

Eine Spektralreaktion auf Oleinsäure.

Von

J. Lifschütz.

(Der Redaktion zugegangen am 2. Juli 1908.)

Löst man 1 Tropfen Oleinsäure in 3—4 ccm Eisessig und vermischt die Lösung mit 10—15 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, so färbt sich das Gemisch beim Stehen nach und nach stark braun- bis kirschrot und zeigt dann im Spektrum ein ziemlich tiefdunkles, breites Absorptionsband im Grün dicht am Blau, ein schmäleres schwaches Band in demselben Spektralfelde näher dem Gelb und einen noch schwächeren, schmäleren Streifen zwischen Orange und Gelb. Der größere Teil dieses Streifens liegt im Orange. Alle diese Absorptionen der Spektralfarben erscheinen relativ schwach mit sehr verschwommenen Rändern, sind von der Stufe der Reinheit der verwendeten Oleinsäure abhängig und scheinen von geringeren oder größeren Mengen der Oxydationsprodukte der Oleinsäure herzurühren.

Diese letztere Anschauung vom Ursprung der Reaktion bestätigt sich vielleicht durch den Umstand, daß sie beim direkten Behandeln der reinen Oleinsäure mit Oxydationsmitteln mit wesentlich reineren und lebhafteren Farben, viel schöneren, ganz bestimmten, scharf ausgeprägten und tiefen Absorptionsspektren aufzutreten pflegt. Das ziemlich schnell vorübergehende Auftreten dieser Reaktion bei der Oxydation der Oleinsäure mit Kaliumpermanganat in Eisessiglösung habe ich bereits vor einiger Zeit beschrieben.¹⁾ Der Umstand, daß diese Reaktion mit KMnO_4 ein ganz bestimmtes, schnell vorübergehendes Oxydationsstadium darstellt und infolgedessen zu sehr von geringfügigen Nebenumständen abhängig ist, um als sicheres Erkennungsmerkmal für Oleinsäure zu dienen, ließ

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LV, S. 3.

dieses sehr empfindliche Oxydationsmittel für diesen Zweck als ungeeignet erscheinen. In der Tat läßt sich dieses farbige Oxydationsstadium der Ölsäure zu einer konstanten und sicheren Erscheinungsform fixieren, sobald man sie mit anderen, weniger empfindlichen Oxydationsmitteln hervorruft. Am erfolgreichsten zeigte sich dabei die Oxydation der Oleinsäure mit Chromsäure in Eisessiglösung.

Erst beim Operieren mit diesem Oxydationsmittel zeigte sich die unfehlbare Sicherheit und hohe Empfindlichkeit der Reaktion, die es mir in dieser Form seit längerer Zeit möglich gemacht hat, selbst Bruchteile eines Prozentes der Oleinsäure in häufig recht komplizierten Fettgemengen mit Leichtigkeit zu ermitteln.

Die einfachste Ausführungsform der Reaktion ist folgende:

1 Tropfen Oleinsäure wird in 3—4 ccm Eisessig gelöst, mit 1 Tropfen 10%iger möglichst wasserarmer Chromsäurelösung in Eisessig versetzt, die Lösung mit 10—12 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure vermischt und stehen gelassen. Die grüne Farbe der klaren Lösung verblaßt schnell, um einer violett- bis kirschroten Platz zu machen, die während der ersten Zeit immer stärker wird. Das oben geschilderte Absorptionsspektrum ist bereits zu Anfang der Reaktion scharf und klar wahrnehmbar; die sehr prägnanten Absorptionsbänder werden aber mit der Zeit so stark und tief dunkel, daß die Lösung häufig mit Eisessig stärker verdünnt werden muß, um das Spektrum beobachten bzw. identifizieren zu können. Die Entwicklung der Farbe und des Spektrums der Reaktion läßt sich durch kurzes Erwärmen des Gemisches auf 70—80° C. erheblich beschleunigen. Farben wie Spektra sind jedoch, nach Durchführung der Reaktion bei gewöhnlicher Temperatur, wesentlich lebhafter und schöner. Die Gegenwart selbst großer Mengen der gesättigten Fettsäuren, welche für sich diese Reaktion nicht geben, beeinträchtigt die letztere nicht. Auch die Anwesenheit von etwaigen färbenden Verunreinigungen beeinflusst nur die Farbe des Reaktionsgemisches; das sehr charakteristische Absorptionsspektrum aber bleibt stets klar und unzweifelhaft wahrnehmbar.

So empfindlich und charakteristisch diese Reaktion, namentlich in ihrem ausgezeichneten Absorptionsspektrum, bei der freien Oleinsäure zu erscheinen pflegt, tritt sie bei fetten Ölen, also bei den Oleinglyceriden in noch markanterer Weise ein. In den oben bezeichneten Verhältnissen ausgeführt, scheidet sich bei den Fetten und Ölen ein Teil der Substanz nach dem Zusatz der Schwefelsäure aus und trübt die Lösung. Man umgeht diesen Übelstand aber leicht durch vorsichtigen Zusatz von kleinen Mengen Chloroform, bis die Trübung verschwindet und die Lösung völlig klar geworden ist. Die Farbe der Reaktionsgemische erscheint hier reiner violettrot. Bei Olivenöl, Cottonöl und ähnlichen Ölen erscheint die Farbe fast rein violett und erst im Lampenlicht violettrot. Die Spektralbänder erscheinen hier noch viel schärfer und ausgeprägter, und die nicht absorbierten Spektralfarbenfelder zwischen und hinter den Bändern wesentlich reiner und klarer, als es bei der freien Ölsäure der Fall ist. Nach längerem Stehen pflegt in beiden Fällen nur die Farbe in eine mehr oder minder gelb- oder braunrote überzugehen; das Spektrum aber hält sich fast ungeschwächt durch mehrere Tage und ist selbst nach 8—10 Tagen gut sichtbar. Die Intensität der Farbe und des Spektrums ist dem Gehalt des betreffenden Öles an Oleinsäure proportional. Die Reaktion hat sich daher sehr häufig in geeigneten Fällen zu quantitativen spektrometrischen Ermittlungen der Oleinsäure in Fett- und Ölgemengen recht gut bewährt.

Handelt es sich um Ermittlungen von geringen Mengen Oleinsäure neben großen Mengen Stearin- bzw. Palmitinsäure, so empfiehlt es sich, eine größere Quantität (etwa 0,5 g) Substanz in Arbeit zu nehmen.¹⁾ Um das Ausscheiden der festen Stoffe zu umgehen und klare, für die spektroskopische Untersuchung brauchbare Lösungen zu erhalten, wird das fertige Reaktionsgemisch nach dem Zusatz der Schwefelsäure kurze Zeit auf 70—80° C. erwärmt, und dann so viel Chloroform zugesetzt, bis in der lauwarmen Lösung eine Trübung entsteht. Nach dem Erkalten scheidet

¹⁾ Über die Ausführung der Reaktion in diesem Falle siehe weiter unter I (Stearinölsäuregemisch).

sich das Gemisch in zwei klare Schichten, von denen — bei Oleinsäure — die untere Schicht das eigentliche Reaktionsprodukt mit dem genannten Spektrum enthält, während die darüberstehende Lösung — je nach den Verhältnissen — ein nur schwaches oder gar kein Absorptionsspektrum zeigt. Bei Glyceriden der Ölsäure geht ein größerer oder geringerer Teil des fraglichen Reaktionsproduktes stets auch in die obere Schicht über. Diese Fällung des Reaktionsproduktes mit Chloroform führt noch einen anderen Vorteil mit sich: nämlich den der Konzentrierung der unteren Schicht (durch Aufnahme eines Teils des Eisessigs durch das Chloroform), was naturgemäß — bei sehr geringen Mengen Oleinsäure — das Absorptionsspektrum verstärkt und so dasselbe der Beobachtung zugänglicher macht bzw. die Ermittlung der gesuchten Oleinsäure wesentlich erleichtert. Ist durch die Chloroformfällung die untere Schicht zu sehr konzentriert worden, wie es bei größerem Oleingehalt ja stets der Fall sein wird, so kann man sie durch Zusatz von noch etwas konzentrierter Schwefelsäure zweckentsprechend verdünnen, ohne den optischen Effekt der Reaktion irgend wie zu beeinträchtigen.

Die Empfindlichkeit der Reaktion

wurde in folgender Weise ermittelt:

I. 0,2 g eines Gemisches von 99,5 Teilen reiner Stearinsäure und 0,50 Teilen reiner Oleinsäure wurden in einem 18 mm weiten, graduierten Reagenzglas mit 4 ccm Eisessig und einem Tropfen 10⁰/oiger Chromsäurelösung in Eisessig echt grün gekocht, die etwas abgekühlte, aber noch klare Lösung mit 12 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure vermischt, einmal auf 80° C. erwärmt,¹⁾ und das warme Reaktionsgemisch mit Eisessig auf 5 ccm verdünnt. Die grüne Lösung änderte sich nach dem Erhitzen nur wenig, sie wurde nur etwas tiefer gelblichgrün mit violetterm Stich. Das Spektrum trat sofort auf und zeigte bei etwa halber Spaltöffnung des Spektroskops die beiden Bänder im Grün des sonst ungetrübten, kontinuierlichen

¹⁾ Bei solchen und ähnlichen Fettgemengen ist es ratsam, diesen Weg der Operation einzuschlagen.

Lampenlichtspektrums. Nach kurzer Zeit konnte man — bei etwas verengertem Spalt — sogar noch den schmalen, viel schwächeren Streifen zwischen Orange und Gelb klar und deutlich wahrnehmen. Nach etwa 3 Stunden war eine weitere Verstärkung des Spektralbildes nicht mehr zu merken. Die beim Stehen zum steifen Krystallbrei erstarrte Lösung wurde nunmehr bis zur klaren Lösung gelinde erwärmt und mit Eisessig bis auf 10 ccm verdünnt. Auch in dieser starken Verdünnung waren beide Bänder des Spektrums im Grün (das schwächere Band — bei etwas engerem Spalt) noch unzweideutig zu sehen. Selbst bei weiterer Verdünnung der Lösung auf 15 ccm war das stärkere Band (am Blau) noch deutlich wahrnehmbar, namentlich wenn die nunmehr fast farblose Lösung in ein weiteres Reagenzglas gebracht wurde. Da nun die Lösung nur 1 mg Oleinsäure enthielt, so ergibt sich für diese Spektralreaktion eine Empfindlichkeit von **1 : 10 000** bis **1 : 15 000**.

Bei diesen Ermittlungen wurde das Verhindern der Stearinsäureausscheidung mit Chloroform vermieden, und die völlige Klarheit der Lösung nach dem Auskrystallisieren stets nur durch gelindes Erwärmen wiederhergestellt. Diese Ausführungsform der Reaktion kann mit Vorteil als Norm für quantitative spektrometrische Ermittlungen des Oleingehalts in Fetten und Ölen durch gegenseitiges gemessenes Verdünnen der zu vergleichenden Lösungen mit einer solchen von bekanntem Oleinsäuregehalt bis zu gleichen Spektralintensitäten (analog den bekannten kolorimetrischen Messungen) Verwendung finden.

Nach Fällung der obigen sehr verdünnten Lösung mit Chloroform konnte in der unteren gelblichgrünen klaren Schicht das Oleinspektrum in der fast ursprünglichen Stärke wiederhergestellt werden.

II. Als ferneres Beispiel für die recht hohe Empfindlichkeit der Reaktion sei noch folgender Fall angeführt: 0,5 g einer von C. A. F. Kahlbaum in Berlin bezogenen, reinen Stearinsäure von dem bekannten Schmelzpunkt wurde nach dem oben geschilderten Verfahren einer Prüfung unterzogen.

Das Reaktionsgemisch änderte seine grünliche Farbe selbst in der Wärme nur sehr wenig; dagegen zeigte das Spektrum des bis zur klaren Lösung gelinde erwärmten Reaktionsgemisches ganz deutlich das oben erwähnte Absorptionsband im Grün (dicht am Blau) des Spektrums. Nach der Fällung des Gemisches mit Chloroform konnte sogar in der unteren Schicht auch das schwächere Band des Ölsäurespektrums im Grün (näher dem Gelb) wahrgenommen werden. Die genannte Stearinsäure wurde nun zweimal aus reinem absoluten Alkohol umkrystallisiert. Im abgedampften und getrockneten Rückstand der Filtrate konnte vermittelt der obigen Spektralreaktion die Oleinsäure in klarer und jeden Zweifel ausschließender Weise nachgewiesen werden. Die umkrystallisierte Stearinsäure dagegen zeigte nunmehr nach sorgfältiger Prüfung keine Spur irgend eines Absorptionsspektrums mehr.

Von allen mir bis jetzt zugänglichen Fetten und Ölen zeigte nur das **Ricinusöl** bei Anwendung von einem Tropfen desselben eine nur äußerst schwache Absorption im Grün (am Blau) des Spektrums. Bei Anwendung von 0,2 g dieses Öls in 4 ccm Eisessig konnte jedoch nach längerem Stehen das ganze Absorptionsspektrum der obigen Oleinsäurereaktion unzweideutig durch mehrere Tage hindurch beobachtet werden. Nach vorläufigen spektrometrischen Messungen in der oben angedeuteten Weise dürfte der Ölsäuregehalt der mir vorgelegenen Probe des officinellen Ricinusöls¹⁾ 0,6 bis 0,8% betragen.²⁾ Die ölige Säure des von den fremden Seifenfetten der Wollwäsche gereinigten oder mit Äther direkt aus der Rohwolle extrahierten Wollfettes zeigt diese Reaktion nicht. Auch bei Wollfettdestillaten habe ich sie bis jetzt nicht beobachten können. Dies dürfte wohl auf der Tatsache beruhen, daß das Wollfett an allen seinen Bestandteilen, vorzüglich aber an den ungesättigten, die unverkennbaren Merkmale eines

¹⁾ Seine Ranzidität betrug: 0,30 ccm n_{15} -KOH pro 1,0 g.

²⁾ Die von Kahlbaum bezogene reine Ricinusölsäure zeigte das Oleinspektrum naturgemäß in stärkerem Grade. Die Farbe des Reaktionsgemisches ist der des oben erwähnten Stearinolesäuregemisches ähnlich. Sie wird beim längeren Stehen braungelb.

äußerst intensiven Oxydationsprozesses aufweist, welcher sich an der Oberfläche des Wollvlieses der lebenden Schafe unter dem Einfluß von Licht und Luft vollzieht. Eine hinreichende Stütze findet diese Anschauung in dem Umstande, daß auch das von mir seinerzeit erwähnte, nach der Oxydation der Oleinsäure mit Permanganat wiedergewonnene, schmalzartige Fettsäuregemenge,¹⁾ das ja sehr reich an öliger Säure ist, die obige Oleinsäurereaktion — je nach der Stufe der Oxydation — entweder gar nicht oder nur äußerst schwach gibt.

Interessant ist, daß geschmolzene **Trichloressigsäure** dieselbe Reaktion in Farbe und Spektrum bei Oleinsäure direkt hervorruft, wie die Essigschwefelsäure bei der mit Permanganat oder mit Chromsäure oxydierten Oleinsäure. Auffallend ist dabei, daß diese Reaktion der Oleinsäure mit Trichloressigsäure in Farbe und Spektrum sehr ähnlich ist der Reaktion des Cholesterins mit demselben Reagens.²⁾ Es dürfen daher Fettkörper nicht eher mit Trichloressigsäure auf Cholesterin geprüft werden, bevor letzteres von der etwa vorhandenen Oleinsäure getrennt wurde.

Bremen, im Juni 1908.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LV, S. 6.

²⁾ Tschugajews Cholesterinreaktion.