahlen aus dem kombinierten Nomogramm mit Hilfe von Angaben über die Zusammensetzung der Fettsäuren vorgenommen, die für die einzelnen pflanzlichen und tierischen Fette in Tabellen zu finden sind. Für diese Überprüfung der Gültigkeit des Nomogrammes wurden Tabellen-Mittelwerte für die ungesättigten Fettsäuren verwendet. Eine Zusammenfassung der Angaben und Ergebnisse sind in Tabelle 3 angeführt.

Auf Grund dieser Ergebnisse kann man voraussetzen, daß die auf die beschriebene indirekte Weise abgeleiteten Jodzahlen, besonders auf dem Gebiet der Triglyzerid-Fette und Öle, mit anderen Verfahren und Methoden der Jodzahlbestimmung korrelierbar sein werden. Bestimmte Abweichungen in den Werten der JZ kann man in den Fällen bzw. bei denjenigen Lipid-Proben erwarten, wo außer der ungesättigten Fettsäure auch eine andere Komponente Jod-addierende Doppelbindungen enthalten wird, wie dies z. B. bei dem ungesättigten Aminoalkohol Sphingosin in den Sphingosinphosphoaminolipiden oder beim Zyklopentanperhydrophenanthren-Kern der Sterole und deren Estern der Fall ist.

Die Anwendbarkeit des konstruierten Nomogrammes für die Ermittlung der Jodzahlen, wie es in Abb. 1 angeführt ist, beschränkt sich nur auf die Anwesenheit von ungesättigten Fettsäuren mit der höchsten Doppelbindungszahl $n = 4$, bzw. auf die Arachidonsäure. Deshalb kann man im Falle der qualitativen und quantitativen Be-

Tabelle 3

Vergleich der JZ-Tabellenwerte in einigen tierischen und pflanzlichen Fetten mit den JZ-Werten, die dem Nomogramm unter Anwendung der Tabellen-Mittelwerte ungesättigter Fettsäuren entnommen wurden

Öl	Tabellen-JZ	JZ aus dem Nomogramm
Babassöl	14 — 18	15,5
Teesamenöl	80 — 90	88,5
Senföl	94 — 106	95,0
Kapoköl	86 — 110	103,5
Maiskeimöl	103 — 128	114,5
Kokosöl	7,5 — 10,5	6,2
Haselnußöl	83 — 90	84,5
Leinöl	170 — 204	185,2
Mohnöl	130 — 140	136,5
Mandelöl	93 — 105	101,5
Olivenöl	80 — 88	85,0
Nußöl	140 — 160	152,0
Palmkernöl	14 — 23	19,0
Palmöl	44 — 54	53,5
Klauenöl	69 — 76	71,0
Perilla-Öl	193 — 208	204,5
Erdnußöl	84 — 100	92,5
Sesamöl	103 — 116	115,0
Sonnenblumenöl	125 — 136	135,0
Soja-Öl	120 — 141	128,0
Saphloröl	140 — 150	150,0
Ucuhuba-Öl	13 — 16	13,0
Bayberry-Öl	1 — 4	1,2
japanisches Öl	5 — 17	11,0
Kakaobutter	35 — 40	40,0
Gänsefett	68 — 72	64,5
chinesischer Pflanzentalg	20 — 29	24,0
Rindertalg	40 — 48	47,5
Hammeltalg	35 — 46	45,0
Knochenfett	48 — 56	56,0

stimmung von Pentaen- ($n = 5$) und Hexaen ($n = 6$) -Fettsäuren die Gesamt-JZ durch Einsetzen der Analyse-Ergebnisse in die Beziehung (2) nachrechnen.

Im Ganzen ist aber das Verfahren der indirekten JZ-Bestimmung unter Anwendung der chromatographischen Analyse den wichtigsten Ansprüchen der Gegenwart entsprechend, zur Analyse genügen tatsächlich Mikromengen der Substanz, wobei die Geschwindigkeit und Genauigkeit der Bestimmung in guter Beziehung stehen.

Wir danken Ing. A. Malinová für die Mitarbeit und M. Bystrická für ihre Hilfe bei der technischen Durchführung der Arbeit.

Literatur

1. Margosches, B. M., Hinner, W. und Friedman, L., *Z. Angew. Chem.* **37**, 334 (1924).
2. Rosenmund, K. W. und Kuhnenn, W., *Ber.* **56**, 1262 (1923).
3. Kaufmann, H. P. und Baltes, J., *Ber.* **70**, 2537 (1937).
4. Baltes, J. und Hiller, A., *Fette, Seifen, Anstrichm.* **56**, 371 (1954).

5. Pokorný, J., *Chem. Listy* **66**, 22 (1972).
6. Grün, A., *Analyse der Fette und Wachse, I*, S. 183. Springer-Verlag, Berlin 1925.
7. Koman, V. und Smítalová, J., unveröffentlichte Ergebnisse, 1969.
8. Peisker, K. V., *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **41**, 87 (1964).
9. Burchfield, H. P. und Stors, E. E., *Biochemical Application of Gas Chromatography*, S. 549. Academic Press, New York 1962.
10. *Einheitliche analytische Methoden: Tuky* Nr. 11, MPP, Prag 1956. (MPP = Ministerium der Lebensmittel-Industrie.)
11. James, A. T., *J. Chromatogr.* **2**, 552 (1959).
12. James, A. T., *Method of Biochemical Analysis*, Vol. **8**, S. 1–60. Interscience, New York 1960.
13. Miwa, T. K., Mikolajczak, K. L., Earle, F. R. und Wolf, I. A., *Anal. Chem.* **32**, 1739 (1960).
14. Hofstetter, H. H. und Holman, N., *J. Amer. Oil. Chem. Soc.* **42**, 537 (1965).
15. Kováts, E., *Helv. Chim. Acta* **41**, 1915 (1958).
16. Koman, V., *J. Chromatogr.* **45**, 311 (1969).
17. McNair, H. M. und Bonelli, E. J., *Basic Gas Chromatography*, S. 214. Printed in USA, Copyright 1967 by Varian Aerograph.

Übersetzt von M. Čiha