

THE JOURNAL OF THE SOCIETY OF COSMETIC CHEMISTS

Dieses Heft wurde herausgegeben von der
GESELLSCHAFT DEUTSCHER KOSMETIK-CHEMIKER E. V.
und ist erschienen bei
Christa-Maria Orlick, Verlag Hamburg

Vol. XIII

November 1962

No. 8

CHROMATOGRAPHISCHE ANALYSEN-VERFAHREN IN WISSENSCHAFT UND BETRIEBSKONTROLLE

Prof. Dr. ARTUR SEHER*

Vorgetragen am 9. Juli 1962 in Hamburg

An important progress in analytical chemistry has been made by help of chromatographic methods. Paper chromatography, thin layer chromatography and gas-liquid chromatography are used in research and production control. These three methods are compared concerning

1. the time needed for one separation
2. the sensivity and specificity of the analytical response
3. the possibility to get quantitative results,
4. the cost of the equipment, and
5. the separation of mixtures of fatty acids, their esters, glycerides, polyvalent alcohols, polyglycols, essential oils, and antioxydants.

Based on personal experiences instructions are given for the application of scientific methods for production control.

I. Die Methoden

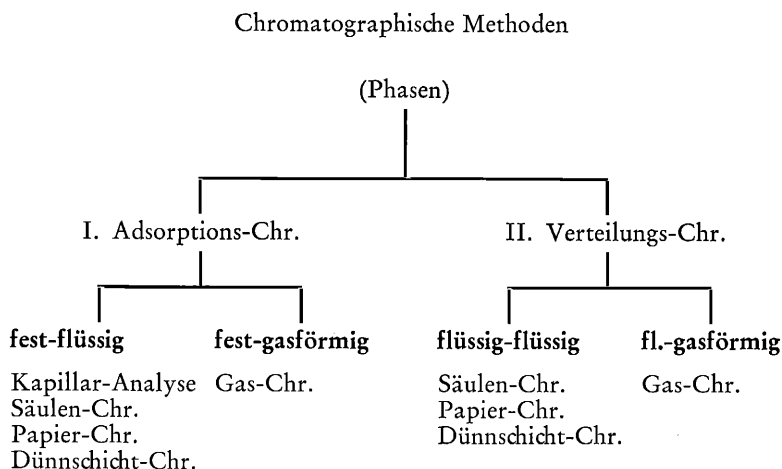
Chromatographische Verfahren stellen einen der bedeutsamen Fortschritte dar, die in den Nachkriegsjahren auf dem Gebiet der Analyse erzielt worden sind.

* Deutsches Institut für Fettforschung, Münster (Westf.), Piusallee 76.

Die möglichst vollständige Trennung von Stoffgemischen und anschließende quantitative Bestimmung einzelner oder aller Bestandteile ist eine im chemischen Laboratorium stets wiederkehrende, wichtige Aufgabe. Seit der Entwicklung der Verteilungs-, der Papier- und der Gas-Chromatographie durch die dafür mit dem Nobelpreis ausgezeichneten Forscher MARTIN und SYNGE (1, 2) haben vor allem die beiden letzteren Methoden sowie die damit verwandte Dünnschicht-Chromatographie eine wesentliche Vervollkommnung und dadurch weitverbreitete Anwendung erfahren.

Bei den chromatographischen Methoden stehen sowohl Sorptions-Trennungen als auch Verteilungs-Verfahren zur Verfügung.

Das folgende Schema gibt einen Überblick über die Ausführungsformen.



In der Adsorptions-Chromatographie besteht die Möglichkeit, im System fest-flüssig oder fest-gasförmig zu arbeiten. Dem ersten Prinzip werden die Säulen-, Papier- und Dünnschicht-Chromatographie zugeordnet. Das zweite Prinzip ist in bestimmten Formen der Gas-Chromatographie verwirklicht. Durch Imprägnierung — meist mit Hydrophobierungsmitteln — lassen sich die Methoden in solche der Verteilungs-Chromatographie überführen.

II. Vergleiche der Methoden

Die Methoden fanden zunächst Eingang in die Arbeiten zahlreicher Forschungslaboratorien. Mit ihrer Hilfe gelangen in den vergangenen 10 Jahren zahlreiche Entdeckungen von Naturstoffen, die früher wegen ihrer geringen Konzentration übersehen worden waren. Als Beispiel seien die dünnschicht-chromatographischen Arbeiten von WINTERSTEINER (3) über Carotinoid-Aldehyde angeführt und

die Entdeckung der weiten Verbreitung ungradzahliger Fettsäuren in vielen Tier- und Pflanzenfetten mit Hilfe der Gas-Chromatographie (4).

Zu der hier vorgesehenen Gegenüberstellung der Anwendungsmöglichkeiten sowie der Vor- und Nachteile der einzelnen Verfahren ist es nicht möglich, den vollen Einsatz-Umfang zu behandeln. Vielmehr erscheint es angebracht, eine enge Auswahl des Stoffes zu treffen, wobei eigene Erfahrungen und die Arbeiten des Deutschen Instituts für Fettforschung in erster Linie berücksichtigt werden sollen.

Die erste Tabelle zeigt die getroffene Auswahl der Stoffgruppen und die Anwendbarkeit der Methoden zu ihrer Trennung.

Stoffgruppe	Anwendbarkeit der Methoden		
	Papier-	Dünnschicht-	Gas-Chr.
Fettsäuren	+ +	+	(+)
-methylester	(+)	+	+ +
Wachssäuren	+ +	+	+
Glyceride	+	+ +	—
Fettalkohole	+	+	+ +
Polyalkohole	+	?	?
Polyglykole	(+)	+	—
Ätherische Öle	—	+	+
Antioxydantien	+	+ +	—

Tabelle 1

Die Zusammenstellung läßt erkennen, daß die Papier- und Dünnschicht-Chromatographie universeller angewandt werden können als die Gas-Chromatographie, die auf solche Stoffe beschränkt ist, die sich unzersetzt verdampfen lassen. Die von mir für die jeweilige Stoffgruppe am günstigsten beurteilte Methode wurde durch zwei Kreuze gekennzeichnet. Die eingeklammerten Kreuze zeigen weniger gute Anwendungsmöglichkeiten an. Es muß betont werden, daß diese Charakterisierung persönlichen Erfahrungen entspricht und daher eine gewisse individuelle Färbung besitzt.

Für die Beurteilung der gegenübergestellten Methoden sind ausschlaggebend gewesen:

1. Der Zeitbedarf für eine Analyse. Er ist für die Papier-Chromatographie am größten. Eine Analyse erfordert im Durchschnitt 16—24 Stunden. Für eine vollständige dünn-schicht-chromatographische Trennung werden 2—4 Stunden benötigt. Am schnellsten lassen sich Gas-Chromatogramme aufnehmen. Sie erfordern etwa $\frac{1}{2}$ —2 Stunden.

2. Ist die Nachweis-Empfindlichkeit für die getrennten Verbindungen bedeutsam. In der Tabelle 2 sind die ungefähren Erfassungsgrenzen für die drei chromatographischen Methoden zusammengestellt.

Methode	Nachweis-Grenzen		
	maximale Probenmenge	Erfassungsgrenze	Grenz-Konzentration
Papier-Chr.	200 μg	1—5 μg	0,5 —2,5 ‰
Dünnschicht-Chr.	200 μg	0,5—1 μg	0,3 —0,5 ‰
Gas-Chr.*	20 000 μg	1—5 μg	0,005—0,02 ‰

* für den Wärmeleitfähigkeits-Detektor und gepackte Kolonnen.

Tabelle 2

Die angegebenen Zahlenwerte stellen mittlere Werte für normale Analysen dar. Spezialfälle konnten in der Übersicht nicht berücksichtigt werden. Die Mengen für die untere Erfassungsgrenze wurden so gewählt, daß eine eindeutige Erkennung gewährleistet ist. Wesentlich sind die Zahlen der letzten Spalte. Sie ergeben sich aus den maximalen Probenmengen und der unteren Erkennungsgrenze als diejenigen Konzentrationen, in der ein Bestandteil mindestens vorliegen muß, um gerade noch erfaßt zu werden. Hierbei schneidet die Papier-Chromatographie am ungünstigsten ab. Die Dünnschicht-Chromatographie ist etwas empfindlicher. In der Gas-Chromatographie besitzen wir eine Methode, die 50—100mal kleinere Gehalte erkennen läßt, als dies bei der Papier-Chromatographie möglich ist. Hierdurch ist diese Methode den beiden anderen erheblich überlegen. Andererseits stellt die große Empfindlichkeit auch eine Gefahr dar: die Anzeige im Gas-Chromatographen ist ein elektrischer Effekt, der keinerlei Rückschlüsse auf die Konstitution der Verbindung zuläßt.

In der Abb. 1 ist im oberen Teil das Fraktogramm einer Fettsäuremischung dargestellt, die Linolsäure enthält. Darunter wurde ein Fraktogramm eingetragen, das aus der gleichen Mischung einige Stunden später erhalten wurde. Es sind drei zusätzliche Maxima aufgetreten, die als Myristolein-, Pentadecan- und verzweigte Pentadecansäure angesprochen werden könnten. Die Bande für die Linolsäure hat abgenommen. Aus dieser Gegenüberstellung beider Fraktogramme ist klar ersichtlich, daß hier eine Autoxydation der Linolsäure stattgefunden hat. Ohne die Kenntnis über die Vorgeschichte der Probe würde bei einer Zuordnung auf Grund der Retentionszeiten auf Tetradecan-, Pentadecan- und Methylpentadecansäuremethylester zu schließen sein. Tatsächlich handelt es sich hier um C_9 - und C_{11} -Oxy- und Oxosäuren. Solche Spaltprodukte stören weder im Papier- noch im Dünnschicht-Chromatogramm. Die aufgezeigten Unterschiede in der minimalen Grenz-Kon-

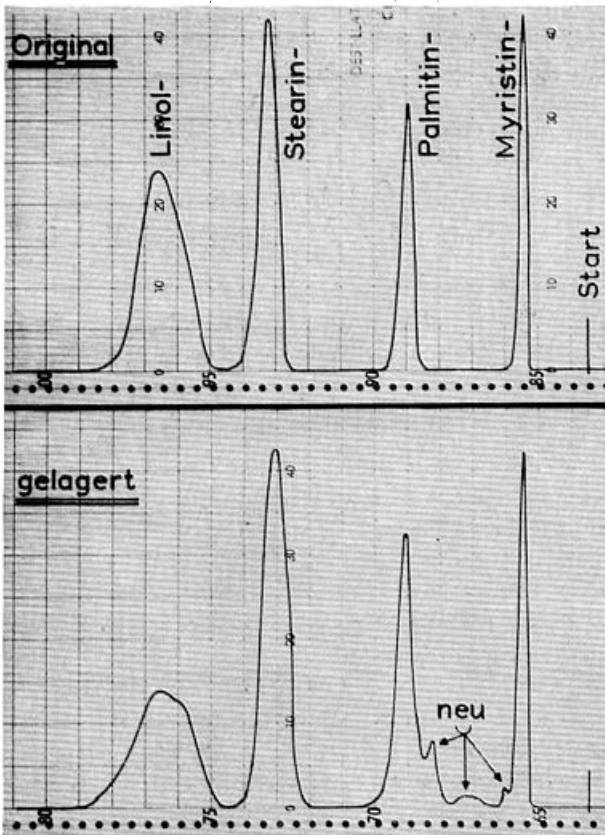


Abb. 1:

GLC-Fraktogramme von Estergemischen, die Linolsäure enthalten

Experimentelle Daten: Menge 2 μ l

Säule Nr. R 2	Temperatur	220° C
Druckabfall 0,7 atü	Vorheizung	180° C
Gasmenge 4,5 l/h	Nachheizung	260° C
Zellenstrom 160 mA	Vorschub	0,5 cm/m

zentration machen auch deutlich, warum die Resultate von papier-chromatographischen Analysen mit denen aus der Dünnschicht-Chromatographie weitgehend übereinstimmen, während bei gas-chromatographischen Untersuchungen vielfach abweichende Ergebnisse gefunden wurden.

- 3 Der Wert der Methode wird durch die Möglichkeit beeinflusst, neben einer qualitativen auch eine quantitative Aussage machen zu können. Hier

sind die Verhältnisse für die Dünnschicht-Chromatographie am ungünstigsten. Es sind bisher nur wenige quantitative Bestimmungen gelungen (5, 6, 7). Bei der Papier-Chromatographie sind die quantitativen Verfahren etwas zahlreicher (8, 9, 10); am günstigsten schneidet die Gas-Chromatographie ab, bei der sämtliche Analysen quantitativ ausgewertet werden können (11).

4. Es bedarf der Berücksichtigung der Anlagekosten. Diese sind für die Papier-Chromatographie am geringsten. Für eine Ausrüstung zur Dünnschicht-Chromatographie ist der Bedarf nicht wesentlich größer. Eine Einrichtung für die Gas-Chromatographie erfordert ein Vielfaches an Aufwand. Als wichtigstes und daher am ausführlichsten zu behandelndes Kriterium der Gegenüberstellung müssen die Analysen behandelt werden. Ihre Darstellung wird in der gezeigten Auswahl, nach Stoffgruppen unterteilt, vorgenommen (siehe Tab. 1).

III. Anwendung bei Forschungsarbeiten

Die Trennung freier Fettsäuren erfolgt papier-chromatographisch auf hydrophobierten Papieren. KAUFMANN und Mitarbeiter (12) bevorzugen die temporäre Hydrophobierung mit Undecan, da diese nach der Entwicklung des Chromatogramms entfernt werden kann und dadurch den Nachweis der getrennten Säuren nicht stört. Das Ergebnis einer solchen Trennung ist in Abb. 2 gezeigt. Die Sichtbarmachung erfolgte spezifisch durch Umsetzung der Carboxylgruppe mit Kupferacetat und nachfolgender Reaktion der Kupferseife mit Rubeanwasserstoff. Die auf diese Weise gefärbten Fettsäuren können im Papier-Chromatogramm durch direkte photometrische Messung auch quantitativ bestimmt werden (8, 9).

Die papier-chromatographische Arbeitsweise wurde von KAUFMANN und MAKUS (13) auf die Dünnschicht-Chromatographie übertragen. Die qualitativen Ergebnisse sind gleich. Bei dem Versuch einer quantitativen Auswertung der Platten ergeben sich bisher noch Schwierigkeiten.

Freie Fettsäuren können auch gas-chromatographisch an Polyester-Kolonnen getrennt werden, die mit Phosphorsäure behandelt wurden (14). Jedoch wiegen die dabei heute noch in Kauf zu nehmenden Nachteile den einzigen Vorteil der ersparten Veresterung in keiner Weise auf.

Für Fettsäuremethylester ist die Gas-Chromatographie die überlegene Methode. Als günstigste stationäre Phasen haben sich Reoplex, Resoflex und ähnliche Polyester erwiesen (15). Man arbeitet bei Temperaturen zwischen 180 und 230° C. Nach unseren Erfahrungen sind Kolonnen mit mindestens 3000

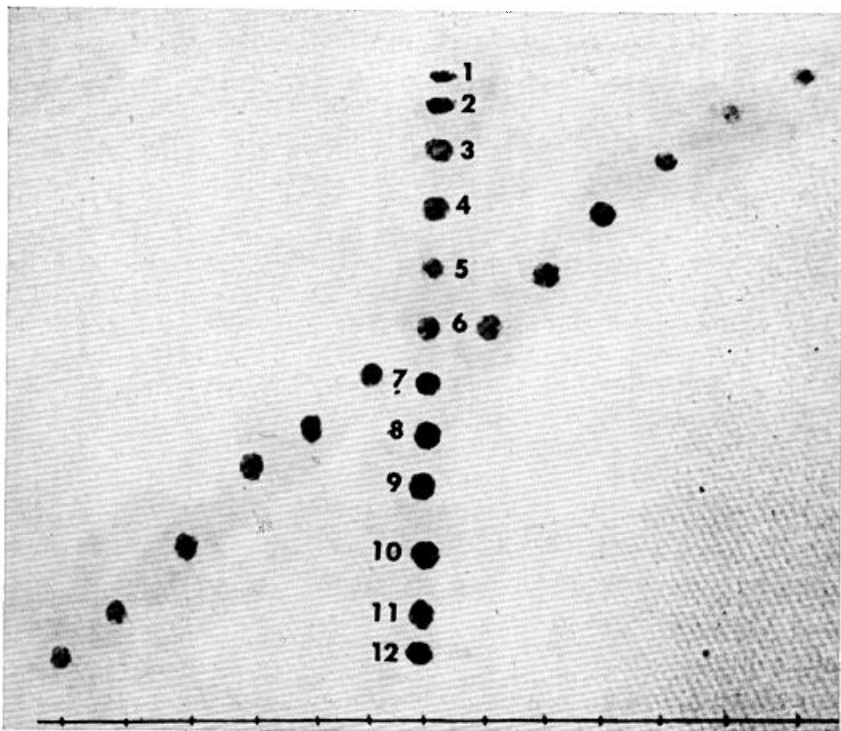


Abb. 2:

Trennung der unverzweigten, gerad- und ungeradzahigen Fettsäuren ($C_{10} - C_{24}$)

- | | |
|--------------------|--------------------|
| 1. Caprinsäure | 7. Palmitinsäure |
| 2. Undecansäure | 8. Heptadecansäure |
| 3. Laurinsäure | 9. Stearinsäure |
| 4. Tridecansäure | 10. Arachinsäure |
| 5. Myristinsäure | 11. Behensäure |
| 6. Pentadecansäure | 12. Lignocerinäure |

(Papier-Chromatographie)

theoretischen Böden notwendig, um befriedigende Trennungen zu erzielen (16). In Abb. 3 ist das Gas-Chromatogramm der Fettsäuremethylester eines gehärteten Walöles dargestellt.

Sie soll vor allem die Trennung von gesättigten und ungesättigten Estern sehr unterschiedlicher Kettenlänge veranschaulichen. Man erkennt, daß die erfolgte Trennung gerade eben ausreichend ist. Eine Leistungs-Reserve ist nicht mehr vorhanden. Die Identifizierung der einzelnen Säuren erfolgte über ein zweites Fraktogramm, das von den vollständig hydrierten Estern gewonnen wurde und durch Vergleich mit authentischen Fettsäuremethylestern. Auf diesem Wege ließen sich auch die hier durch Überlagerung verdeckten Komponenten ermitteln.

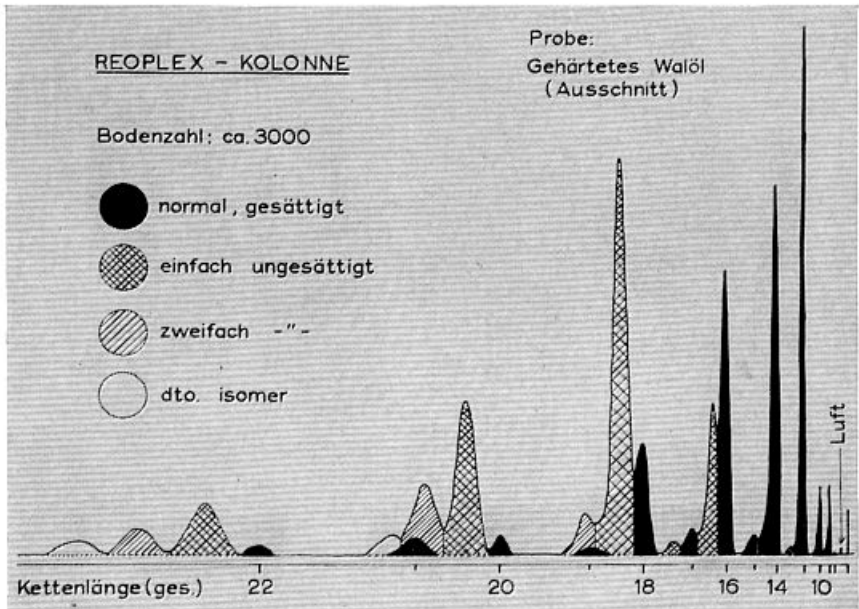


Abb. 3:
Trennung der Fettsäuremethylester aus gehärtetem Walöl (wiedergegeben bis C_{22})
(Gas-Chromatographie)

In das gezeigte Fraktogramm wurden die Ester mit mehr als 22 C-Atomen nicht mehr eingetragen, da diese ein ähnliches Bild ergeben wie die C_{22} -Gruppe.

Bei Gemischen aus wenigen Komponenten kann durch Verminderung der Probenmenge die Trennung verbessert werden. Als Beispiel soll die in Abb. 4 gezeigte Trennung von Leinölfettsäuremethylestern dienen, bei der nur $\frac{1}{4}$ der Probenmenge angewandt wurde, die bei Abb. 3 erforderlich war.

Die Gas-Chromatogramme können auch quantitativ ausgewertet werden. In umfangreichen Untersuchungen (11, 16) wurde die Problematik der quantitativen Gas-Chromatographie eingehend behandelt. An dieser Stelle sollen nur wenige Hinweise gegeben werden: als Maß für die Mengenbestimmung dient allgemein die vom Schreiber registrierte Bandenfläche. Bereits die hier erforderliche Flächenmessung bereitet wegen der sehr uneinheitlichen Größen und Formen mehr Schwierigkeiten, als vielfach angenommen wird. Bei kleinen Flächen fand JANÁK (17) je nach der benutzten Methode Fehler bis zu 30 %. Nach unseren Erfahrungen werden zuverlässige Resultate nur mit einem guten elektronischen Integrator erhalten.

Die Berechnung der Substanzmenge aus den Flächenwerten erfordert auch bei Helium oder Wasserstoff als Trägergas eine experimentelle Eichung der ge-

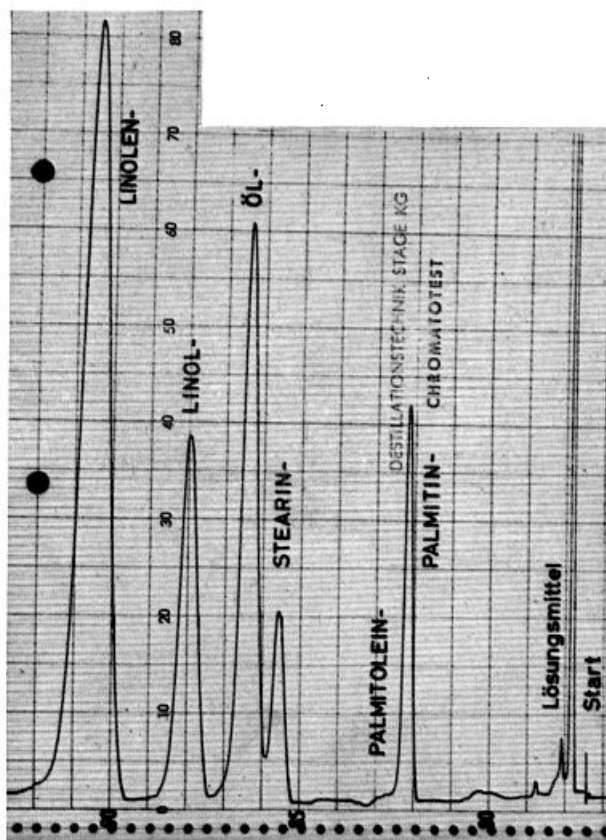


Abb. 4:
GLC-Trennung der Fettsäuremethylester aus Leinöl

Experimentelle Daten: Menge 3 μ l

Säule Nr. 4 Temperatur 210° C

Druckabfall 0,87 atü

Gasmenge 4 l/h

Zellenstrom 185 mA Vorschub 0,5 cm/m

samen Apparat bei den später sorgfältig konstant zu haltenden Arbeitsbedingungen. In Abb. 5 ist eine von uns aufgenommene Schar von Eichgeraden wiedergegeben, die für Ergebnisse von Eich-Messungen typisch ist.

Die Steigung der Geraden macht anschaulich, daß die relative Detektor-Anzeige mit wachsendem Molekular-Gewicht in einer homologen Reihe stark absinkt.

Die Steigung der Geraden wird von zahlreichen apparativen Daten beeinflusst, von der Temperatur, dem Brückenstrom im Wärmeleitfähigkeitsdetektor, der Durchflußmenge des Gases und der Kolonne selbst. Bereits diese wenigen

Angaben lassen die Bedeutung der Eichung für die quantitative GLC-Analyse erkennen. Ohne Eichung muß man im Gas-Chromatogramm bei Hauptkomponenten mit Fehlern zwischen 10 und 25 % rechnen. Für Nebenbestandteile kann der Fehler auf 100 % anwachsen. Durch Verwendung der Korrektur-Faktoren lassen sich die Fehler auf 3 % erniedrigen.

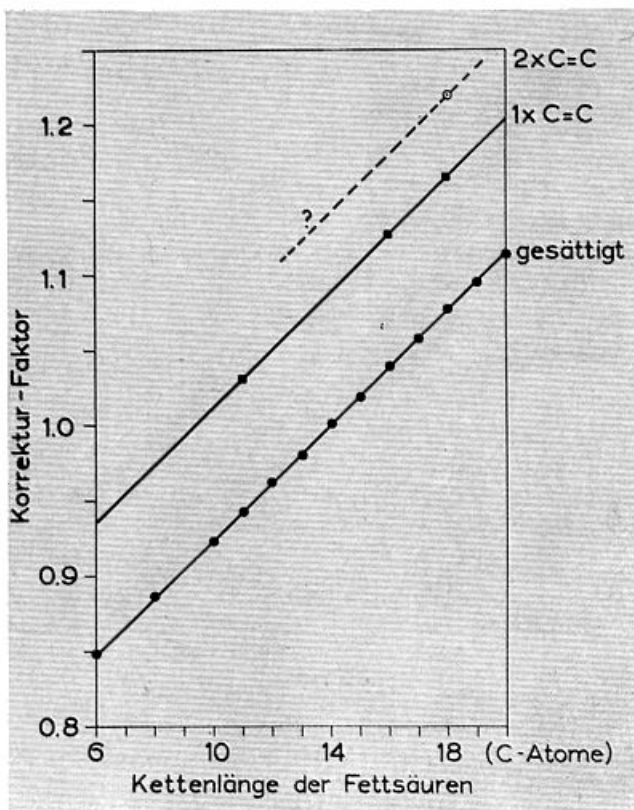


Abb. 5:
Eichgeraden für einen Hitzdraht-Detektor, Helium- und Reoplax-Kolonne

Triglyceride lassen sich papier-chromatographisch trennen. KAUFMANN und Mitarbeiter (13, 17) verbesserten ihre früher angegebene Arbeitsweise durch Übertragung auf die Dünnschicht-Chromatographie. Sie imprägnierten Kieselgur-G-Platten mit Tetradecan. Als Fließmittel benutzten sie ein Gemisch aus Aceton und Acetonitril im Verhältnis 8 : 2. Das Ergebnis einer Modell-Trennung ist in Abb. 6 dargestellt.

Man sieht, daß neben den homologen, einsäurigen Triglyceriden auch zweiseaurige getrennt werden können, die sich im Molgewicht noch um zwei Methylengruppen unterscheiden.

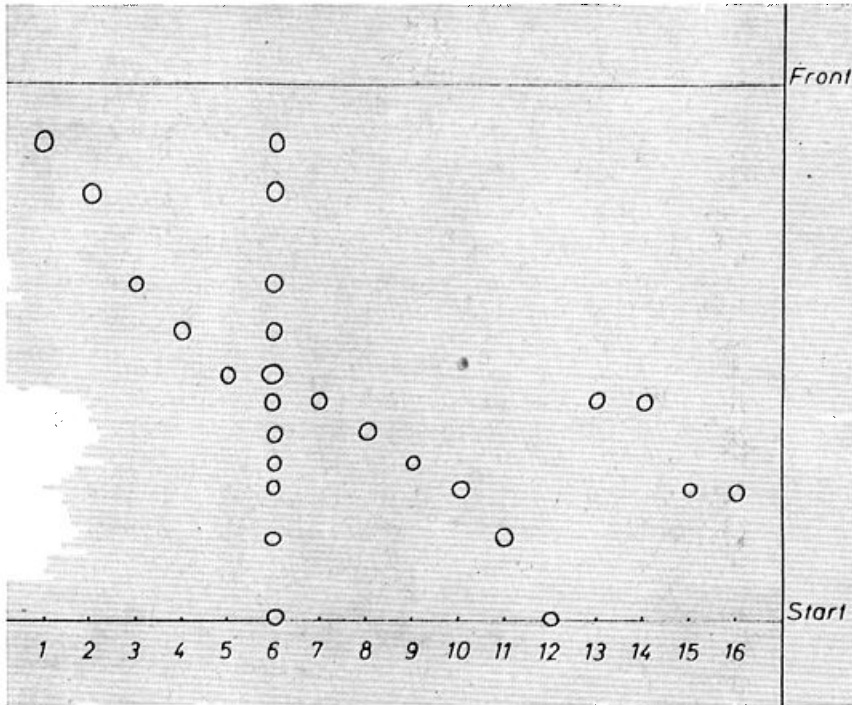


Abb. 6:

Dünnschicht-Chromatogramm von gesättigten, synthetischen Triglyceriden

1. CyCyCy	9. C _{ss}	Es bedeuten:
2. CCC	10. PPP	
3. LaLaLa	11. PSS	Cy = Caprylsäure
4. CCS	12. SSS	C = Caprinsäure
5. PLaLa	13. LaLaS	La = Laurinsäure
6. Gemisch 1—12	14. Gemisch 7 + 13	M = Myristinsäure
7. MMM	15. LaSS	P = Palmitinsäure
8. PPLa	16. Gemisch 10 + 15	S = Stearinsäure

Durch wiederholte Entwicklung mit dem gleichen Fließmittel können auch Triglyceride voneinander getrennt werden, die chemisch noch ähnlicher sind (18). Zur Trennung von Mono- und Diglyceriden hat sich die Dünnschicht-Chromatographie gleichfalls bewährt. Analysen dieser als Emulgatoren bedeutsamen Verbindungen gelingen nach einem von KAUFMANN und MAKUS (13) entwickelten Kombinations-Verfahren. Das Prinzip ist in Abb. 7 dargestellt.

Hierbei wird die Probe auf die normale Kieselgel-G-Platte am Startpunkt aufgetropft und in der ersten Richtung z. B. mit Isopropyläther als Fließmittel entwickelt. Danach wird die Platte getrocknet und vorsichtig bis zur punktierten Linie mit Undecan imprägniert. In der zweiten Laufrichtung erfolgt dann Ent-

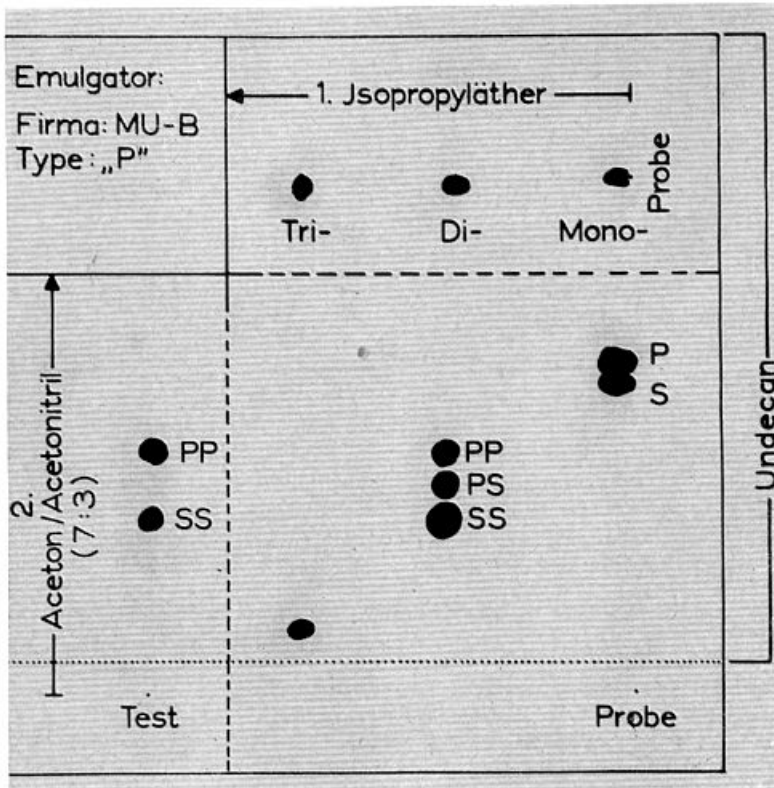


Abb. 7:
Kombinationstrennung eines Gemisches aus Partialglyceriden (Dünnschicht-Chromatographie)

wicklung mit Aceton-Acetonitril. Bei dieser Arbeitsweise tritt zuerst Trennung in die Polaritäts-Gruppen Mono-, Di- und Triglyceride ein. Im zweiten Gang erfolgt dann die Auftrennung dieser Gruppen in die einzelnen Komponenten.

Zur Trennung der Fettalkohole sind grundsätzlich alle drei chromatographischen Verfahren geeignet. KAUFMANN und KOHLMEYER (19) trennten auf hydrophobiertem Papier. MANGOLD und Mitarbeiter (20) arbeiteten eine dünnschicht-chromatographische Methode aus. Am besten geeignet scheint die Gas-Chromatographie zu sein. LINK und MORRISSETTE (21) überführten die Alkohole in die Essigsäureester und arbeiteten dann in der von Fettsäure-

estern her bekannten Weise. Für die quantitative Bestimmung der getrennten Alkohole gelten die bei den Fettsäureestern gemachten Angaben.

KAUFMANN und KESSEN (22) überführten die Alkohole durch Umsatz mit Allylisocyanat in die Allylurethane. Letztere konnten sie in dem für Fettsäuren erprobten System Undecan-Essigsäure papier-chromatographisch trennen. Ein Chromatogramm umfaßt den Bereich von C_{10} — C_{28} . Zur Anfärbung benutzen sie Quecksilberacetat und Schwefelwasserstoff. Die erhaltenen Flächen konnten durch Photometrie des Chromatogramms auch quantitativ ausgewertet werden.

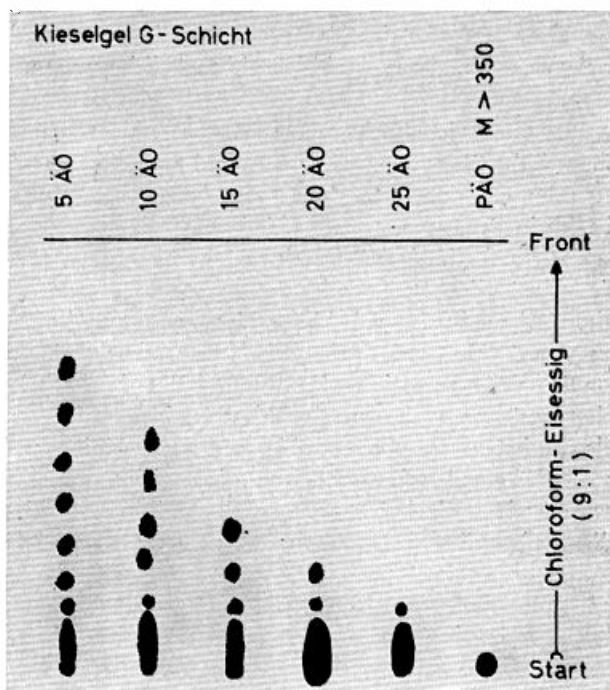


Abb. 8:
Trennung von Polyäthylenglykol-octadecylmonoäthern
(Dünnschicht-Chromatographie)

Auf dem Gebiet der Analysen von Polyalkoholen liegen bisher nur wenige Veröffentlichungen vor. WURZIGER (23) trennte Glycerin und Polyglycerine auf Rundfiltern. Als Fließmittel benutzte er *n*-Butanol-Ammoniak. Die Sichtbarmachung erfolgte mit Silberdiamin-nitrat-Lösung. Die Trennung ist geeignet zur Erkennung von Emulgatoren auf Polyglycerin-Basis (24). Wir haben sie verschiedentlich mit gutem Erfolg nachgearbeitet.

Polyglykole und ihre Derivate lassen sich bisher nicht so einfach analysieren, wie dies für die Praxis wünschenswert wäre. Einige papier-chromatographische Trennungen haben KAUFMANN und WALTER (25) beschrieben. Auf Aluminiumoxyd-G-Platten können die Tweene mit Chloroform-Eisessig im Verhältnis 98 : 2 in homologe Gruppen aufgetrennt werden. Auf Kieselgel-G-Schichten trennen sich bei Verwendung von Chloroform mit 10 % Eisessig Polyglykol-Äther in zahlreiche Komponenten auf (26). Das Ergebnis einer solchen Trennung ist in Abb. 8 dargestellt.

Ähnlich verhalten sich die Ester. Zur Erkennung dieser Produkte im Dünnschicht-Chromatogramm ist Kobaltrhodanid-Lösung geeignet. Wegen der Uneinheitlichkeit dieser Stoffe ist eine Trennung von Mischungen und die Identifizierung der einzelnen Komponenten bisher nicht möglich gewesen.

Über die Analyse von ätherischen Ölen liegen Arbeiten von STAHL mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie (27) und zahlreiche gas-chromatographische Untersuchungen vor. Durch die Dünnschicht-Chromatographie lassen sich ätherische Öle in Gruppen von unterschiedlicher Polarität trennen. PETROWITZ (28) gelang auf Kieselgel-G-Schichten mit Mischungen aus Benzol und Methanol die vollständige Analyse der 4 isomeren Menthole. BRIESKORN und Mitarbeiter (29) modifizierten bei ihren Untersuchungen die Trennschichten durch Zusatz von 15 % Gips. Dadurch gelang es ihnen, eine weitgehende Trennung von Salbeiölen zu erzielen. TSCHESCHE und Mitarbeiter (30) analysierten Triterpensäuren und neutrale Triterpenoide. STAHL (31) trennte ätherische Öle durch Gas-Chromatographie an Apiezon-Kolonnen bei 160° C. Die einzelnen Fraktionen kondensierte er, um sie anschließend im Dünnschicht-Chromatogramm auf Kieselgel G weiter zu zerlegen. Diese Kombination dürfte in vielen Fällen weitere Aufschlüsse über die Zusammensetzung ätherischer Öle liefern.

Antioxydantien lassen sich nach unseren Erfahrungen am besten mit Hilfe der zweidimensionalen Dünnschicht-Chromatographie analysieren (5, 32, 33). In Abb. 9 ist eine derartige Trennung wiedergegeben.

Das Gemisch wurde in der ersten Laufrichtung mit Chloroform und in der zweiten Richtung mit Benzol getrennt. Die Lage der einzelnen Antioxydantien ist durch die darüber gelegte Schablone* gekennzeichnet. Zur Kontrolle der Entwicklung wurde in beiden Richtungen das „Testfarbengemisch“ aufgetragen. Sofern die Farbflecken unter den zugehörigen Markierungen der Schablone liegen, stimmt die Position der Antioxydantien mit den Angaben auf der Schablone überein.

* Hersteller: C. Desaga, Heidelberg, Hauptstraße 60.

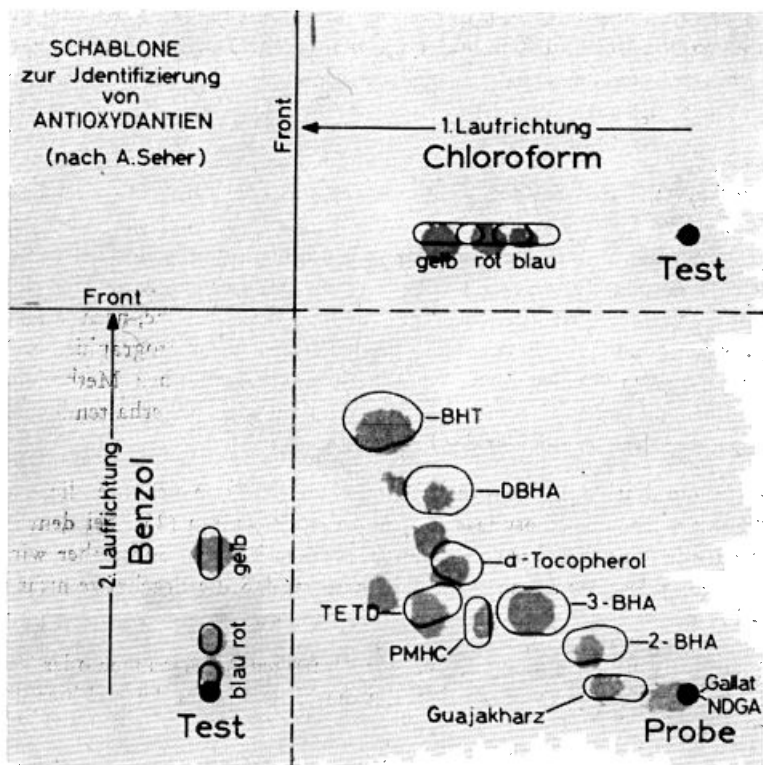


Abb. 9:

Trennung von Antioxydantien (Dünnschicht-Chromatographie)

IV Anwendung zur Betriebskontrolle

Die vorstehenden in Kürze referierten Arbeiten stammen ausschließlich aus Forschungslaboratorien. Wegen der relativ leichten Handhabung fand bereits eine große Zahl der geschilderten Trennungen Aufnahme in Betriebslaboratorien für laufende Kontroll-Analysen. Gemäß der zeitlichen Entwicklung waren es zuerst papier-chromatographische Untersuchungen, die übernommen wurden. Diese sind heute vielfach durch die rascher arbeitende Dünnschicht- und Gas-Chromatographie abgelöst worden. Bei der Übernahme dieser Analysen-Methoden aus dem Bereich der Forschung in die Betriebs-Kontrolle darf aber nicht übersehen werden, daß häufig nur eine thematische Gleichheit, z. B. Analyse von Fettalkoholen oder Fettsäuren, besteht. In der engeren Fragestellung ergeben sich meist wesentliche Unterschiede.

So stehen im Forschungslaboratorium an erster Stelle der Forderungen: ein Maximum an Informationen und an Genauigkeit. Die zur Erfüllung dieser Forderungen notwendige Arbeitszeit und der apparative Aufwand dürfen nur eine nachgeordnete Rolle spielen.

Grundsätzlich anders sieht die Fragestellung bei der Betriebskontrolle aus. Hier müssen Aufwand und Zeitbedarf in einem rationellen Verhältnis zum Ergebnis stehen. Bei der Analyse sind meist nur wenige Hauptbestandteile von Interesse. Beimengungen in Spuren verdienen keine Beachtung. Häufig sind zeitlich genau festgelegte Vorgänge analytisch zu überwachen. Dadurch ist die für eine einzelne Untersuchung verfügbare Zeit begrenzt. Es liegt deshalb nahe, nach Wegen zur Vereinfachung und Abkürzung der beschriebenen chromatographischen Verfahren zu suchen. Leider reagieren alle chromatographischen Methoden sehr empfindlich auf solche Versuche durch Abnahme der zu erhaltenden Informationen und der Genauigkeit der Ergebnisse.

Für rein qualitative Prüfungen gibt es einzelne Beispiele, wie die Papier-Chromatographie der Phosphate (34) und der Fettsäuren (25), bei denen noch befriedigende Kurzverfahren angewendet werden können. Sonst aber wird die Trennleistung des Systems so stark herabgesetzt, daß die Ergebnisse nicht mehr befriedigen.

Bei quantitativen Bestimmungen muß vor derartigen Abkürzungen oder Vereinfachungen dringend gewarnt werden. Ein charakteristisches Beispiel hierfür gibt die Abb. 10.

Das Bild zeigt zwei Gas-Chromatogramme von demselben Gemisch von Fettsäuremethylestern. Das obere Fraktogramm wurde mit einer Laufzeit von 24 Minuten im Rahmen einer Betriebskontrolle angefertigt. Das untere entstand im Laufe von 45 Minuten in unserem Institut aus der authentischen Probe. Man erkennt deutlich den erheblichen Unterschied zwischen beiden Messungen. Während im wissenschaftlichen Labor jedem Detail des Fraktogramms die gleiche Aufmerksamkeit geschenkt wurde, sollte im Kontroll-Labor lediglich der Gehalt an Ölsäure bestimmt werden. Die Spurenbestandteile waren ohne jedes Interesse. In den beiden Fraktogrammen sind jeweils die in üblicher Weise aus den Flächen ermittelten Gehalte an Ölsäure eingetragen. Die im Betriebs-Fraktogramm unterdrückten Begleitkomponenten machen aber im betrachteten Beispiel 7 % der Probe aus. Um diesen Betrag wird dadurch bei der Betriebsanalyse der Gehalt an Ölsäure zu hoch gefunden. Dieses Beispiel weist auf einen entscheidenden Nachteil bei der Auswertung gas-chromatographischer Analysen hin. Die Berechnung der einzelnen Komponenten erfolgt über die Summe aller Bestandteile. Jede nicht aufgezeichnete Komponente beeinflusst somit das gesuchte Resultat. Daraus ergibt sich, daß Vereinfachungen erhebliche Fehlerquellen darstellen können. Dies gilt für die photometrische Auswertung von Papier-Chromatogrammen (8, 9) genauso wie für Gas-Chromatogramme.

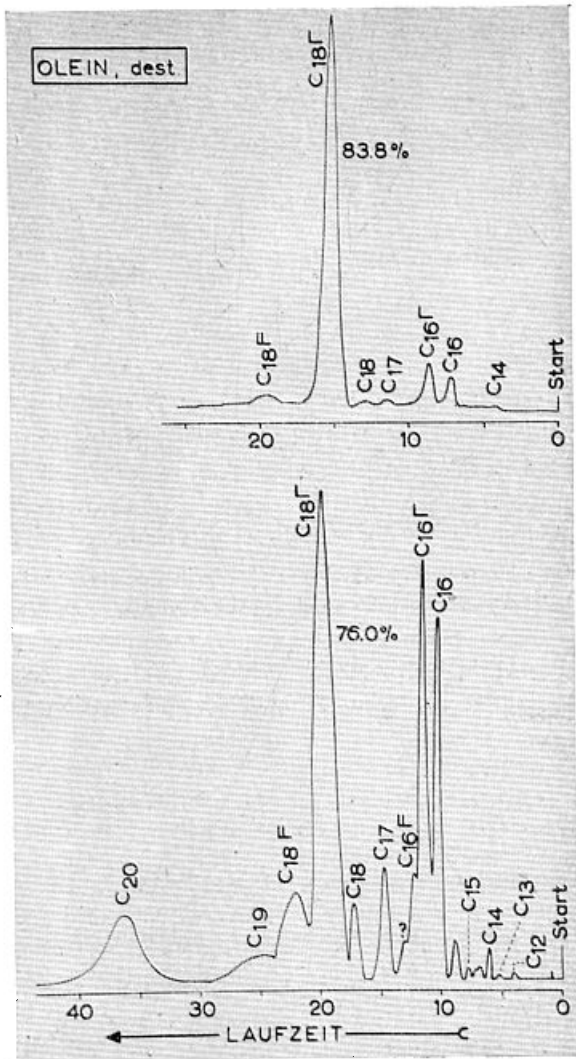


Abb. 10:
GLC-Fraktogramme einer Mischung von Fettsäure-
methylestern aus destilliertem Olein

Abhilfe würde hier nur der Weg über die Absolut-Eichung für jede zu bestimmende Komponente liefern. Es sind in dieser Richtung Versuche unternommen worden, doch ist das bisher Erreichte noch recht unbefriedigend.

Ein echter Fortschritt ist für die Gas-Chromatographie lediglich in der Temperatur-Programmierung zu sehen. Hierfür ist jedoch ein so erheblicher apparativer

Aufwand erforderlich, daß die vorhin genannte Wirtschaftlichkeit selten gewahrt bleibt.

Die soeben geschilderten chromatographischen Analysenverfahren sind in der skizzierten Ausführungsform so ausgereift, daß sie weitgehend von angelerntem Personal gehandhabt werden können. Jedoch ist bei allen chromatographischen Methoden mit hochdifferenzierten Aussagen die Gefahr gelegentlicher, sogenannter „Ausreißer“ gegeben. Daher sollte man, wenn irgend möglich, Doppelbestimmungen ausführen lassen.

V. *Schlußfolgerung*

Gegenüber den Destillations-, Kristallisations- oder Fällungsmethoden tritt eine bedeutende Zeitersparnis auf. Weitere Abkürzungen der Analysendauer mit Rücksicht auf Belange der Betriebskontrolle sollten jedoch vermieden oder nur mit sehr großer Vorsicht durchgeführt werden, da sie gleichzeitig das qualitative und das quantitative Analysen-Ergebnis ungünstig beeinflussen können. Zusammengefaßt kann gesagt werden, daß die in den letzten Jahren zu hoher Vollkommenheit entwickelten chromatographischen Analysen-Verfahren sowohl im wissenschaftlichen Laboratorium als auch in der Betriebskontrolle einen wesentlichen Fortschritt bedeuten. Die Methoden liefern gegenüber früher angewandten Verfahren ein erhöhtes Maß an Informationen in wesentlich kürzerer Zeit.

Zusammenfassung

Chromatographische Methoden haben auf dem Gebiet der analytischen Chemie einen bedeutenden Fortschritt gebracht. Papier-, Dünnschicht- und Gas-Chromatographie werden sowohl in wissenschaftlichen Laboratorien als auch zur Betriebskontrolle angewandt. Die drei Methoden wurden an Hand der folgenden Merkmale miteinander verglichen:

1. Zeitbedarf für eine Analyse,
2. Empfindlichkeit und Spezifität der analytischen Information,
3. Möglichkeiten zur quantitativen Auswertung,
4. apparativer Aufwand und
5. die Trennung von Gemischen aus Fettsäuren sowie deren Estern, Glyceriden, mehrwertigen Alkoholen, Polyglykolen, ätherischen Ölen und Antioxydantien.

Auf Grund eigener Erfahrungen wurden kritische Hinweise zur Anwendung der wissenschaftlichen Methoden für Zwecke der Betriebskontrolle gegeben.

LITERATUR

- (1) Martin, A. J. P., Syngé, R. L. M., *Biochem. J.*, **35**, 1358 (1941).
- (2) Martin, A. J. P., James, A. T., *Biochem. J.*, **50**, 679 (1952).
- (3) Winterstein, A., Studer, A., Rüegg, R., *Chem. Ber.*, **93**, 2951 (1960).
- (4) James, A. T., Martin, A. J. P., *Biochem. J.*, **63**, 144 (1956).
- (5) Seher, A., *Die Nahrung*, **4**, 466 (1960).
- (6) Vioque, E., Holman, R. T., *J. Amer. Oil Chemists' Soc.*, **39**, 63 (1962).
- (7) Wagner, H., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **63**, 1119 (1961).
- (8) Seher, A., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **58**, 489 (1956).
- (9) Seher, A., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **61**, 855 (1959).
- (10) Perilä, O., *Acta chem. Scand.*, **10**, 143 (1956).
- (11) Kaufmann, H. P., Seher, A., Mankel, G., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **64**, 501 (1962).
- (12) Kaufmann, H. P., Makus, Z., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **62**, 153 (1960).
- (13) Kaufmann, H. P., Makus, Z., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **62**, 1014 (1960).
- (14) Metcalfe, L. D., *Nature (London)*, **188**, 142 (1960).
- (15) Kaufmann, H. P., Mankel, G., Lehmann, K., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **63**, 1109 (1961).
- (16) Seher, A., *Kieler Milchwirtsch. Forsch. Ber.* (im Druck).
- (17) Kaufmann, H. P., Makus, Z., Das, B., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **63**, 807 (1961).
- (18) Kaufmann, H. P., Das, B., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **64**, 214 (1962).
- (19) Kaufmann, H. P., Kohlmeyer, H. G., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **57**, 231 (1955).
- (20) Malins, D. C., Mangold, H. K., *J. Amer. Oil Chemists' Soc.*, **37**, 576 (1960).
- (21) Link, W. E., Morrissette, R. A., *J. Amer. Oil Chemists' Soc.*, **37**, 668 (1960).
- (22) Kaufmann, H. P., Kessen, G., *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **317**, 43 (1959).
- (23) Wurziger, J., Gebauer, W., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **63**, 523 (1961).
- (24) Becker, E., Hoffmann, A., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **64**, 244 (1962).
- (25) Kaufmann, H. P., Walther, G., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **61**, 782 (1959).
- (26) Seher, A., unveröffentlicht.
- (27) Stahl, E., *Parfümerie und Kosmetik*, **39**, 464 (1958).
- (28) Petrowitz, H. J., *Angew. Chem.*, **72**, 921 (1960).
- (29) Brieskorn, D. H., Wenger, E., *Arch. Pharmaz. (Weinheim)*, **293**, 21 (1960).
- (30) Tschesche, R., Lampert, F., Snatzke, G., *J. Chromatographie*, **5**, 217 (1961).
- (31) Stahl, E., Trennheuser, L., *Arch. Pharmaz. (Weinheim)*, **293**, 826 (1960).
- (32) Seher, A., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **61**, 345 (1959).
- (33) Seher, A., *Mikrochimica Acta*, **1961**, 308.
- (34) Pfrengle, O., *Z. analyt. Chem.*, **158**, 81 (1957).
- (35) Kaufmann, H. P., Mohr, E., *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, **60**, 165 (1958).