

IDENTIFIZIERUNG ORGANISCHER SUBSTANZEN MIT HILFE DER GASCHROMATOGRAPHIE (CHROMATOGRAPHISCHE SPEKTREN)

JAROSLAV FRANČ UND SLADINKA MICHÁJLOVÁ

*Forschungsinstitut für organische Synthesen,
Pardubice-Rybitví, (Tschechoslowakei)*

(Eingegangen den 29. Januar 1963)

Wie bekannt wird die Gaschromatographie mit Erfolg zur Identifizierung organischer Verbindungen herangezogen. Als eine der ersten und häufig angewendeten Arbeitsmethoden ist die Vergleichung der Elutionszeiten zu nennen, die als Analogon zum Vergleichen der R_F -Werte bei der Papierchromatographie angesehen werden kann. Die Papierchromatographie hat im Vergleich mit der Gaschromatographie allerdings als weiteres Merkmal die charakteristische Färbung der Flecken für sich. Es ist bekannt, dass die Elutionszeiten auf einer stationären Phase unter gegebenen Versuchsbedingungen für eine Reihe von Verbindungen die gleichen sein können, so dass zum Vergleichen mit einer Standardverbindung (-substanz) ein weiteres Vergleichen mit noch einer anderen, womöglich mit mehreren stationären Phasen und den entsprechenden Elutionszeiten notwendig wird.

Die enge Beziehung des Verhaltens beim Chromatographieren zur chemischen Struktur und zum Charakter der stationären Phase wurde von einigen Autoren zur Identifizierung von Verbindungen durch Vergleichen der Elutionszeiten an zwei^{1,2}, gegebenenfalls an mehreren stationären Phasen benützt^{3,4}.

Aus den Unterschieden in den Elutionszeiten an den unterschiedlichen stationären Phasen kann auf die zu identifizierende Verbindung geschlossen werden. Diese Bestimmungen der einzelnen Elutionszeiten unter unterschiedlichen Bedingungen verlangen im Fall der Gaschromatographie ein zeitraubendes Auswechseln der Kolonnen und verbürgen kaum verlässlich reproduzierbare Versuchsbedingungen.

Seinerzeit wurde — um wieder auf die Papierchromatographie zurückzugreifen — eine papierchromatographische Methode der Identifizierung von nichtflüchtigen anorganischen und organischen Verbindungen aufgrund von sogenannten papierchromatographischen Spektren ausgearbeitet⁵⁻⁷. Hierbei wird zugleich unter reproduzierbaren Versuchsbedingungen in verschiedenen Lösungssystemen chromatographiert. Als Ergebnis der Analyse gibt dann die Verbindungslinie der korrigierten R_F -Werte — das "chromatographische Spektrum" — einen Kurvenverlauf, der charakteristisch ist für jede einzelne Verbindung. Diese Idee haben wir nun auf die Gas-Chromatographie übertragen.

Das Prinzip der Versuchsanordnung lehnt sich demgemäss an die eben erwähnte Arbeitsmethode der Papierchromatographie an: die Analysenprobe wird im Gaschromatographen gezwungen sich gleichmässig auf vier Kolonnen aufzuteilen, die stationäre Phasen unterschiedlicher Polarität besitzen. In diesen Kolonnen bewegt

sich nun die zu analysierende Probe je nach ihrer Struktur mit verschiedener Geschwindigkeit. Die Enden der einzelnen Kolonnen sind bei unserer Versuchsanordnung zu einem gemeinsamen Einlauf in einen Detektor vereinigt. Der Detektor zeichnet die Reihenfolge und den Verlauf der Elutionskurven aus den vier Kolonnen in üblicher Weise auf. Im Idealfall lässt sich so ein Chromatogramm mit vier Einzelkurven erhalten, die ein für jede Verbindung charakteristisches Maximum besitzen und im Zusammenhang mit der chemischen Struktur der Prüfsubstanz sind. Sind in zwei Kolonnen gleiche Elutionszeiten verzeichnet, dann enthält das Chromatogramm nur drei Kurven. Dieses Verhalten kann man, wie im Versuchsteil ausgeführt wird, zum Vergleichen des Chromatogramms mit einem Chromatogramm einer Standardsubstanz oder zum Einordnen der zu identifizierenden Verbindung in eine bestimmte Verbindungsklasse benützen.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

(a) Auswahl der stationären Phase

Die stationäre Phase muss eine Reihe von Bedingungen erfüllen: Stabilität in jeder Hinsicht, Einsatzfähigkeit in einem grossen Temperaturintervall, im Vergleich zu den anderen benützten stationären Phasen hinreichende Unterschiedlichkeit in der Polarität angefangen von stark polarer Phase über zwei Phasen mittlerer Polarität bis zu unpolarer Phase.

Für jede der vier Kolonnen haben wir der Reihe nach vorläufig folgende stationäre Phasen als die besten befunden:

(1) 3,5-Dinitrobenzoyl-ester des Trimethylenglykolbutyläthers (hergestellt im Forschungsinstitut für organische Synthesen, Pardubice-Rybitví).

(2) Polyäthylenglykoladipat (desgleichen).

(3) Silikon-Elastomer E 301 (Griffin & George, London).

(4) Destillationsrückstände von Methylphenylsilikonöl (Forschungsinstitut für organische Synthesen, Pardubice-Rybitví).

Diese vier Substanzen wurden einzeln in einer Menge von 20 Gewichtsprozent (bezogen auf das Gewicht der reinen Trägersubstanz) auf die Trägersubstanz aufgetragen.

(b) Trägersubstanz

Rysorb BLK (Hersteller Forschungsinstitut für organische Synthesen, Pardubice-Rybitví) getrocknet bei 130° in der Körnung 0.25–0.5 mm.

(c) Apparatur

Die Zusammenstellung ist aus Fig. 1 ersichtlich. Der Hauptteil der Apparatur ist die Gruppe der vier Kolonnen, die im Gaschromatograph mit üblichem Luftthermostat und beliebigem Detektor angeordnet sind. Die Fig. 1 entsprechend geht das Trägergas (Stickstoff) aus der Bombe A über den Manostat B, das Nadelventil C und das Manometer D in die Dosiervorrichtung. Diese ist im Prinzip ein kleiner Messingbecher mit Stopfen, wie es beim Dosieren in chromatographische Kolonnen üblich ist. Unter diesem Stopfen befindet sich ein kleines Messingsieb, das eine Verteilung der flüssigen Probesubstanz und Erleichtern des Verdampfens zur Aufgabe hat. Das Sieb verhindert ausserdem das Einspritzen grösserer Mengen von Substanz direkt in eine der Kapillaren F, deren Eingangsöffnungen in die Dosiervorrichtung münden. Die

Kapillaren F sind aus Metall, haben einen Innendurchmesser von 0.6 mm, gleiche Länge (11 cm) und gleichen dynamischen Widerstand, der grösser sein muss als der dynamische Widerstand der angeschlossenen, mit nach 1-4 imprägniertem (siehe oben) Rysorb BLK gefüllten Kolonnen G (Fig. 1). Diese vier Kolonnen sind aus

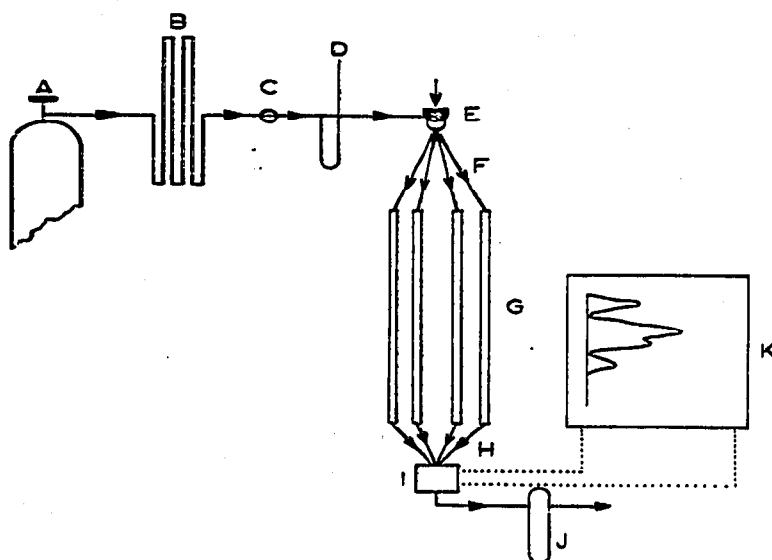


Fig. 1. Schematische Darstellung eines Apparates für chromatographische Spektren.

Glas, 90 cm lang, Innendurchmesser 5 mm. Ihre Enden sind wieder durch gleiche Kapillaren H mit dem gemeinsamen Detektor I verbunden. Der Strömungsmesser J misst den Durchfluss des Trägergases, dessen Geschwindigkeit viermal grösser als bei Benützung einer einzelnen Kolonne gewählt wird. Bei unseren Versuchen war die Gasgeschwindigkeit 200 ml/min. Das Schreibergerät K verzeichnet wie üblich die Abhängigkeit der Konzentration der analysierten Substanz im Detektor nach der Zeit.

AUSFÜHRUNG DER IDENTIFIZIERUNG EINER UNBEKANNTEN VERBINDUNG

Für die gleichzeitige Elution an vier Kolonnen wählten wir einige Arbeitstemperaturen des Thermostaten entsprechend den Siedepunkten der zu untersuchenden Stoffe. Diese sind 55°, 85°, 110° und 150°, sodass damit ein Bereich bis zum Siedepunkt 200° der zu untersuchenden Verbindung umfasst werden kann. Die Prüfsubstanz, die zum Zweck der Identifizierung wenigstens in 90 %-iger Reinheit vorliegen soll, wird in üblicher Weise mit einer Injektionspritze in die Dosiervorrichtung E eingespritzt.

Die Menge der Prüfsubstanz wird entsprechend der Anzahl der eingesetzten Kolonnen und der Art der Detektion bemessen. Zur Kontrolle der Apparatur wird von Zeit zu Zeit Benzol als Standardsubstanz gemessen und die Elutionsdaten der zu identifizierenden Verbindungen werden sodann an Hand dieser Eichungen korrigiert. Alle gemessenen Elutionsvolumina sind um das tote Volumen der Apparatur zu korrigieren; das tote Volumen der Apparatur wird aus der Elutionszeit von Wasserstoff bestimmt.

Die bei unseren Versuchen gemessenen Elutionszeiten sind in den Diagrammen in Fig. 2-5 dargestellt. Die Fig. 6-8 zeigen die chromatographischen Spektren verschiedener Stoffe.

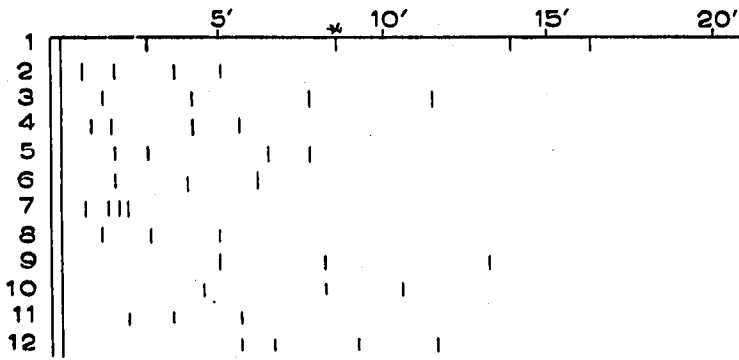


Fig. 2. Schematische Darstellung der chromatographischen Spektren bei 55°. 1 = Benzol; 2 = *n*-Hexan; 3 = 2,2,4-Trimethylpentan; 4 = Methanol; 5 = Äthanol; 6 = Aceton; 7 = Diäthylether; 8 = Diisopropyläther; 9 = Chloroform; 10 = Tetrachlorkohlenstoff; 11 = Äthylformiat; 12 = Äthylacetat.

Fig. 3. Schematische Darstellung der chromatographischen Spektren bei 85°. 1 = Benzol; 2 = Cyclohexan; 3 = Methylcyclohexan; 4 = Cyclohexen; 5 = Methylcyclohexen; 6 = 2,2,4-Trimethylpentan; 7 = *n*-Hexan; 8 = *n*-Heptan; 9 = *n*-Oktan; 10 = Aceton; 11 = Methylethylketon; 12 = Diacetyl; 13 = Äthylacetat; 14 = Äthanol; 15 = *n*-Propylalkohol; 16 = Isopropylalkohol; 17 = Isobutylalkohol; 18 = *tert.*-Butanol; 19 = Allylalkohol; 20 = Diäthyläther; 21 = Diisopropyläther; 22 = Chloroform; 23 = Tetrachlorkohlenstoff; 24 = Thiofen.

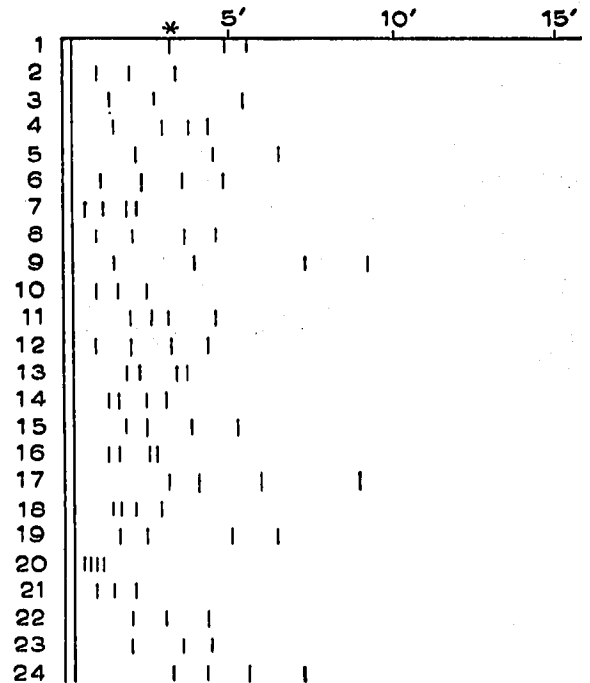
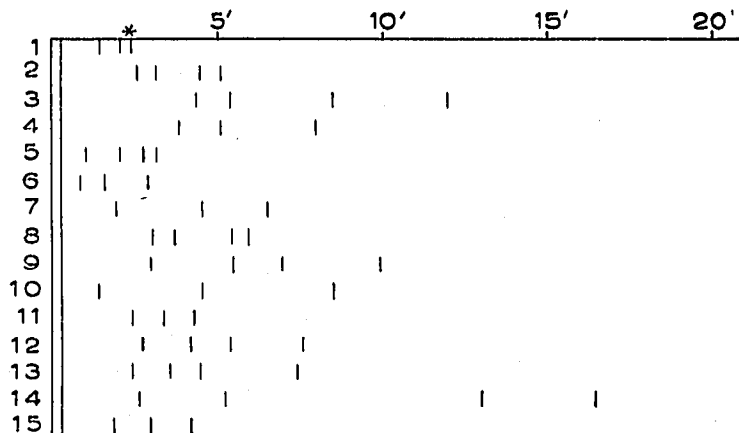


Fig. 4. Schematische Darstellung der chromatographischen Spektren bei 110°. 1 = Benzol; 2 = Toluol; 3 = *m*-Xylol; 4 = Äthylbenzol; 5 = Methylcyclohexen; 6 = Methylcyclohexan; 7 = Dibutyläther; 8 = Butylacetat; 9 = Methylchloracetat; 10 = Äthylchloracetat; 11 = Methylisobutylketon; 12 = Amylalkohol; 13 = Isoamylalkohol; 14 = Pyrrol; 15 = Dioxan.



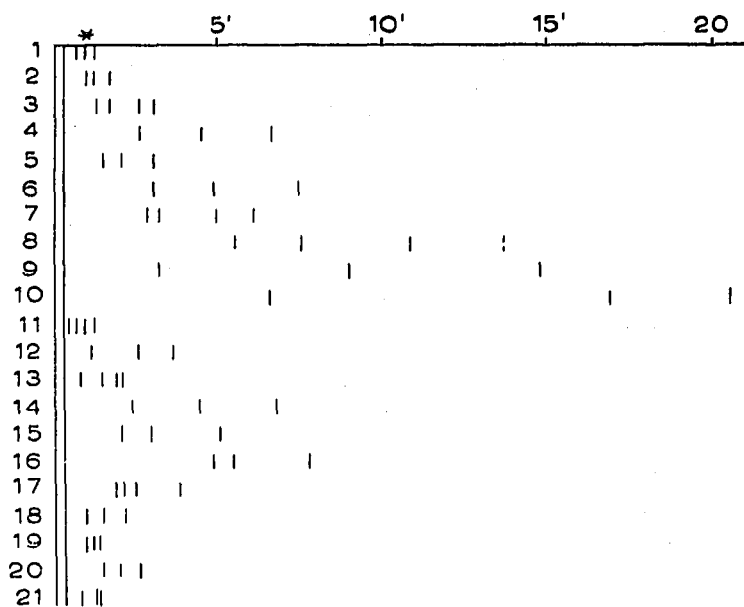


Fig. 5. Schematische Darstellung der chromatographischen Spektren bei 150°. 1 = Benzol; 2 = Toluol; 3 = *p*-Xylol; 4 = *p*-Cymol; 5 = Äthylbenzol; 6 = Butylbenzol; 7 = Brombenzol; 8 = Jodbenzol; 9 = Benzonitril; 10 = Nitrobenzen; 11 = Nitromethan; 12 = Isoamyläther; 13 = Dibutyläther; 14 = Cyclohexanol; 15 = Hexylalkohol; 16 = 2-Äthylhexanol; 17 = 2-Äthylbutanol; 18 = Isoamylalkohol; 19 = Methyläthylketon; 20 = Amylacetat; 21 = Thiofen.

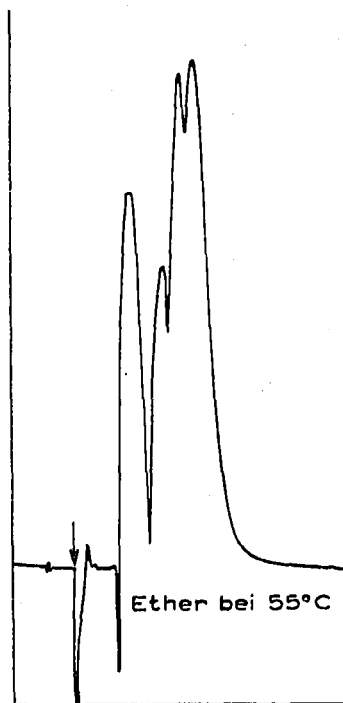


Fig. 6. Chromatographisches Spektrum von Äther bei 55°.

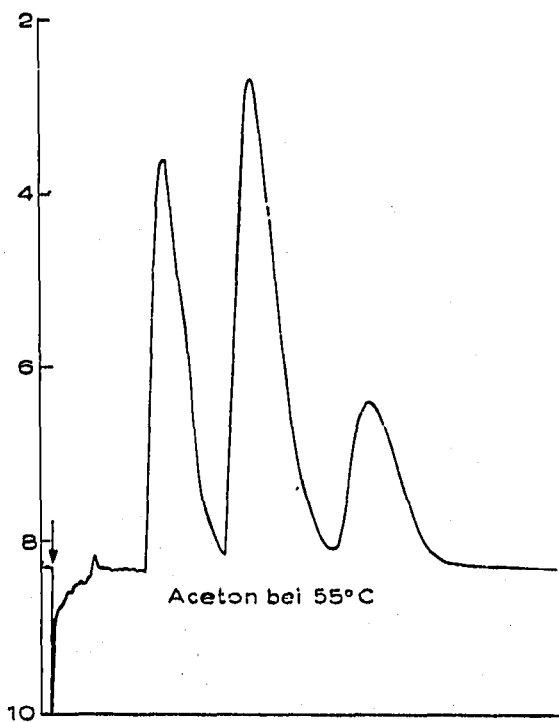


Fig. 7. Chromatographisches Spektrum von Aceton bei 55°.

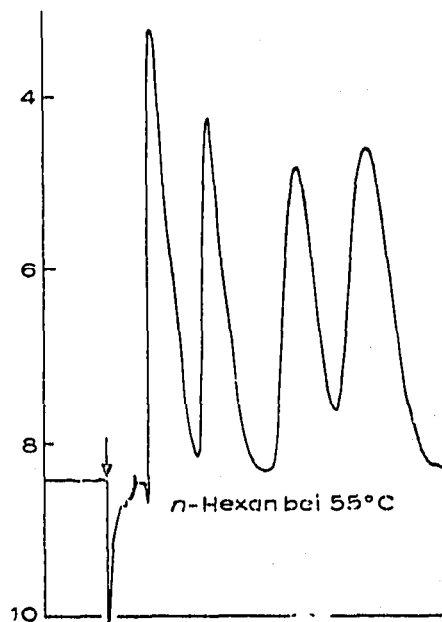


Fig. 8. Chromatographisches Spektrum von *n*-Hexan bei 55°.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Wie ersichtlich, ist das Ergebnis dieser Arbeitsweise ein Bündel von drei bis vier chromatographischen Kurven mit Maxima, die in verschiedenen Abständen auftreten. Wir haben diese Diagramme in Analogie zur Papierchromatographie vorläufig mit dem Ausdruck "chromatographische Spektren" bezeichnet obwohl diese Bezeichnung nicht sehr glücklich ist⁶ und der Ausdruck "chromatographisches Profil" unseres Erachtens besser entsprechen würde.

Aus den Diagrammen in Fig. 2-5 ist ersichtlich, dass praktisch genommen (mit Ausnahme einiger isomerer Verbindungen) keine einzige der untersuchten Verbindungen ein chromatographisches Spektrum aufweist, das identisch wäre mit dem Spektrum einer anderen unter den untersuchten Verbindungen. Wenn auch die Elutionszeiten bei einzelnen Kolonnen die gleichen sind, sind sie wieder bei anderen Kolonnen verschieden, so dass die Unterschiedlichkeit des Gesamtergebnisses jeder Messung gegenüber der einer anderen Verbindung bestehen bleibt. Haben wir also eine Standardsubstanz zur Verfügung, so sind wir in der Lage rasch und sicher einen Vergleich der Spektren sowohl der Standardsubstanz als auch der Prüfsubstanz vorzunehmen und so die Prüfsubstanz zu identifizieren. Selbstverständlich kann man auch das chromatographische Spektrum der Prüfsubstanz mit ebensolchen Spektren aus der Sammlung am Arbeitsplatz vergleichen.

Wie schon vorhin erwähnt existiert eine enge Beziehung zwischen der chemischen Struktur der untersuchten Verbindung, den Eigenschaften der stationären Phase und der Elutionszeit. Diese Tatsache lässt sich zur Identifizierung von Substanzen und Verbindungen verwerten, von denen kein Vergleichsstandard zur Verfügung steht.

Zu diesem Zweck wird eine Eichung einer Kolonne und einer stationären Phase ein für allemal mit Benzol als Testsubstanz vorgenommen (die zugehörige Elutionszeit ist in den Fig. 2-5 mit einem Stern bezeichnet). Auf Basis der Elutionszeit des Benzols lassen sich sodann die relativen Elutionszeiten für beliebige Substanzen und Temperaturen berechnen.

Die Differenzen der Logarithmen dieser Elutionszeiten (z.B. zwischen dem ersten und zweiten, oder dem zweiten und dritten, oder dem ersten und vierten Maximum) sind, wie das Diagramm zeigt, bei ähnlichen Stoffen praktisch sehr ähnlich. Wenn wir also die Elutionszeiten der zweiten und ersten Maxima mit r_2 und r_1 bezeichnen, so gilt:

$$\log r_2 - \log r_1 = \Delta R$$

Das Ergebnis der Berechnungen von ΔR für eine Reihe von relativen Elutionszeiten ist die Tabelle I, und das Diagramm in Fig. 9. Durch Berechnung von ΔR für das erste und zweite, zweite und dritte, erste und letzte Maximum kann man eine unbekannte Substanz in eine der im Diagramm in Fig. 9 verzeichneten Gruppen einreihen. Es darf nicht verschwiegen werden, dass in einigen wenigen Fällen das Ergebnis nicht eindeutig ist und dass zwei Gruppen für die betreffende Substanz als Analysergebnis in Betracht kommen. Solche Fälle sind allerdings selten. Aus dem Diagramm in Fig. 9 ist noch die Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Werte zu entnehmen, die sich durch weitere Angaben noch präzisieren lassen.

Mit Hilfe der hier angegebenen Methode kann man also eine unbekannte Substanz

TABELLE I

Substanz	I-II Maximum				II-III Maximum				I-letztes Maximum			
	55°	85°	110°	150°	55°	85°	110°	150°	55°	85°	110°	150°
Benzol	26.0	10.0	10.0	9.0	11.0	3.0	3.0	7.0	41.0	10.0	13.0	16.0
Toluol			4.5	6.0			9.0	6.5			16.5	17.5
<i>m</i> -Xylol			7.0				10.5				23.0	
<i>p</i> -Xylol				6.0				11.0				17.0
Äthylbenzol			7.0	6.0		9.5	10.0				17.5	16.0
<i>p</i> -Cymol				13.0			8.5					20.5
Butylbenzol				12.0			9.5					21.0
2,2,4-Trimethylpentan	21.0	24.0			13.5	10.5			45.0	42.0		
<i>n</i> -Hexan	16.0	18.0			16.0	8.5			39.0	35.0		
<i>n</i> -Heptan		20.0				12.0				38.0		
<i>n</i> -Oktan		23.5				14.0				43.0		
Cyclohexan		21.0				13.0				34.0		
Methylcyclohexan		18.0	13.0			16.0	27.0			33.5	29.0	
Cyclohexen		18.0				6.0				27.0		
Methylcyclohexen		18.0	16.0		7.5	7.0				25.5	25.5	
Aceton	18.0	12.5			10.5	12.0			28.5	24.5		
Methyläthylketon	8.5			5.5		3.0		4.5		20.0		10.0
Methylisobutylketon			9.0				5.0				14.0	
Methylalkohol	9.5				21.0							
Äthylalkohol	10.0	8.0			19.5	15.5			38.0	26.5		
<i>n</i> -Propylalkohol		7.0				10.0			34.0	24.5		
Isopropylalkohol		6.5				12.0				20.5		
Isobutylalkohol		6.0				9.5				24.0		
<i>tert.</i> -Butylalkohol		5.0				6.0				17.5		
Allylalkohol		9.0				17.5				32.0		
Amylalkohol			7.0				6.0				21.0	24.0
Isoamylalkohol			9.0	13.0			5.0	10.0			25.5	
Cyclohexanol				13.5				19.5				33.0
Hexylalkohol				8.5				13.0				21.0

Diäthyläther	14.0	18.0	4.0	5.5	8.5	7.0	21.0	18.0	29.0	29.0	32.0
Diisopropyläther	15.5	16.0	12.5	8.5			28.0	24.0			
Dibutyläther					8.5	7.0			29.0		
Isoamyläther			20.0			8.0					
	20.5		24.0								
Chloroform	11.5	10.5	10.5	8.5			21.5	18.0			
Tetrachlorkohlenstoff	14.0	13.0	5.5	6.5			19.5	18.5			
Brombenzol			3.0			10.5				18.5	
Jodbenzol			7.0			9.0				20.0	
Äthylformiat	10.0						20.5				
Äthylacetat	3.0	4.0	7.0	9.0			16.5	16.5			
Butylacetat					8.5	9.0			16.0		18.0
Amylacetat			5.0	9.5							
Thiophen		7.0									
Pyrrrol			9.0	6.0		3.0				12.5	
Diacetyl		20.5	17.0	12.0	21.0				42.5		
Dioxan					8.0				20.5		
Nitromethan											66.0
Nitrobenzol						10.0					27.5
Benzonitril						15.0					35.0
Chlormethylacetat						12.0					
Chloräthylacetat	14.5									27.5	
	27.5									47.5	

schnell mit einem bekannten Standard vergleichen, oder wenn keine Standardsubstanz zur Verfügung steht, kann man wenigstens eine Zuordnung der Prüfsubstanz in bekannte Verbindungsgruppen vornehmen. Wenn man die Elutionszeit jeder einzelnen der vier Kolonnen der Apparatur besonders bestimmen könnte,

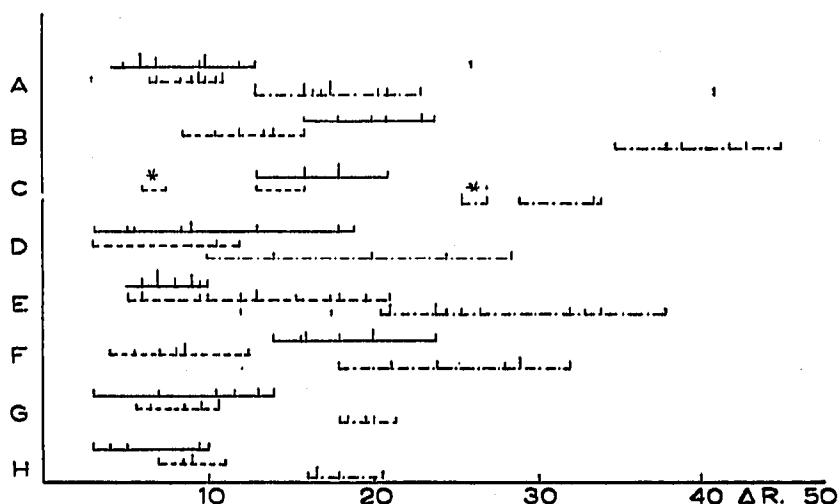


Fig. 9. Graphische Darstellung von ΔR -Werten für verschiedene Gruppen der Verbindungen. A = Aromatische Kohlenwasserstoffe; B = Aliphatische Kohlenwasserstoffe; C = Cyclische Kohlenwasserstoffe; D = Ketone; E = Alkohole; F = Äther; G = Halogenkohlenwasserstoffe; H = Ester. — ΔR zwischen dem I-II Maximum; - - - ΔR zwischen dem II-III Maximum; - · - · ΔR zwischen dem I-letzten Maximum.

wäre von jeder der untersuchten Substanzen viel mehr auszusagen, aber damit ginge ein grosser Vorteil der hier beschriebenen Methode verloren: die Möglichkeit der Anwendung der hier beschriebenen Methode an Gaschromatographen beliebiger Konstruktion, Herkunft und Detektion, und das ohne nennenswerte Änderungen an der Apparatur.

Die Anzahl der gleichzeitig eingesetzten Kolonnen kann beliebig gross sein, wir glauben aber, dass vier Kolonnen für die üblichen Ansprüche ausreichend sind. Selbstverständlich lassen sich auch andere stationäre Phasen als die hier angegebenen verwenden; es ist aber zu bedenken, dass Vergleichen von Analysenergebnissen verschiedener Arbeitsplätze miteinander und ihre vollkommene Auswertung gleiche Arbeitsbedingungen zur Voraussetzung haben, d.h. also gleiche Trägersubstanzen, stationäre Phasen und gleiche Länge der Kolonnen.

Die hier beschriebene Methode ist nicht als selbständig anzuwendende Methode der Identifikation unbekannter Verbindungen gedacht, sondern als bequem auszuführende Ergänzung bekannter Bestimmungsmethoden.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine Methode zur Identifizierung flüchtiger organischer Substanzen mit Hilfe der Gaschromatographie ausgearbeitet, die auf der gleichzeitigen Elution der Substanz aus vier mit verschiedenen stationären Phasen gefüllten Kolonnen beruht. Das auf diese Weise erhaltene "chromatographische Spektrum" ist charakteristisch für eine jede Substanz und kann zur Identifizierung unbekannter Substanzen dienen.

Die Identifizierung kann durch Vergleichen mit "Spektren" bekannter Substanzen vor sich gehen, oder es kann die Lage der Maxima der Elutionskurven zur Auffindung von Verbindungsgruppen dienen, zu denen die unbekannte Substanz gehört.

SUMMARY

A method has been developed for the identification of volatile organic compounds by means of gas chromatography. This method is based on eluting the compound simultaneously from four columns filled with different stationary phases. The "chromatographic spectrum" obtained in this way is characteristic for each compound and can serve to identify unknown compounds. Identification can be carried out by comparing the "spectrum" with those of known substances, or the positions of the maxima of the elution curves can be used to determine the class of compounds to which the unknown belongs.

LITERATUR

- ¹ A. T. JAMES, A. J. P. MARTIN UND G. SMITH, *Biochem. J.*, 52 (1952) 238.
- ² G. J. PIEROTTI, C. H. DEAL, E. L. DERR UND P. E. PORTER, *J. Am. Chem. Soc.*, 78 (1956) 2989.
- ³ R. A. HIVELEY, *J. Chem. Eng. Data*, 5 (1960) 237.
- ⁴ S. M. CSICSERY UND H. PINES, *J. Chromatog.*, 9 (1962) 34.
- ⁵ J. FRANC UND Z. STRÁNSKÝ, *Collection Czech. Chem. Commun.*, 24 (1959) 3611.
- ⁶ J. FRANC, in *Some General Problems of Paper Chromatography*, ČSAV, Prag, 1962, S. 189.
- ⁷ M. LEDERER, in *Some General Problems of Paper Chromatography*, ČSAV, Prag, 1962, S. 181.

J. Chromatog., 12 (1963) 22-31