

DIE PRÄPARATIVE GASCHROMATOGRAPHIE

G. RATH

Beckman Instruments GmbH, München, Deutschland

In der analytischen Chemie werden häufig Reinfractionen bestimmter Substanzen benötigt. Insbesondere für die Identifizierung komplexer organischer Verbindungen ist es notwendig, die einzelnen Partner eines Gemisches mit größtmöglicher Reinheit aus dem Gemisch zu isolieren. Mit den bisherigen chromatographischen Methoden konnten Substanzen höchster Reinheit aus Gemischen abgetrennt werden, jedoch blieb diese Anwendungsmethode auf geringe Probenmengen beschränkt. Durch die Gaschromatographie gelingt es, Substanzen mit einem bisher nicht erreichten Reinheitsgrad in präparativen Mengen zu isolieren. Da die analytischen Geräte mit Probenmengen in der Größenordnung von einigen μl arbeiten, war infolge der geringen zur Verfügung stehenden Fraktionsmengen eine weitere analytische Behandlung der gewonnenen Fraktionen fast unmöglich.

Atkinson und Tuey [1] beschrieben den Einsatz eines kontinuierlich arbeitenden analytischen Gaschromatographen, mit dem eine große Menge einer Fraktion aufgefangen werden kann. Dem System sind jedoch wegen des großen Zeitaufwandes Grenzen gesetzt; diese Technik ermöglicht nur die Anreicherung einzelner Komponenten.

Die neueren Geräteentwicklungen ermöglichen es nun, Substanzmengen bis zu 20 ml gaschromatographisch zu trennen. Die hierbei gewonnenen Fraktionen können — auch wenn ihre relative Konzentration in der aufgegebenen Probe sehr gering ist — mit den gebräuchlichen analytischen Methoden weiter untersucht werden.

Die großen aufgegebenen Mengen erfordern eine wesentliche Vergrößerung des Kolonnendurchmessers. Das Höhenäquivalent der theoretischen Böden (HETP) nimmt, wenn man von der üblichen 6 mm Kolonne ausgeht, zunächst bei Vergrößerung des Kolonnendurchmessers nur geringfügig ab. Bei etwa 20 mm Durchmesser sinkt die Trennfähigkeit plötzlich sehr stark ab, so daß diese Durchmesser für die gaschromatographische Trennung nicht mehr in Frage kommen. Da die Zahl der theoretischen Böden mit Zunahme der Probenmenge sehr stark abnimmt, lag der Gedanke nahe, durch Parallelschaltung der Kolonnen die Trennwirksamkeit der Kolonne auch für große Probenmengen aufrecht zu erhalten. Dieses Prinzip wurde im präparativen Gaschromatographen Megachrom verwirklicht, mit dem die folgenden Messungen durchgeführt wurden.

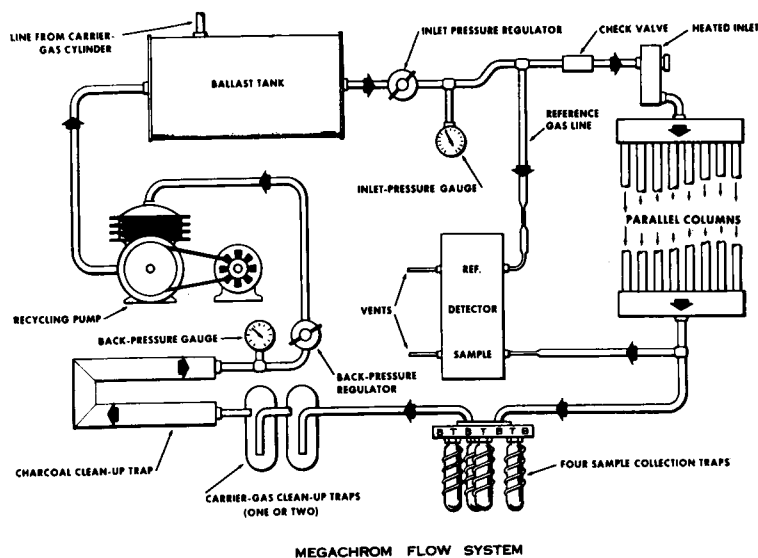


Bild 1.—Durchflußschema des Megachrom.

Das Gerät enthält acht parallel geschaltete Kolonnen von je 15 mm Durchmesser, die in einem gemeinsamen Thermostaten montiert sind. Wegen des großen Trägergasdurchsatzes ist hinter den Kolonnen ein Rückgewinnungssystem angeschlossen. Die einzelnen Komponenten werden in Kühlfallen aufgefangen; hierauf wird das nochmals absorptiv von Probenresten gereinigte Trägergas über einen Kompressor in einen Trägergasballasttank befördert (Bild 1).

Die Kolonnen können entweder alle parallel, oder zweimal je vier Kolonnen parallel hintereinander, oder viermal je zwei Kolonnen parallel hintereinander, oder achtmal je eine Kolonne hintereinander geschaltet werden.

Die maximal in einem Lauf trennbare Probenmenge beträgt je nach Substanz 15 bis 20 ml und liefert daher für die Untersuchungen im Infraroten und Ultravioletten, sowie für andere physikalisch-chemische Bestimmungen hinreichende Mengen einer Komponente. Komponenten, die in einer Konzentration von 0,05% oder mehr vorliegen, können gewöhnlich mit einer einzigen Injektion in einer Menge aufgefangen werden, die zur Füllung einer Infrarot-Submikroküvette ausreicht.

Bei der Prüfung der Kolonne in Bezug auf ihre Trennfähigkeit zeigte sich der interessante Effekt, daß das HETP bei der Parallelschaltung mehrerer Kolonnen gegenüber dem entsprechenden Wert einer einzelnen Kolonne abnimmt. Selbstverständlich liegen die Werte ungünstiger als bei einer analytischen Kolonne (Bild 2). Die gleichmäßige Füllung der acht parallelen Kolonnen bietet keine technischen Schwierigkeiten, erfordert jedoch einige Erfahrung.

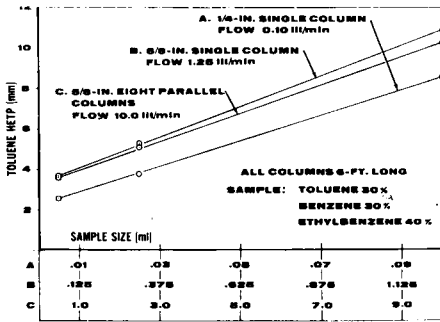


Bild 2.—Theoretische Bodenhöhe als Funktion der Kolonnenschaltung und der Probenmenge bei Toluol.

Bei komplexen Gemischen ist es häufig nicht möglich, alle Komponenten in der gewünschten Reinheit zu gewinnen. Durch das Einführen sogenannter „Schnitte“ ist es jedoch möglich, durch wiederholte Injektionen die Komponenten mit entsprechender Reinheit darzustellen. Zur Prüfung des Verfahrens wurde ein Gemisch von Cyclohexanol, *m*-Xylol und *o*-Xylol im Verhältnis 4:2:1 aufgegeben. Im ersten Chromatogramm zeigte sich *m*-Xylol nur als Asymmetrie des Cyclohexanol-Peaks, das *o*-Xylol trat als definierte Schulter auf (Bild 3). An der bezeichneten Stelle wurde die Kühlfalle eingeschaltet. Die aufgefangenen Fraktionen wurden nochmals

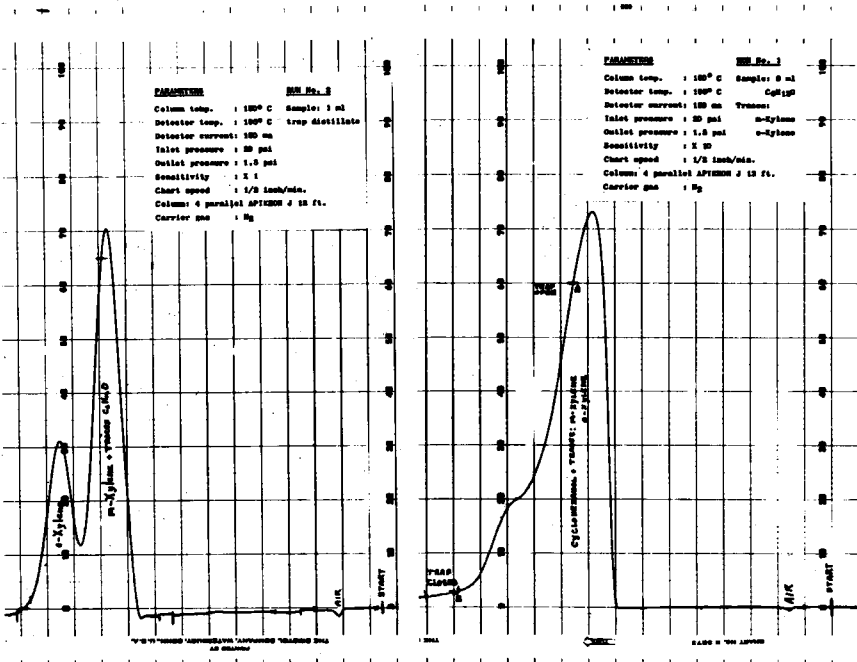


Bild 3.—Fraktionsschnitt von *m*- und *o*-Xylol aus einem Gemisch von Cyclohexanol.

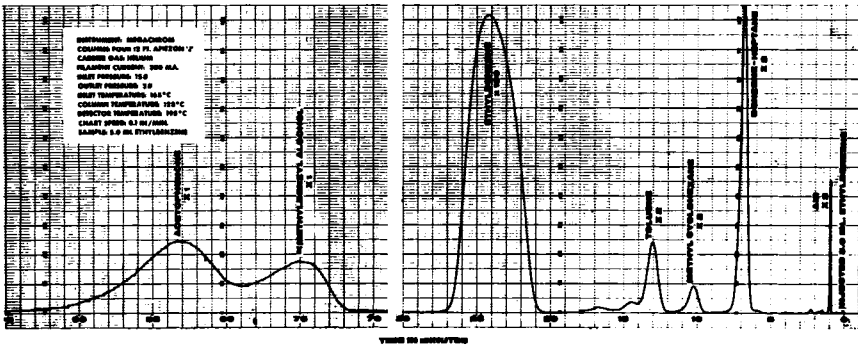


Bild 4.—Abtrennung der Verunreinigungskomponenten aus 99%igem Äthylbenzol.

dem Gaschromatographen aufgegeben. Die linke Hälfte von Bild 3 zeigt die nahezu vollständige Trennung von *m*-Xylol und *o*-Xylol.

Bild 4 zeigt die Trennung von 5 ml Äthylbenzol, das mit 99% Reinheit aufgegeben wurde. Im Bild 5 sind oben die Infrarotspektren des aufgegebenen Äthylbenzols und des gaschromatographisch gewonnenen Äthylbenzols übereinander aufgezeichnet. Es sind nur an wenigen Stellen kleine Unterschiede zu erkennen. Die darunter befindlichen Spektren sind aus den daraus abgetrennten Komponenten aufgenommen.

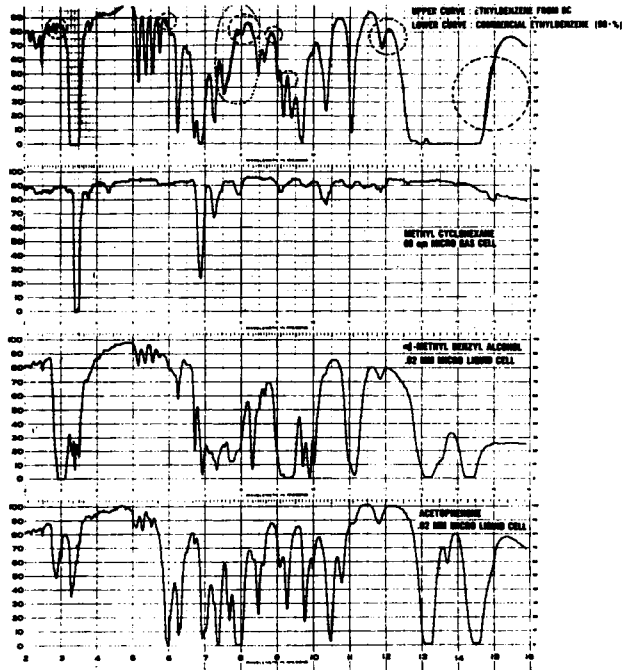


Bild 5.—IR-Spektrenvergleich von reinem und verunreinigtem Äthylbenzol.

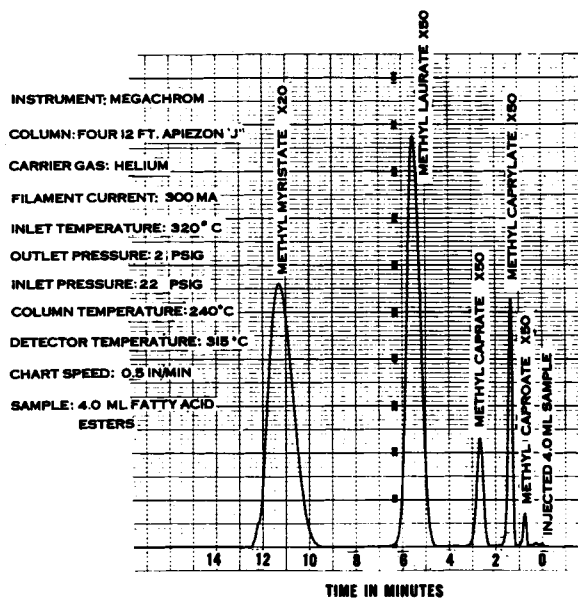


Bild 6.—Trennung von Fettsäuremethylestern.

Zur Prüfung des Gerätes auf das Verhalten bei hohen Temperaturen wurde ein Gemisch von Fettsäure-Methylestern aufgegeben (Bild 6). Bild 7 zeigt die Infrarotauswertung der gewonnenen Fraktionen. Da Methyl-Laurat und Methyl-Myristat nahezu identische Infrarotspektren zeigen, wurden Bariumsalze nach der Methode von Meiklejohn [2] angefertigt, die im KBr-Preßling untersucht wurden. Die Unterschiede sind deutlich zu erkennen.

Als Beispiele für das mehrmalige Chromatographieren wurden zwei ätherische Öle und Erdöl untersucht. Bei der Trennung von Zitronenöl wurden insgesamt sieben Fraktionen nach mehrmaligem Chromatographieren gewonnen. Die Identifizierung ist in Bild 8 angegeben. Sie wurde aus den Infrarotspektren (Bild 9) gewonnen.

Ein weiterer Versuch der „Schnitt-Technik“ diente zur Unterscheidung von natürlichem und künstlichem Nelkenöl. Die Chromatogramme können in drei Bereiche aufgeteilt werden: Den Vorlauf, die Hauptkomponente und den Nachlauf. Da die Hauptkomponente über 90% des Gemisches ausmacht, mußte das Schnittverfahren mit einer Gesamtmenge von 10 ml angewandt werden. Die einzelnen Fraktionen wurden in zwei Kolonnen von 8 m Länge nochmals chromatographiert (Bild 10). Bild 10 zeigt den Vorlauf von natürlichem und künstlichem Nelkenöl. Es fällt auf, daß die Imitation mehr Komponenten enthält als das natürliche Öl. Die Identifizierung ist in Tabelle 1 angegeben.

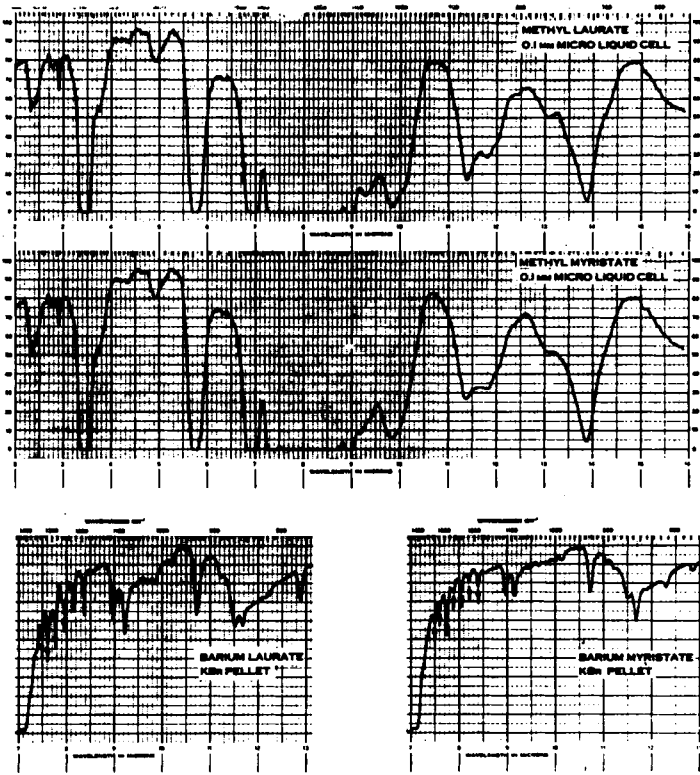


Bild 7.—IR-Spektren der Methylester und Bariumsälze von Laurin- und Myristinsäure.

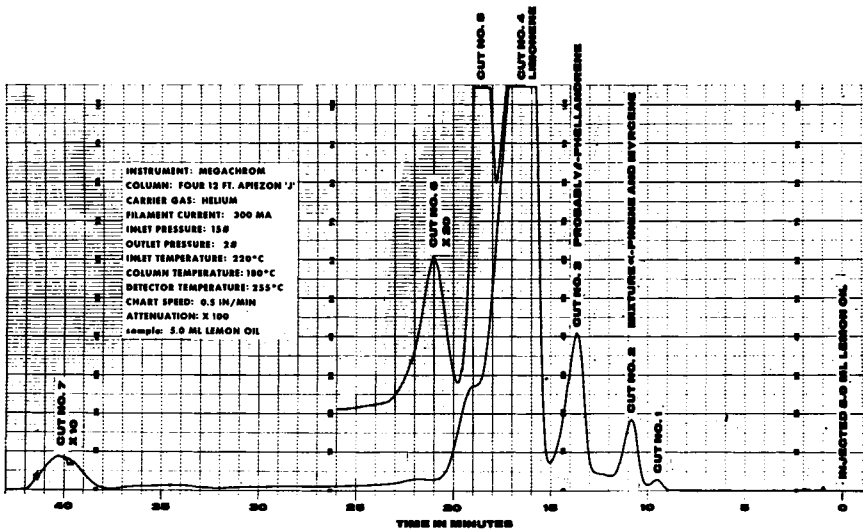


Bild 8.—Chromatogramm von 5 ml Zitronenöl.

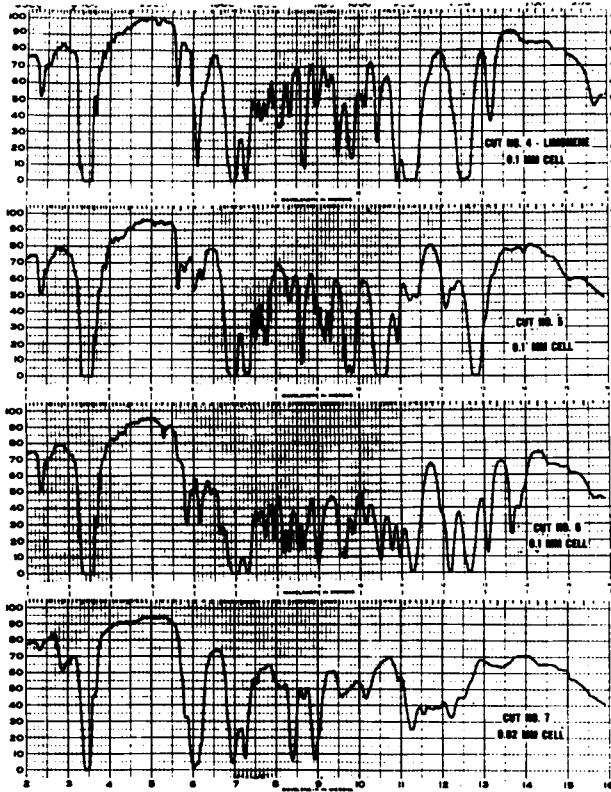


Bild 9.—IR-Spektren einiger Zitronenölfractionen.

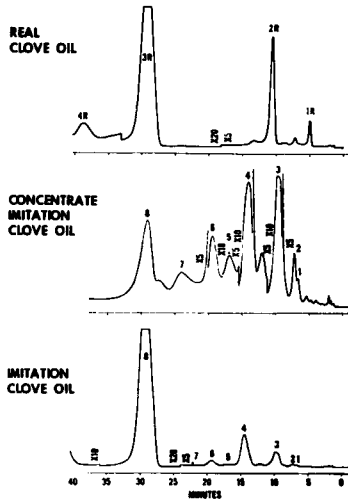


Bild 10.—Chromatogramme von künstlichem und natürlichem Nelkenöl.

TABELLE 1.

Komponente	Substanz
1	ungesättigter Kohlenwasserstoff (KW)
2	ungesättigter Kohlenwasserstoff
3	<i>p</i> -substituierter aromatischer KW
4	<i>iso</i> -paraffinischer KW
5	Dimethyl-Paraffin-KW
6	Paraffin-KW
7	Glycerin-Triacetat
8	Eugenol
1R	aromatischer Aldehyd
2R	Benzylalkohol
3R	Eugenol
4R	Eugenol-Acetat

Besonders interessant ist, daß in natürlichem Öl nur sauerstoffhaltige Verbindungen auftreten, während im künstlichen Öl auch Kohlenwasserstoffe gefunden wurden.

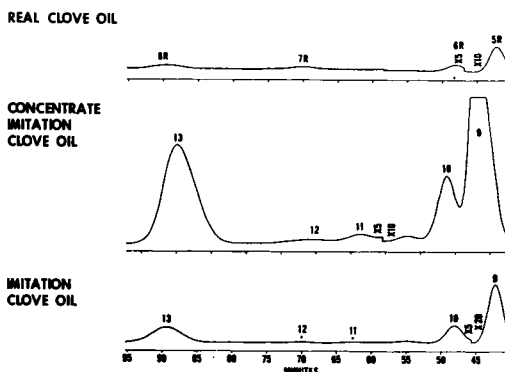


Bild 11.—Nachlaufaktionen aus künstlichem und natürlichem Nelkenöl.

Die Nachläufe (Bild 11) stimmen im wesentlichen überein. Es fehlt nur Eugenol-Acetat im künstlichen Nelkenöl. Die Identifizierung zeigt Tabelle 2.

Die Untersuchung von Rohöl wurde — da es sich um sehr lange homologe Reihen handelte — mit einer geringeren Probenmenge (2 ml) und einer

TABELLE 2.

Komponente	Substanz
9 und 5R	Caryophyllen
10 und 6R	aromatischer Äther und ungesättigter KW
11	monosubstituierter aromatischer KW
12 und 7R	aromatischer Aldehyd
13 und 8R	Benzyläther

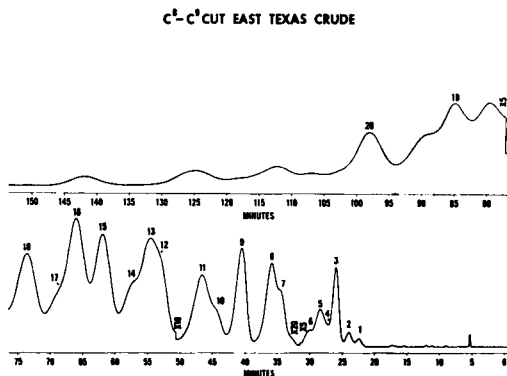


Bild 12.—Trennung eines Rohöles und einer seiner Fraktionen.

sehr langen Kolonne (16 m) durchgeführt. Selbst unter diesen Bedingungen war es nicht möglich, die Komponenten mit genügender Reinheit darzustellen, um eine Infrarot-Identifizierung anzuschließen. Es wurde daher ein Teil des Gemisches wieder aufgefangen und auf einer analytischen Kolonne nochmals getrennt (Bild 12). In Bild 13 sind die Logarithmen der Retentionszeiten als Funktion des Siedepunktes aufgetragen.

Diese Darstellung erwies sich als sehr wertvoll für die Identifizierung. Unbekannte Substanzen werden infrarot in einer Gruppe bestimmt, z. B. aliphatische Kohlenwasserstoffe, die einzelnen Komponenten werden dann aufgrund ihres Siedepunktes bestimmt.

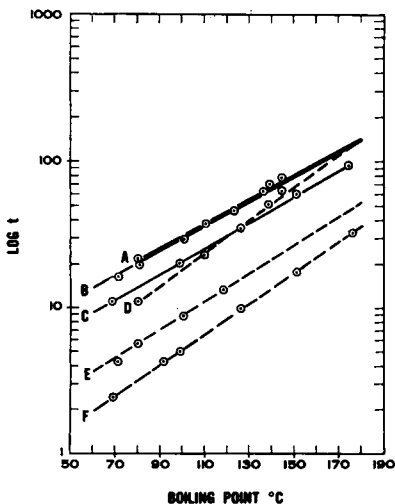


Bild 13.—Logarithmus der Retentionszeiten als Funktion ihrer Siedepunkte.

LITERATUR

1. ATKINSON, E. P. and TUEY, G. A. P., *Gas Chromatography*, p. 270. (Ed. D. H. DESTY) Butterworths, London, 1958.
2. MEIKLEJOHN, R. A., MEYER, R. J., ARONOVIC, S. M., SCHUELTE, H. A. and MELOCH, V. W., *Anal. Chem.* **29**, 329 (1957).