

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ ДЕСТРУКЦИЯ КЕРОГЕНА КУКЕРСИТА *

А. С. ФОМИНА,

кандидат химических наук

Л. Я. ПОБУЛЬ

В первом сообщении⁽²⁾ было показано, что при окислительной деструкции керогена кукерских сланцев перманганатом калия в щелочной среде получают наряду с другими кислотами одноосновные жирные кислоты нормального строения. В условиях проведенных опытов суммарный выход летучих с водяным паром кислот (на углерод керогена) не превышал 2%.

В том же сообщении было указано, что среди летучих с водяным паром кислот были установлены: пропионовая, *n*-масляная, *n*-валериановая, *n*-капроновая, *n*-энантовая и *n*-каприловая. Эти кислоты были получены путем фракционной разгонки смеси растворимых в воде кислот при атмосферном давлении и нерастворимых в воде кислот в вакууме. При этом часть кислот была получена в виде фракций — смесей, показатели которых не совпадали с таковыми для индивидуальных соединений. Кроме того, имело место осмоление части продукта. Все это не дало возможности установить количественные выходы индивидуальных кислот и пойти дальше установления вышеуказанных кислот в смеси летучих с водяным паром соединений. Классические методы фракционной разгонки кислот или их эфиров в столь сложной смеси кислот и при невысоком их выходе оказались недостаточно эффективными. Если эти методы и могли бы дать более точные результаты, то потребовали бы чрезмерно большого объема работ. Поэтому было решено применить более эффективный, современный метод разделения смеси кислот путем распределительной хроматографии на колонках.

Из литературы известно, что в качестве носителей при хроматографировании применяются: силикагель, крахмал, каучуки различной степени вулканизации, целлюлоза и другие материалы. В настоящем исследовании в качестве носителя был выбран силикагель. Правда, в ряде методик предъявляются жесткие требования к свойствам силикагеля. На это указывают В. Л. Кретович, Т. В. Дроздова и И. С. Петрова⁽¹⁾, Л. Л. Рамзей и В. И. Паттерсон⁽⁶⁾ и другие. Более того, последние указывают, что установленная однажды пригодность силикагеля промышленной марки не означает, что при получении новой партии он окажется столь же пригодным, как и раньше. То же самое указывается о методи-

* Сообщение второе. (Выделение и идентификация одноосновных жирных кислот нормального строения.)

ках лабораторного получения силикагеля: не всегда удается по прописям воспроизвести необходимое качество силикагеля. Авторы считают, что единственной гарантией достоверных результатов является практическое опробование силикагеля. Несмотря на положительные результаты, которые были получены в указанных выше работах, такая чувствительность метода к свойствам силикагеля, очевидно, может явиться препятствием для широкого его использования. Поэтому казалось более целесообразным остановиться на методах распределительной хроматографии, где свойства силикагеля не являются столь важными и решающими в получении положительных результатов хроматографирования. Например, В. Мойль, Е. Болдин и Р. Скарисбрик⁽⁵⁾ проводят разделение одноосновных кислот, от уксусной до энантовой, на силикагелевых колонках с применением в качестве неподвижного растворителя 2 М водных растворов фосфорно-калиевых солей с заданной величиной рН среды. Величина рН среды устанавливается на смеси силикагель—буферный раствор—вода. Изменение свойств силикагеля в данном случае компенсируется изменением величины рН буфера, в результате чего достигается необходимая результирующая величина рН среды. Как показало опробование этого метода, и здесь потребовалось ввести ряд изменений для того, чтобы получить вполне удовлетворительные результаты для исследуемой смеси летучих с водяным паром кислот и расширить применимость метода на разделение кислот от C₇ до C₉.

Таким образом, пришлось провести специальное исследование, в результате которого, вместо последовательного использования трех колонок с различной величиной рН среды, как это было сделано указанными выше авторами, были применены четыре колонки. Кроме того, в подвижных растворителях, представляющих растворы различных концентраций нормального бутилового спирта в хлороформе, последний с успехом был заменен более дешевым и удобным в работе дихлорэтаном. Для достижения лучших результатов разделения пришлось применить иные концентрации растворов *n*-бутилового спирта в дихлорэтаноле или хлороформе, чем было рекомендовано Мойлем и его сотрудниками. В целом разделение смеси одноосновных кислот, полученных при частичном окислении керогена куерских сланцев, было проведено в условиях, сведенных в таблице 1.

Распределительная способность силикагелевых колонок

Таблица 1

| №№ колонок | рН среды | Разделяемая смесь летучих с водяным паром одноосновных насыщенных кислот нормального строения | Подвижные растворители в % <i>n</i> -бутилового спирта в дихлорэтаноле | Выделяемые кислоты |
|------------|----------|---|--|-----------------------|
| I | 6,4 | C ₂ и выше | 1 | C ₄ и выше |
| | | | 15 | C ₃ |
| | | | 30 | C ₂ |
| II | 8,4 | C ₄ и выше | 1 | C ₆ и выше |
| | | | 15 | C ₅ |
| | | | 30 | C ₄ |
| III | 9,5 | C ₆ и выше | 1 | C ₈ и выше |
| | | | 15 | C ₇ |
| | | | 30 | C ₆ |
| IV | ≈9,9 | C ₈ и выше | 1 | C ₉ и выше |
| | | | 3 | C ₈ |

Вначале разделение проводилось на имевшемся в лаборатории силикагеле неизвестной марки. Активность этого силикагеля по ацетону в бензоле составляла 15,5. Силикагель был нейтральный. Для наполнения колонки силикагель предварительно размалывался в шаровой мельнице до полного прохождения через сито № 100. Для получения выходных кривых применялись малые колонки: I — высотой 500 мм, диаметром 15 мм и II — высотой 250 мм, диаметром 12 мм. Загрузка силикагеля составляла 20—25 г. Для накопления индивидуальных кислот была использована большая колонка высотой 700 мм и диаметром 30 мм. Закладка этой колонки варьировала от 60 до 80 г силикагеля. Для приготовления буферных растворов были использованы комбинации трикалийфосфата, ортофосфорной кислоты и едкого калия. В качестве подвижных растворителей были испытаны растворы *n*-бутилового спирта

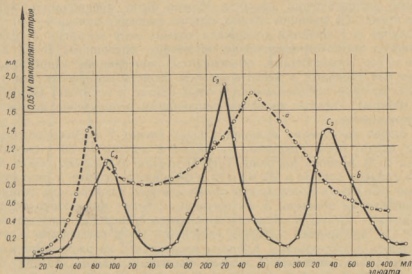


Рис. 1. Хроматографическое разделение летучих с водяным паром водорастворимых кислот. Кривая *а* — буферный раствор-вода; кривая *б* — буферный раствор-2 М K_2HPO_4 , pH=6,4.

в дихлорэтane (или хлороформе) от 1 до 40%. Для построения выходных кривых собирались элюаты по 5 или 10 мл. Титрование элюатов производилось 0,25 или 0,05 *N* спиртовой щелочью в присутствии фенолфталеина. Как было показано в сообщении первом, при окислительной деструкции керогена кукуерских сланцев перманганатом калия в щелочной среде получают летучие с водяным паром кислоты, растворимые и нерастворимые в воде. Хроматографирование было начато с низших кислот, т. е. растворимых в воде.

Для получения выходной кривой растворимых в воде кислот хроматографирование было проведено на малой колонке, высотой 250 мм, диаметром 12 мм. Закладка силикагеля составляла 20 г. Буферный раствор был приготовлен из 2 М водного раствора K_2HPO_4 с доведением до требуемой величины pH среды ортофосфорной кислотой. Для полного смачивания силикагеля требовалось 9 мл буферного раствора. Навеска смеси кислот 0,06 г растворялась в 6 мл 1% раствора *n*-бутилового спирта в дихлорэтane. Для вымывания кислот наилучшим оказалось последовательное применение 1%, 15% и 30% растворов *n*-бутилового спирта

в дихлорэтано. В результате проведения параллельных опытов хроматографирования были получены сходящиеся выходные кривые, обеспечивающие вполне четкое отделение одной кислоты от другой. Проведение хроматографического разделения на том же силикагеле, по В. Л. Кротовичу, дало совсем другие результаты, явно показывающие, что в этом случае не достигается необходимое разделение на индивидуальные компоненты.

На графике (рис. 1) показаны результаты хроматографирования в тех и других условиях. Кривая *a* относится к случаю хроматографирования с применением в качестве неподвижной фазы воды и кривая *b* — к случаю применения в качестве буфера 2 М водного раствора K_2HPO_4 . По ходу кривой *a* можно было бы заключить, что в смеси имеются две плохо разделяющиеся кислоты. Кривая *b* показывает, что в исследуемой смеси имеются по крайней мере три четко отличающиеся по коэффициентам распределения кислоты. Можно было предполагать наличие смеси только в I фракции элюата, однако проверка показала, что в данном случае и I фракция содержала только одну кислоту. Неудачные результаты хроматографирования по методу, описанному В. Л. Кротовичем и его сотрудниками, объясняются, конечно, не непригодностью метода как такового, а несоответствием свойств силикагеля тем требованиям, которые предъявляются в этом случае к носителю (как указывают авторы), которые являются решающими в получении положительных результатов.

С целью накопления индивидуальных кислот 7 г смеси водорастворимых кислот было разделено на большой колонке с 80 г силикагеля (38 мл 2 М водного раствора K_2HPO_4). Для отдельного опыта брали по 0,5 г смеси кислот в 20 мл 1% *n*-бутилового спирта в дихлорэтано. Первые два опыта проводились с титрованием элюатов для установления предельных объемов. В последующих опытах титрованию подвергались элюаты только в областях минимумов. Масляная кислота вымывалась 1%, пропионовая — 15% и уксусная — 30% растворами *n*-бутилового спирта в дихлорэтано. Кислоты извлекались из растворителя двукратным промыванием 1% водным раствором едкого натрия. Затем раствор солей упаривался досуха и после охлаждения подкислялся 10% серной кислотой. Из подкисленного раствора органические кислоты извлекались этиловым эфиром. Эфирный раствор высушивался над сульфатом натрия и эфир отгонялся.

Выход кислот при хроматографировании, при расчете на один опыт (0,5 г смеси кислот), был следующий:

| | |
|------------------------------|-----------------------|
| I фракция — масляная кислота | — 0,120 г, или 24,0% |
| II фракция — пропионовая „ | — 0,178 г, или 35,6% |
| III фракция — уксусная „ | — 0,107 г, или 21,4%. |

Таким образом, выделялось всего 0,405 г, или 81,0%. Потери в 19% в данном случае можно было считать вполне допустимыми; они могли складываться не только за счет потерь самих кислот, но и за счет содержания в исходной смеси остатков влаги и этилового эфира.

Для хроматографирования нерастворимых в воде, летучих с водяным паром кислот, как видно из таблицы 1, последовательно использованы колонки с величинами рН среды 8,4; 9,5 и 9,9.

Для приготовления второй колонки с величиной рН среды 8,4 был использован, как и в первой колонке, 2 М раствор K_2HPO_4 с доведением его до требуемой величины рН раствором едкого калия. Разделение проводилось прямо на большой колонке с загрузкой 80 г силикагеля и

40 мл буферного раствора. Первые два опыта были проведены с отбором (по 10 мл) элюатов и титрованием их 0,025 N раствором спиртовой щелочи. В качестве подвижных растворителей были применены растворы, указанные в таблице 1. Выходная кривая этого хроматографирования приведена на рис. 2.

Из приведенного графика видно, что имеет место вполне четкое отделение кислоты C_4 от C_5 . Перегиб в области максимума валериановой кислоты указывает на наличие каких-то примесей. Достаточно хорошо отделяется смесь высших кислот (C_6 и выше). Хроматографирование смеси нерастворимых в воде кислот было проведено также по Рамзею и Паттерсону⁽⁶⁾; при этом в качестве неподвижной фазы использовался метиловый спирт с применением проявителя — раствора бромкрезолзеленого в метиловом спирте и подвижного растворителя — изооктана. Од-

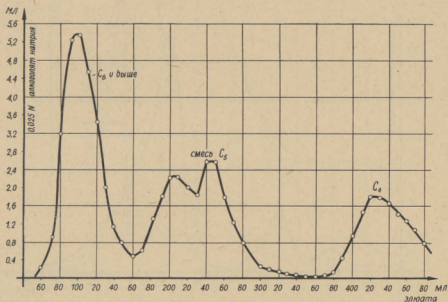


Рис. 2. Хроматографическое разделение летучих с водяным паром, нерастворимых в воде кислот. Буферный раствор $pH = 8,4$.

нако и в этом случае, как и по В. Л. Кретовичу для водорастворимых кислот, четкое разделение не было получено и поэтому результаты могли быть использованы только для качественных определений. Можно считать, что и в этом случае решающую роль сыграло несоответствие условий силикагеля. Поэтому методика Рамзея и Паттерсона в дальнейшем не была использована.

На второй колонке с величиной pH среды 8,4 было разделено 15 г смеси нерастворимых в воде, летучих с водяным паром кислот. I фракция, представляющая раствор смеси высших кислот, подлежала дальнейшему хроматографированию на третьей колонке. II фракция кислот, показавшая на выходной кривой перегиб в области максимума, также была подвергнута повторному хроматографированию и только III фракция, соответствующая масляной кислоте, была выделена как чистая кислота. В связи с тем, что окончился имевшийся запас силикагеля, для дальнейшего хроматографирования силикагель готовился в лаборатории по Ишервуду⁽⁴⁾ из имеющегося в продаже жидкого стекла. Силикагель лабораторного приготовления в зависимости от партии имел активность

по ацетону в пределах 17—17,5. II фракция, соответствующая валериановой кислоте, в количестве 2,5 г хроматографировалась на большой колонке с 60 г силикагеля, с применением буферного раствора $\text{pH} = 9,5$ (55 мл). Промывание колонки производилось растворами тех же концентраций и в той же последовательности, как и на первых двух колонках. Выходная кривая этого хроматографирования приведена на рис. 3.

График на рис. 3 показывает, что *n*-валериановая кислота имела примеси по крайней мере двух кислот, однако количества кислот, соответствующие I и II фракциям, были столь незначительны, что исследовать их не представлялось возможным. Если судить по данным Рамзея и Паттерсона, эти примеси можно было отнести за счет изомеров валериановой кислоты. В данном случае, если таковые и имелись, то в весьма незначительном количестве. Таким образом, основной результат повтор-

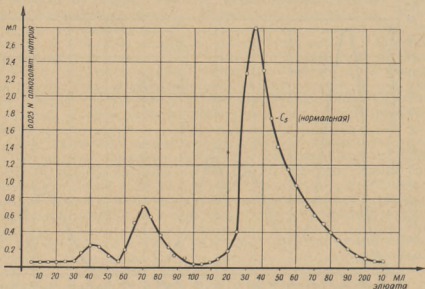


Рис. 3. Хроматографическое отделение *n*-валериановой кислоты от примесей. Буферный раствор $\text{pH} = 9,5$.

ного хроматографирования с более высокой величиной pH буфера заключался в очистке *n*-валериановой кислоты от тех или иных сопутствующих ей примесей. Смесь высших кислот от C_6 и выше (I фракция элюата II колонки) была разделена на колонке с величиной $\text{pH} 9,5$. Однако положительные результаты не были получены сразу; до этого имели место неудачи. Во избежание повторения подобных ошибок другими исследователями, считаем целесообразным привести их краткое изложение. Промышленный силикагель неизвестной марки, который был использован в предыдущих колонках, был нейтральным и поэтому первые определения величины pH отдельно для буферного раствора и совместно с силикагелем показали, что достаточно определить pH самого буфера. Так же мы поступили и при приготовлении колонки с силикагелем лабораторного приготовления, однако выходная кривая показала совершенно неудовлетворительные результаты, которые видны из рис. 4.

Как показал анализ причин, вызвавших эту неудачу, все дело заключалось в том, что силикагель имел кислую реакцию. Необходимо было повысить величину pH буферного раствора, с тем чтобы нейтрализовать кислотность носителя и в итоге получить pH среды равной 9,5. В данном

случае нужно было иметь 2 М водный раствор K_3PO_4 с $pH = 10,47$, чтобы при соотношении силикагеля к буферу примерно 1 : 1 результирующая величина pH была бы равна 9,5. Малая колонка с 20 г силикагеля с вышеуказанным буферным раствором предварительно была испытана на разделительную способность на искусственно составленной смеси из

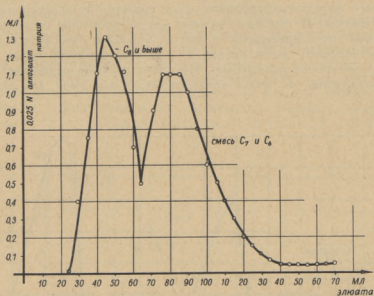


Рис. 4. Хроматографическое разделение одноосновных кислот от C_5 и выше.

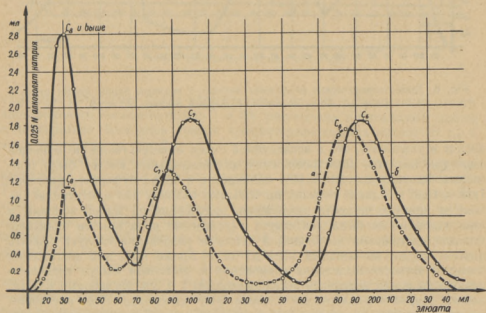
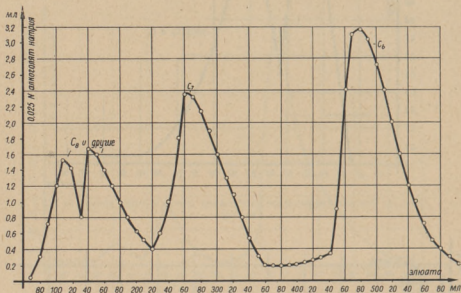


Рис. 5. Хроматографическое разделение летучих с водяным паром кислот от C_6 и выше. Кривая а — искусственно составленная смесь; кривая б — исследуемая смесь; буферный раствор $pH = 9,5$ (малая колонка).

Выходные кривые показывают, что хроматографирование дает вполне четкое разделение на искусственно составленной смеси для всех трех



кислот и указывает, что в исследуемой смеси имеется также по меньшей мере три кислоты. Для накопления индивидуальных кислот была применена большая колонка с 60 г силикагеля и 65 мл буферного раствора ($pH = 10,47$). Однако переход на большую колонку дал измененную выходную кривую; четкость разделения, полученная на малой колонке, в этих условиях не была достигнута. Проведение ряда опытов показало, что для достижения необходимой четкости разделения следует снизить навеску кислот по меньшей мере до 0,2 г. Кроме того, для достижения большей четкости выделения капроновой и энантовой кислот следовало первую фракцию вымывать последовательно 1 и 3% растворами *n*-бутилового спирта в дихлорэтано и затем уже вымывать 15% раствором энантовую и 30% раствором капроновую кислоты. С учетом вышеуказанных изменений и было проведено разделение этой части кислот на большой колонке. Выходная кривая этого хроматографирования приведена на рис. 6.

Из приведенной кривой следует, что четкое разделение происходит между капроновой и энантовой кислотами. Переход от энантовой кислоты к каприловой менее четок, а область выделения каприловой кислоты указывает на наличие смеси. Поэтому I фракция, соответствующая области выделения каприловой кислоты, подлежала дальнейшему разделению.

Поскольку на колонке с $pH = 9,5$ не удалось достигнуть разделения каприловой кислоты от примесей, решено было испытать разделение на колонке с более высокой величиной pH среды. Для этого был приготовлен буферный раствор с $pH = 10,9$, который в смеси с силикагелем в отношении 1 : 1 давал величину $pH \approx 9,9$. Предварительные опыты показали, что необходимое разделение смеси достигается на большой колонке с 50 г силикагеля в случае увеличения соотношения силикагель—буферный раствор до 1 : 1,1 и при навеске смеси кислот не более 0,1 г. Поэтому на

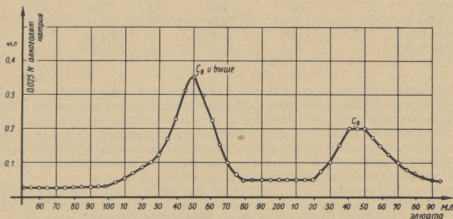


Рис. 7. Хроматографическое разделение летучих с водяным паром кислот от C_8 и выше. Буферный раствор $pH \approx 9,9$.

отдельное разделение брали навеску только по 0,06 г. Вымывание кислот производилось последовательно 1 и 3% растворами *n*-бутилового спирта в дихлорэтано. Выходная кривая хроматографирования кислот от C_8 и выше приведена на рис. 7.

Выходная кривая на рис. 7 показывает достаточно четкое разделение каприловой кислоты от высших гомологов или каких-то других примесей. Таким образом, последовательное повышение величины pH среды колонки дало возможность индивидуализировать этим методом не только капроновую, но также энантовую и каприловую кислоты. Поскольку количество гомологов выше каприловой кислоты было незначительно, дальнейшие изыскания для их разделения не производились.

С целью идентификации выделенные кислоты были подвергнуты дистилляции. В результате этого были получены совершенно бесцветные препараты, которые и подвергались соответствующим анализам, а также были приготовлены анилиды кислот⁽³⁾ и произведена их характеристика. Полученные экспериментальные данные для кислот, индивидуализированных методом распределительной хроматографии, и соответствующие показатели для чистых кислот приведены в таблице 2.

Показатели чистых кислот и их анилидов⁽³⁾

| Наименование кислоты | Элементарный состав в % | | Анилиды кислот | | |
|------------------------|----------------------------|-------|----------------------------------|----------------------------|------|
| | С | Н | Темпе- ратура плавления °С | Элементарный состав в % | |
| | | | | С | Н |
| Уксусная | 40,0 | 6,67 | 114 | 70,5 | 6,68 |
| Пропионовая | 48,7 | 8,18 | 103 | 72,6 | 7,40 |
| <i>n</i> -масляная | 54,6 | 9,16 | 95 | 73,5 | 7,98 |
| <i>n</i> -валериановая | 58,9 | 9,80 | 63 | 74,3 | 8,49 |
| <i>n</i> -капроновая | 62,1 | 10,30 | 95 | 75,1 | 8,93 |
| <i>n</i> -энантовая | 64,6 | 10,75 | 71 | 76,2 | 9,26 |
| <i>n</i> -каприловая | 66,8 | 11,30 | 57 | 76,8 | 9,59 |

Из сравнения экспериментальных показателей с литературными данными и расчетными величинами для чистых кислот следует, что выделенные соединения действительно являются кислотами от уксусной до каприловой включительно. Выходы индивидуальных кислот на сумму летучих с водяным паром кислот, полученных при частичном окислении керогена кукуерских сланцев перманганатом калия в щелочной среде, и на углерод керогена в целом приведены в таблице 3.

Таблица 3

Выход одноосновных кислот нормального строения

| Наименование кислоты | Выход в г | Выход в % на сумму получен- ных кислот | Выход в % на углерод керогена |
|------------------------|-----------|--|----------------------------------|
| Уксусная | 2,79 | 8,2 | 0,12 |
| Пропионовая | 4,68 | 13,8 | 0,20 |
| <i>n</i> -масляная | 6,42 | 18,9 | 0,28 |
| <i>n</i> -валериановая | 7,25 | 21,3 | 0,31 |
| <i>n</i> -капроновая | 5,76 | 17,0 | 0,25 |
| <i>n</i> -энантовая | 4,42 | 13,0 | 0,19 |
| <i>n</i> -каприловая | | | |
| Высшие примеси | 3,06 | 9,0 | 0,13 |
| Итого | | | 1,48 |

Хроматографирование дает тот же порядок величин суммарного выхода кислот, который имел место в ряде опытов, приведенных в сообщении первом; это указывает на то, что потери при хроматографировании не были значительными. Из данных таблицы 3 видно, что выход отдельных кислот, количественно наибольших, не достигает 0,5% на углерод керогена. Если учесть, что при частичном окислении разрушается до

кислот нормального строения

Показатели выделенных кислот и их анилидов

| № колонки | № фракции элюата | Элементарный состав в % | | Температура плавления °C | Анилиды кислот | |
|-----------|------------------|-------------------------|-------|--------------------------|-------------------------|------|
| | | С | Н | | Элементарный состав в % | |
| | | | | | С | Н |
| I | III | — | — | 112,0 | — | — |
| I | II | — | — | 102,5 | 73,1 | 7,5 |
| I | I | 54,1 | 9,2 | 94,5 | 73,7 | 8,1 |
| II | II | 59,10 | 9,88 | 60,0 | 73,9 | 8,6 |
| II | III | 62,50 | 10,4 | 96,0 | 75,2 | 9,06 |
| III | II | 64,68 | 10,84 | 71,5 | 75,9 | 9,1 |
| IV | II | — | — | 58,0 | — | — |

растворимых продуктов только около половины углерода керогена, что можно полагать, что при соответствующей деструкции 95—100% углерода выход этих кислот может составить удвоенное количество. Следует также учесть, что часть этих кислот в условиях опыта может окисляться (высшие кислоты переходят в низшие, а низшие окисляются вплоть до CO_2). Все же, как показал анализ продуктов окисления керогена при различных условиях (температуры и времени), этот фактор не является существенным. Даже при учете всех этих факторов едва ли можно считать, что выход этих кислот на углерод керогена может быть больше 5—7%. Следовательно, можно полагать, что исходные соединения, из которых получают при окислительной деструкции эти кислоты, не являются характеризующими элементами основной структуры молекул керогена. Скорее можно думать, что материнские соединения этих кислот являются периферийными группами молекул керогена, их «бахромой». Однако, если не имеется данных о большом количественном значении их в основной структуре молекул керогена, то это не исключает возможности определенного влияния этих групп в формировании физических и, в особенности, химических свойств керогена.

*

Таким образом, для индивидуализации одноосновных жирных кислот, получающихся при окислительной деструкции керогена кукуерских сланцев, наиболее удобным оказался метод последовательного разделения смеси на силикагелевых колонках с заданной величиной рН среды, модифицированный авторами.

Метод распределительной хроматографии позволил выделить, кроме установленных при фракционной разгонке одноосновных кислот, еще и уксусную кислоту.

Из смеси летучих с водяным паром продуктов окислительной деструкции керогена количественно выделены методом распределительной хроматографии и затем идентифицированы кислоты от уксусной до каприловой включительно.

Невысокий практический и возможный потенциальный выход основных насыщенных кислот при окислительной деструкции керогена дает основание полагать, что исходные соединения, из которых образуются эти кислоты, не характеризуют основную структуру молекул керогена, а скорее могут быть отнесены к периферийным группам этих молекул.

*Институт химии
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию
30 XII 1953

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Л. Кретович, Т. В. Дроздова и И. С. Петрова, Количественное хроматографическое определение летучих жирных кислот, ДАН, т. 80, № 3, стр. 409, 1951.
2. А. С. Фомина и Л. Я. Побуль, Окислительная деструкция керогена кукурузы, Изв. АН ЭССР, т. II, № 1, стр. 91—102, 1953.
3. Р. Шрайнер и Р. Фьюсон, Систематический качественный анализ органических соединений, ИЛ, 1950.
4. F. A. Isherwood, The Determination and Isolation of the Organic Acids in Fruit, The Biochemical Journal, Vol. 40, No 5, p. 6, 1946.
5. V. Moyle, E. Baldin and R. Scarisbrick, Separation and Determination of Saturated Fatty Acids C_2 to C_8 in Puffered Separatory Column, The Biochemical Journal, Vol. 43, No 2, 1948.
6. L. L. Ramsey and W. I. Patterson, Separation and Determination of Straight-Chain Saturated Fatty Acids C_5 to C_{10} , Association of Official Agricultural Chemists, Vol. 31, No 1, p. 139, 1948.