Ablaufbeschreibung

Vorgang

- Stellung des Dezimalrades: 3
1. Programmkarte b1 durchlaufen lassen.
 2. Taste 'Z' drücken.
 3. Eichwert I₀ eintasten.
 4. Taste 'S' drücken.
 5. Schritte 3 u. 4 mit I₁, I₂, I₃, I₄, I₅ wiederholen. Anschließend Programm b2 durchführen. Nicht die Lösch taste drücken!
 6. Programmkarte b2 durchlaufen lassen.
 7. Taste 'W' drücken.
 8. Patienten-Nr. eintasten.
 9. Taste 'S' drücken.
 10. Die Analysen-Nummer wird mit $\diamond$ ausgedruckt.
 11. Meßwert 'I' eintasten.
 12. Taste 'S' drücken.
 13. Das Ergebnis wird mit A $\diamond$ ausgedruckt.
 14. Schritte 8—13 mit weiteren Meßwerten I wiederholen.

Beispiel

Z S
20 S
25 S
31,8 S
40,5 S
49,7 S
62,6 S
W
123456 S
1234,000 $\diamond$
20 S
0,000 A $\diamond$
S
321456 S
1234,000 $\diamond$
24 S
40,000 A $\diamond$
S
362514 S
1234,000 $\diamond$
30,1 S
87,500 A $\diamond$
S
251436 S
1234,000 $\diamond$
35,7 S
122,400 A $\diamond$
S
142536 S
1234,000 $\diamond$
40,5 S
150,000 A $\diamond$
S
365214 S
1234,000 $\diamond$
45,6 S
177,700 A $\diamond$
S
415263 S
1234,000 $\diamond$
49,7 S
200,000 A $\diamond$

Programmbefehle

Die Befehle sind spaltenweise von oben nach unten zu lesen

Register M, A, R Operanden

Register B/, B, C/, C, D/, D, R Speicherungen

Register E/, E, F/, F Befehle

				b1			
A	Z	S		c	$\uparrow$	S	D
	S		B	$\uparrow$	S		R
b	$\uparrow$	S		C	$\uparrow$	S	Z
				b2			
A	W	B	$\downarrow$	a	$\uparrow$	M	+
R	S	M	—	d	$\downarrow$	M	Z
A	V	M	$\uparrow$	M	+	a	Y
/	$\diamond$	b	$\uparrow$	M	Z	C	+
M	S	M	:	a	W	d	—
a	$\uparrow$	M	Z	c	+	/	Z
r	+	a	V	C	—	d	+
R	$\uparrow$	B	+	/	Y	C	—
R	$\uparrow$	c	—	C	+	C	$\downarrow$
D	$\downarrow$	/	W	c	—	d	$\downarrow$
M	$\diamond$	c	+	c	$\downarrow$	M	—
M	S	B	—	C	$\downarrow$	M	$\uparrow$
M	$\downarrow$	B	$\uparrow$	M	—	C	$\uparrow$
B	—	c	$\downarrow$	M	$\uparrow$	M	:
/	V	M	—	c	$\uparrow$	a	$\uparrow$
B	+	M	$\uparrow$	M	:	d	$\uparrow$
B	—	B	$\uparrow$	a	+	M	+
b	$\uparrow$	M	:	d	$\uparrow$	M	Z

Literatur

1. ZURMÜHL, R., Praktische Mathematik 5. Auflage, S. 339, Springer Berlin (1965).

Dr. K. Borner
1 Berlin 45, Klingsorstr. 95a
Klinikum der Freien Universität

Papierchromatographische Untersuchungen von zur Anfärbung von Elektropherogrammen benutzten Farbstoffen

I. Mitteilung zur Methodik der Serumelektrophorese

Von V. BUSSE

Aus dem Institut für Angewandte Physiologische Chemie und Klinische Chemie der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. H.-J. Dulce)

(Eingegangen am 13. März 1968)

Herrn Prof. Dr. Dr. Ernst Schütte zum 60. Geburtstag gewidmet

Nur Ponceau S ist ein chromatographisch einheitlicher Farbstoff und zur Anfärbung von Elektrophoresestreifen geeignet. Amidoschwarz 10B, Azokarmin G und B, Neucocin, Bromphenolblau und Nigrosin enthalten Begleitfarbstoffe und erfüllen die an diese Methode gestellten Forderungen nicht.

Die Farbstofftrennungen wurden in 30 verschiedenen Fließmittelsystemen durchgeführt. Es wurden 3 für die Trennung besonders geeignete Systeme angegeben. Die damit erhaltenen Farbstoffkomponenten werden durch R_F -Werte und Absorptionsmaxima charakterisiert.

Ponceau S is the only chromatographically pure dye, suitable for staining electrophoresis strips. Amido black 10B, azocarmine G and B, neucocin, bromophenol blue and nigrosin contain impurities and do not satisfy the requirements of the method. The dyes were resolved in 30 different solvent systems. Three systems are reported, which are especially suitable. The dye components thus obtained were characterised by R_F and absorption maxima.

Zum Sichtbarmachen und zum Auswerten von elektrophoretisch aufgetrennten Serumproteinen werden Farbstoffe verwendet. Sollen die durch Elution oder automatische Extinktionsschreibung ermittelten Farbstoffkonzentrationen quantitativ reproduzierbar sein, müssen diese Farbstoffe bestimmte Forderungen erfüllen:

1. Schnelle und durchdringende Färbung aller Proteine
2. Schnelle und gründliche Auswaschbarkeit des nicht an Protein gebundenen Farbstoffs
3. Lineare stöchiometrische Beziehung zwischen Farbstoffbindung und Eiweißgehalt

Diese Forderungen erfüllt ein einheitlicher Farbstoff am besten.

Zum Anfärben von Papierelektrophoresestreifen werden die Farbstoffe Amidoschwarz, Azokarmin, Ponceau S, Bromphenolblau (1—4) sowie Neucoccin (5) und Nigrosin (3) verwendet. Bei Untersuchungen der Farbstoffbindung an einzelne Serumproteine fiel uns

jedoch die unterschiedliche Anfärbbarkeit ein und derselben Fraktion auf (6). Es lag der Gedanke nahe, diese Unregelmäßigkeiten auf uneinheitliche Farbstoffe zurückzuführen.

Literaturangaben über Reinheitsuntersuchungen dieser Farbstoffe sind lückenhaft und widersprüchlich. So wird in den Mitteilungen der Farbstoffkommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft

Tab. 1 Verzeichnis der untersuchten Farbstoffe

Farbstoff	Synonyma	Charge	S. Nr. ⁽¹⁾	C. I. Nr. ⁽²⁾	Mol. Gew.	Herkunft
Neucoccin	Cochenillerot Brillantscharlach Ponceau P 4R Viktoriascharlach 4R extra	24088 25803 26756 30662	213	16255	604,04	Agfa Lever- kusen

Ponceau S extra	Echtponceau 2B		573	27195	760,0	Serva Heidel- berg

Amidoschwarz 10B	Naphtolblauschwarz Kresolblauschwarz Azodunkelblau S	422158 7306909 6221612	299	20470	616,09	E. Merck Darm- stadt

Azokarmin G	Rosindulin GFX (Disulfosäure)	5299371 7405390 831504	949	50085	601,18	E. Merck Darm- stadt
Azokarmin B ¹⁾	Rosindulin 2B bläulich (Trisulfosäure)		948	50084	704,13	Chroma Stutt- gart

					Stellung der Sulfogruppen unbekannt	
Nigrosin wasserlöslich	Indulinschwarz Echtblau Schwarz O		986	50420		Chem. Fabrik Kepek, Siegburg

					Grundstruktur nach (21) Summen- u. Strukturformel unbekannt	
Bromphenolblau	Tetrabromphenol- blau	431865 7353332			669,99	E. Merck Darm- stadt

¹⁾ nicht mehr im Handel erhältlich

(7) die Auftrennung von Neucoccin in einen Hauptfarbstoff und drei Nebenflecken beschrieben. BARROLIER (8) fand ebenfalls eine orangegelbliche Nebenzone bei Neucoccin. Andere Autoren bezeichnen Neucoccin als einheitlich (9–13).

Amidoschwarz verschiedener Hersteller wurde von KOLŠEK (14) und ODEBRECHT (15) untersucht. Beide Autoren fanden bis zu drei Fraktionen in diesem Farbstoff, während von GÄNSHIRT und Mitarbeitern (10) und GRASSMANN (16, 17) Amidoschwarz in Dünnschichtchromatographie bzw. kontinuierlicher Elektrophorese als einheitlich betrachtet wird.

Nach den Beobachtungen von ABDEL-WAHAB und Mitarbeitern (18) läßt sich auch Azokarmin elektrophoretisch in zwei Zonen auftrennen.

Ziel dieser Arbeit war es daher, die zum Anfärben von Serumelektrophoresestreifen gebräuchlichen Farbstoffe papierchromatographisch auf ihre Reinheit zu untersuchen.

Material und Methoden

Die untersuchten Farbstoffe sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Es wurde auf Whatman-Papier No. 1 (18 × 28 cm) chromatographiert. Von 30 getesteten Fließmittelsystemen wurden zur endgültigen Trennung verwandt:

L₁: n-Butanol: Pyridin: Wasser = 1:1:1 (v/v)

L₂: n-Propanol: 25proz. NH₃ = 2:1 (v/v)

L₃: Essigester: Pyridin: Wasser = 35:25:20 (v/v).

Das Gemisch Butanol-Pyridin-Wasser wurde erst 3–4 Tage nach dem Ansetzen benutzt. Von den Farbstoffen wurden 1proz. wäsr. Lösungen bereitet. Die Chromatographie erfolgte aufsteigend bei 23–24°. Nach Ermittlung der R_F-Werte aus der Front des Lösungsmittels und der Front der Farbflecke wurden Haupt- und Nebenflecke in Wasser eluiert und die Absorptionsspektren im registrierenden Spektralphotometer (RPQ 20A Zeiss) aufgezeichnet.

Ergebnisse

In 30 Fließmittelsystemen erwies sich Ponceau S als einheitlich. Alle anderen Farbstoffe enthielten deutliche Verunreinigungen.

Die Beobachtungen SRAMEKS (2), daß die Wanderungsgeschwindigkeit der Farbstoffe mit steigender Anzahl ihrer Sulfo- und Azogruppen abnimmt, wird in unseren Untersuchungen bestätigt. So wandert Amidoschwarz in den meisten Fließmitteln bedeutend schneller als Ponceau S. In einigen Fließmitteln zogen die aufgetragenen Farben während der Chromatographie Schweiße vor oder meistens hinter sich her. Diese wurden nicht als Verunreinigungen angesehen, sondern nur deutlich ausgebildete Nebenflecken.

Neucoccin

Nach 5 Std. Chromatographiedauer im Fließmittel L₃ zeichnete sich bei allen untersuchten Chargen deutlich eine rote Haupt- von einer langsamer wandernden gelben Nebenfraction ab. R_F-Werte siehe Tabelle 2.

Die Spektralanalyse (Tab. 2) ergab für die rote Komponente eine der Ausgangslösung fast identische Kurve, während die gelbe Komponente dazu verschobene Maxima zeigte. Diese Verschiebung zeichnet sich deutlich in der Kurve der Ausgangslösung als kleine Schulter ab.

Tab. 2

Absorptionsmaxima von Neucoccin und seinen Komponenten. Trennung durch 5stdg. Chromatographie mit Essigester: Pyridin: Wasser = 35:25:20 (v/v)

	Charge	Farb- Qualität	R _F	Absorptionsmaxima in nm	
Neucoccin	alle	rot		504,0	330,0
Hauptfleck	24088	rot	0,40	504,0	330,0
	25803		0,40		
	26756		0,39		
	30662		0,39		
Nebenfleck	24088	zitronen- gelb	0,28	430,0	318,0
	25803		0,28		
	26756		0,28		
	30662		0,28		

Ponceau S

Es zeigte sich in allen Fließmitteln als einheitlicher Farbstoff, der in Essigester-Pyridin-Wasser (L₃) einen R_F-Wert von 0,35 hatte. Die Absorptionsmaxima lagen für Eluat und Ausgangsfarbstoff bei 515 und 319 nm.

Amidoschwarz

Es trennt sich bei allen Chargen im Fließmittel L₁ in drei Komponenten (Tab. 3): Eine mit der Lösungsmittelfront wandernde schmutziggelbe Zone, eine hellblaue und eine dunkelblaue Hauptzone. Die Absorptionsspektren sind unterschiedlich. Die erste Zone war nicht mit Wasser oder Chloroform eluierbar.

Tab. 3

Absorptionsmaxima von Amidoschwarz und seinen Komponenten. Trennung durch 6stdg. Chromatographie mit n-Butanol: Pyridin: Wasser = 1:1:1 (v/v)

	Charge	Farb- qualität	R _F	Absorptionsmaxima in nm			
Amido- schwarz	alle	schwarz- blau		614,0	443,0	397,5	320,8
Hauptfleck	422158	schwarz- blau	0,68	614,0	443,0	397,5	320,8
	6221612		0,68				
	7306909		0,68				
1. Neben- fleck	422158 6221612 7306909	hellblau	0,83 0,83 0,83	614,0			309,0
2. Neben- fleck	alle	braun	1,0	nicht eluierbar mit Wasser oder Chloroform			

Azokarmin

Azokarmin G trennte sich schon nach einmaligem Chromatographieren im Fließmittel L₂ in sechs, die Charge 831504 in fünf, Azokarmin B in vier verschieden wandernde Komponenten. Die mit der Lösungsmittelfront wandernde 1. orangegelbliche Zone ließ sich weder in Chloroform noch in Wasser eluieren; sie ist allen Chargen gemeinsam. Die Eluate zeigen z. T. deutliche Unterschiede in ihren Absorptionsmaxima (Tab. 4).

Nigrosin

Das wasserlösliche Nigrosin zeigt im Fließmittel L₁ ein ausgesprochen buntes und vielfältiges Chromatogramm. Es ist das Musterbeispiel eines völlig unzu-

reichenden „Elektrophoresefarbstoffes“. Den Hauptfarbstoff stellt ein dunkelviolettes Indulin dar (23). (Tab. 5).

Bromphenolblau

Die Charge 431865 spaltet sich nach 6 Stdn. Laufzeit im Fließmittel L₁ in eine mit der Lösungsmittelfront

wandernde hellblaue, eine kanariengelbe und eine blaue Hauptzone. Die Spektralanalyse der beiden Komponenten zeigt unterschiedliche Maxima (Tab. 6). Die Charge 7353332 trennt sich in eine hellblaue und violette Neben- und eine blaue Hauptfraktion, deren Absorptionsspektren identisch sind (Tab. 6).

Diskussion

Die Papierchromatogramme der zur Anfärbung von Elektrophoresestreifen gebräuchlichen Farbstoffe zeigen, daß mit Ausnahme von Ponceau S sämtliche Farbstoffe farbgebende Verunreinigungen enthalten.

Verschiedene Chargen der Farbstoffe haben eine unterschiedliche Zusammensetzung.

Die einzelnen Serumproteine können die verschiedenen Farbstoffkomponenten in unterschiedlichen stöchiometrischen Mengen binden (6), wodurch die quantitative Auswertung beeinflusst wird. Es ergibt sich als Konsequenz, entweder nur noch Ponceau S zu benutzen oder die Farbstoffe vorher an Cellulosepulversäulen oder im Soxhlet-Apparat zu reinigen, wie es schon KAWERAU (24) für Amidoschwarz vorschlägt. Auch KÖHN (3) betont die Bedeutung einheitlicher Farbstoffe, weil bereits geringe Verunreinigungen die Untergrundfärbung ganz entscheidend beeinträchtigen können. Von demselben Autor werden Amidoschwarz, Azokarmin, Bromphenolblau, Ponceau S und Nigrosin empfohlen, letzteres allerdings mit der Einschränkung, daß es für quantitative Untersuchungen weniger geeignet sei.

So erscheint es verwunderlich, wenn GRASSMANN (17) als Farbstoff neben Azokarmin und Amidoschwarz auch Bromphenolblau empfiehlt und selbst diesen Farbstoff papierchromatographisch in zwei Zonen trennte (gelb und blau). Diese Trennung kann weder in seinem noch in unserem Fließmittelsystem durch eine Dissoziation des Farbstoffs entstanden sein, da beide Gemische einen neutralen oder schwach alkalischen pH besitzen, der Umschlagspunkt von Bromphenolblau jedoch weit im sauren Bereich liegt.

Der Vergleich mit widersprüchlichen Literaturangaben wird erschwert durch die große Anzahl der Fließmittelsysteme. Unter 30 verschiedenen Fließmitteln gelang uns die Auftrennung von Neucocin und Amidoschwarz z. B. nur in einem einzigen System. Die negativen Versuchsergebnisse anderer Autoren mögen auf die Auswahl unzureichend trennender Fließmittel zurückzuführen sein. Es war weiter entscheidend wichtig, in welchem Verhältnis die einzelnen Komponenten des Lösungsmittelsystems zusammengegeben wurden. Das Alter eines Fließmittelsystems neben der Arbeitstemperatur genau anzugeben, hat sich als notwendig erwiesen, da uns die Darstellung von Nebenflecken erst gelang, wenn das Fließmittel 3–4 Tage alt war (25). Wir konnten die meisten Ergebnisse anderer Autoren nicht reproduzieren.

Ich danke Fräulein R. FÜRHOFF für ihre stets zuverlässige technische Assistenz.

Tab. 4

Absorptionsmaxima von Azokarmin und seinen Komponenten. Trennung durch 5stdg. Chromatographie mit n-Propanol: 25proz. NH₃ = 2:1 (v/v)

	Charge	Farb- qualität	R _F	Absorptionsmaxima in nm			
Azokarmin G	alle	karmin- rot		515,0	393,5	330,5	
Azokarmin B		karmin- rot		515,0	393,5	330,5	
1. Neben- fleck	G 5299371 G 7405390 G 831504 B	violett — —	0,22 0,22	542,0		330,5	
1. Haupt- fleck	G 5299371 G 7405390 G 831504 B	karmin- rot —	0,43 0,43 0,44		515,0	330,5	
2. Neben- fleck	G 5299371 G 7405390 G 831504 B	violett — —	0,50 0,50 0,50	542,0		320,0	
1. Haupt- fleck	B	karmin- rot	0,50		515,0	330,5	
2. Haupt- fleck	G 5299371 G 7405390 G 831504 B	karmin- rot —	0,72 0,72 0,72 0,74	515,0	393,5	330,5	
3. Neben- fleck	G 5299371 G 7405390 G 831504 B	orange — —	0,91 0,91 0,92 0,92				483,5
4. Neben- fleck	G 5299371 G 7405390 G 831504 B	rosa — —	1,0	nicht eluierbar mit Wasser oder Chloroform			

Tab. 5

Absorptionsmaxima von Nigrosin und seinen Komponenten. Trennung durch 4stdg. Chromatographie mit n-Butanol:Pyridin:Wasser = 1:1:1 (v/v)

	Farbqualität	R _F	Absorptionsmaxima in nm	
Nigrosin	schmutzigviolett		570,0	313,0
Frakt. 1	dunkelviolet	1,0	570,0	313,0
Frakt. 2	gelb	0,98		425,0
Frakt. 3	rot	0,95		408,0
Frakt. 4	rot	0,68	542,0	318,0
Frakt. 5	hellgrau	0,40	510,0	313,0
Frakt. 6	dunkelviolet	0,35	570,0	313,0
Frakt. 7	dunkelgrau	0,27	542,0	313,0
Frakt. 8	dunkelgrau	0,12	542,0	313,0

Tab. 6

Absorptionsmaxima von Bromphenolblau und seinen Komponenten. Trennung durch 6stdg. Chromatographie mit n-Butanol:Pyridin:Wasser = 1:1:1 (v/v)

	Charge	Farbqualität	R _F	Absorptionsmaxima in nm		
Bromphenolblau	431865	blauviolett		587,0	382,0	312,0
Hauptfleck	7353332	—		587,0	440,0	386,0
	431865	kornblumenblau	0,88	587,0	380,0	312,0
	7353332	—	0,90	587,0	378,0	310,0
1. Nebenfleck	431865	kanariengelb	0,92	587,0	438,0	
	7353332	violett	0,94	587,0	375,0	
2. Nebenfleck	431865	hellblau	1,0	587,0	380,0	312,0
	7353332	—				

Literatur

1. GRASSMANN, W., K. HANNIG und M. KNEDEL, Dtsch. Med. Wschr. 76, 333 (1951). GRASSMANN, W., Naturwissenschaften 38, 200 (1951). — 2. PEZOLD, F. A. und U. PEISER, Klin. Wschr. 31, 982 (1953). — 3. KOHN, J., Ärztl. Lab. 10, 223 (1964). Ärztl. Lab. 10, 269 (1964). — 4. MEULEMANS, O., Clin. chim. Acta Amsterdam 3, 275 (1958). — 5. MICHL, H., Mh. Chem. 83, 210 (1956). — 6. BUSSE, V., in Vorbereitung. — 7. Deutsche Forschungsgemeinschaft, Farbstoffkommission 6. u. 12. Mitt. Fr. Steiner-Verlag Wiesbaden (1957) und (1965). — 8. BARROLLIER, J., E. WATZKE und H. GIBIAN, Z. Naturforsch. 13b, 754 (1958). — 9. SADINI, V., Rass. Chim. 12, 17 (1960). — 10. GÄNSHIRT, H., D. WALDI und E. STAHL, in: Dünnschichtchromatographie, S. 360, Hrsg. Stahl, E., Springer-Verlag Berlin (1962). — 11. WOLLENWEBER, P., J. Chromatogr. 7, 557 (1962). — 12. VERMA, M. R. und R. DAS, J. Sci. Ind. Res. 15c, 186 (1956). — 13. SRAMEK, J., Dt. Textiltechn. 13, 594 (1963). — 14. KOLSEK, J., Chemiker-Ztg. 82, 35 (1958). — 15. ODEBRECHT, W., Arzn. Standard. 4, 271 (1963). — 16. GRASSMANN, W. und L. HÜBNER, Naturwissenschaften 40, 272 (1953). — 17. GRASSMANN, W. und L. HÜBNER, Leder 5, 49 (1954). — 18. ABDEL-WAHAB, E. M. und D. J. R. LAURENCE, Biochem. J. 60, XXXV (1955). — 19. SCHULTZ, G., Farbstofftab., 7. Aufl., 1. Band Akadem. Verlagsges. m.b.H., Leipzig (1931). — 20. COLOUR-INDEX, publ. by Soc. of Dyers and Colourist. 2. Aufl.; Bredford; Soc. of Dyers and Colourists (1956—1963). — 21. HARMS, H., Handbuch der Farbstoffe für die Mikroskopie, Staufen-Verl. Kamp-Lintfort (1957). — 22. SRAMEK, J., J. Chromatogr. 15, 57 (1964). — 23. Zit. nach HARMS, in Stain Techn. 10, 73 (1953). — 24. KAWERAU, E. Analyst 79, 681 (1954). — 25. Farbstoffuntersuchung, in: Ullmanns Enzyklopädie der techn. Chemie. 3. Aufl. Bd. 7, S. 212, Urban und Schwarzenberg, Berlin (1956).

Dr. V. Busse
1000 Berlin 45
Klinikum der Freien Universität

Bestimmung von Acetat in biologischem Material durch Gaschromatographie

Von J. FRÖHLICH¹⁾ und O. WIELAND

Aus dem Klinisch-Chemischen Institut des Städtischen Krankenhauses München-Schwabing und der Biochemischen Abteilung der Forschergruppe Diabetes (Leiter: Prof. Dr. O. Wieland)

(Eingegangen am 15. März 1968)

Herrn Prof. Dr. Dr. Ernst Schütte zum 60. Geburtstag gewidmet

Es wird eine Methode zur gaschromatographischen Acetatbestimmung in biologischem Material nach vorausgehender Abtrennung der Essigsäure durch Mikrodestillation beschrieben. Die Bestimmung erfolgt auf einer etwa 160 cm langen Glassäule ($\varnothing$ 4 mm) mit FFAP²⁾ als stationärer Phase auf Chromosorb WAW 80—100 mesh bei 180°. Es wird eine Trennstufenzahl von 1600 erreicht, die Trennleistung beträgt 1000. Die C₂-Bande erscheint vollständig vom Wassergipfel getrennt ohne wesentliches Schweifen. Die Auswertung erfolgt durch Mitführen eines Inneren Propionsäurestandards und zusätzlich an Hand von Eichkurven. Bei der Bestimmung werden im Mittel 87% des eingesetzten Acetats wiedergefunden.

A method is reported for the gas chromatographic determination of acetate in biological material, following a preliminary separation of the acetic acid by microdistillation. The determination is performed in an approx. 160 cm long glass column ($\varnothing$ 4mm) on Chromosorb WAW 80—100 mesh at 180° with FFAP²⁾ as the stationary phase. A theoretical plate number of 1600 was achieved and the separation efficiency was 1000. The band is completely separated from the water peak with essentially no tailing. The results are evaluated by the use of an internal standard of propionic acid and standard curves. On average, 87% of the acetate is recovered in the determination.

Acetat tritt in freier Form als obligates Stoffwechselprodukt bei Mensch und Tier auf. Seine Konzentration in Körpersäften und Geweben ist im allgemeinen — mit Ausnahme von Pflanzenfressern — sehr gering, wodurch einer exakten Analytik gewisse Grenzen gesetzt sind. Für die bisher auf dem Gebiet des Essigsäurestoffwechsels durchgeführten Arbeiten wurde zum größten Teil der von LUNDQUIST (1) angegebene Sulfanilamid-Acetylierungstest verwendet. Hierbei wird die Essigsäure vorher durch Mikrodiffusion nach CONWAY (2) aus den enteiweißten Gewebsextrakten abgetrennt. Die praktische Anwendbarkeit anderer Verfahren zur Essigsäurebestimmung, wie einer optisch-enzymatischen (3) oder einer gaschromatographischen (4) Methode läßt sich mangels

ausreichender Erfahrungen bisher nicht mit Sicherheit beurteilen. In eigenen Versuchen schien uns der Sulfanilamid-Acetylierungstest noch immer am brauchbarsten, wobei wir einen Fortschritt in der Einführung der Mikrodestillation nach BARTLEY (5) an Stelle der Conway-Diffusion sehen.

Das Bedürfnis nach weiterer methodischer Verbesserung und Vereinfachung erwuchs in Zusammenhang mit ausgedehnten tierexperimentellen Untersuchungen über den Acetatstoffwechsel in Abhängigkeit von der Ernährung (6), sowie im Hinblick auf geplante Studien über das Verhalten der Essigsäure im Blut und anderen Körperflüssigkeiten beim Menschen in Abhängigkeit von verschiedenen Krankheiten. Die im folgenden beschriebene gaschromatographische Methode hat sich in unseren Händen als geeignet zur Lösung dieser Aufgabe erwiesen.

¹⁾ Stipendiat der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

²⁾ s. Fußnote S. 2