

ZUR GASCHROMATOGRAPHISCHEN UNTERSUCHUNG VON DAMPFPHASEN

I. EINE VEREINFACHTE PROBENGEBUNG

HEINRICH BINDER

Institut für Organische und Pharmazeutische Chemie der Universität Graz (Österreich)

(Eingegangen den 18. April 1966)

EINLEITUNG

In dem mit einer Lösung im Gleichgewicht stehenden Dampfraum verteilen sich die einzelnen Komponenten entsprechend ihren Partialdrücken. Die gaschromatographische Analyse solcher Dämpfe macht eine spezielle Probengebung notwendig, da die zur Anzeige im Detektor erforderliche Substanzmenge meist in einem grossen Gasvolumen vorliegt. Voraussetzung für eine scharfe chromatographische Trennung ist aber das Einbringen der Probe in eine schmale Startzone. In der Gaschromatographie entspricht das der Probendosierung in einem möglichst kurzen Zeitraum, der von MACKAY *et al.*¹ auf 5 Sek. beschränkt wird.

Mehrere Autoren¹⁻¹⁰ haben die "head space" Technik auf die Untersuchung von Fruchtaromen* und Duftstoffen angewendet und das oben aufgezeigte Problem auf zwei verschiedene Arten gelöst.

(1) Sind die Konzentrationen der zu bestimmenden Substanzen relativ gross, so kann die Probengebung durch schnelles Einpressen von maximal 20 ml Dampf-volumen in den Trägergasstrom erfolgen.

(2) Bei geringeren Konzentrationen ist eine Anreicherung in Kühlfallen oder Adsorptionsfiltern notwendig, wodurch Inhaltsstoffe aus Volumina bis zu 100 m³ der gaschromatographischen Analyse zugeführt werden können¹⁰.

Es ist jedoch noch nicht gelungen, die der "head space" Methode anhaftenden Mängel restlos zu beseitigen. So benötigt die unter (1) beschriebene Probengebung immer mehr Zeit als die direkte Injektion und Verdampfung der flüssigen Probe im Einspritzblock, wodurch eine Verbreiterung der Peaks erfolgt. Auch sind an die Dichtung der Dosierspritze Anforderungen zu stellen, die von den im Handel erhältlichen nicht immer erfüllt werden. Es treten durch Expandieren und Komprimieren des Probenvolumens beim Füllen und Entleeren Kondensationen an der Wand der Spritze auf, was quantitative Auswertungen erschwert. Wegen der Sauerstoffempfindlichkeit der stationären Phasen darf die Säule während der Probengebung nicht über einer gewissen Temperatur sein, da beträchtliche Luftmengen ins Trägergas gelangen. Zu schnelles Einpressen des Probenvolumens kann zum Rückschlagen hinter den Einspritzblock führen. War wie unter (2) eine Konzentrierung durch Ausfrieren oder Adsorption an Aktivkohle erforderlich, so fällt beim Verdampfen oder Desorbieren

* Ausführliche Darstellung dieses Gebietes und weitere Literaturstellen siehe Lit. 11.

wieder ein grösseres Gasvolumen an und macht eine Probendosierung wie unter (1) notwendig.

BESCHREIBUNG DER METHODE

Die vorliegende Arbeit berichtet über eine einfache und allgemein anwendbare Probengebung ohne Verwendung zusätzlicher Kühlfallen, Adsorptionsvorrichtungen und Dosierspritzen, mit der sich die hier aufgezeigten Schwierigkeiten überwinden lassen. Das Prinzip dieser Methode besteht darin, den Anfangsbereich der chromatographischen Säule zur Konzentrierung flüchtiger Substanzen zu verwenden. Durch Anlegen eines Vacuums an das Säulenende wird ein bestimmtes Dampfvolumen in den Anfang der Säule gesogen und die kondensierbaren Bestandteile in einer schmalen Startzone niedergeschlagen. Dann baut man die so mit der Probe beschickte Säule in den Gaschromatographen ein und führt im Zuge einer Temperaturprogrammierung die Analyse durch. Je nach Siedepunkt und Konzentration der zu bestimmenden Komponenten sind geringfügige Änderungen notwendig.

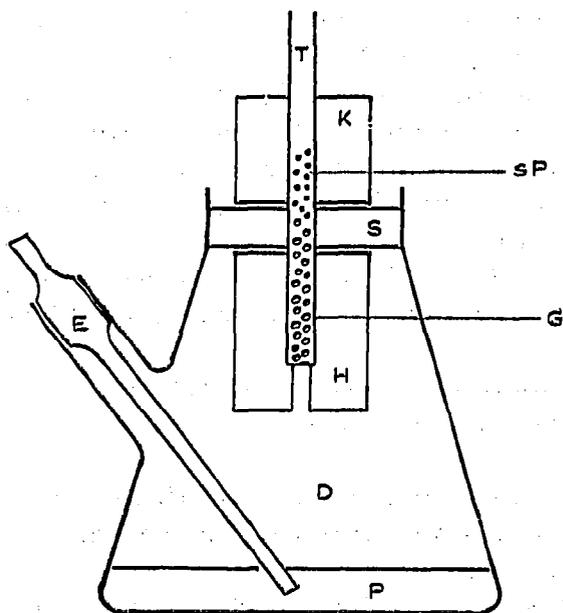


Fig. 1. Schematische Darstellung des Probengefässes und des Säulenbeginns. Bezeichnungen: E = Einleitrohr, P = Probe, D = Dampfraum, H = Heizung, S = Stopfen, K = Kühlung, G = Glaskugeln, sP = stationäre Phase, T = Trennsäule.

Wie aus Fig. 1 ersichtlich, ist der Anfang der Säule zu 3–5 cm mit unbelegten Glaskugeln von einem Durchmesser von 0.2 mm gefüllt. Hier soll die Kondensation dampfförmiger Substanzen vermieden werden, was bei höhersiedenden Proben durch eine elektrische Heizung erreichbar ist. Verwendet man Säulen ohne unbelegte Zone, dann ist die Heizung je nach Temperatur- und Sauerstoffempfindlichkeit der stationären Phase einzustellen. Handelsübliche Säulen sind an den Enden mit Metallfritten verschlossen. Man ersetzt vorteilhaft die Fritte am Säulenanfang durch Glaswolle, um einen möglichst widerstandsfreien Übergang vom Dampfraum zur stationären Phase zu ermöglichen.

Über der Heizung befindet sich ein für die Säule durchbohrter Gummistopfen,

mit dem das Probengefäß während der Probengebung verschlossen ist. Der aus dem Stopfen herausragende Teil der Säule ist bereits mit belegtem Trägermaterial gefüllt und muss bei tiefsiedenden Proben, um eine möglichst schmale Startzone zu erreichen, gekühlt werden. Als Behälter für die Kühlmasse hat sich eine seitlich geschlitzte Soxhlehülse, deren Montage an der im Gaschromatographen eingebauten Säule leicht durchführbar ist, gut bewährt. Ebenso lässt sich ein weites Glasrohr, das unten mit einem durchbohrten und in der Mitte durchschnittenen Stopfen verschlossen ist, verwenden. Da die Kühlung meist erst nach dem Einbau der Säule in den Gaschromatographen entfernt wird, bleibt das Glasrohr nach Wegnahme des Stopfens und der Kühlmasse während der Analyse über dem Säulenanfang. Zur Kühlung eignet sich Kohlendioxid, dem man zur besseren Kälteübertragung Aceton oder Alkohol zusetzt. Es ist jedoch zu beachten, dass kleine Anteile der Kältemischung in die Säule gelangen können und im Chromatogramm ein entsprechender Peak erscheint. An das Ende der so vorbereiteten Säule wird ein Vacuum angelegt. Für Säulen mit hohem Strömungswiderstand verwendet man zum Einsaugen grosser Volumina eine Wasserstrahlpumpe, deren Saugleistung am Säulenanfang bestimmt wird. In anderen Fällen eignen sich evacuierete Kolben verschiedener Grösse, deren Restvolumen man nach der Probengebung messen muss. Sobald das Probenvolumen durch die Säule geströmt ist, entfernt man Heizung, Verschlussstopfen und Verbindung zum Vacuum. Danach wird die Säule in den Gaschromatographen eingebaut, das Trägergas aufgedreht, der Detektor zur Anzeige bereit gemacht und die Kühlung entfernt. Hat sich die Kühlzone mit Eis beschlagen, so erwärmt man diesen Teil der Säule mit einem Föhn. Die Analyse kann nun durch entsprechende Wahl eines Temperaturprogramms durchgeführt werden.

APPARATIVES

Die gaschromatographischen Trennungen sind mit einem F6/4 Fraktometer des Bodenseewerkes Perkin Elmer durchgeführt worden. Als Detektoren haben wahlweise ein Flammenionisationsdetektor und ein Hitzdrahtdetektor Verwendung gefunden. Quantitative Messungen sind mit Hilfe eines elektronischen Integrators D₂ derselben Firma erfolgt. Die Chromatogramme sind über einen Honeywell 2.5 mV Schreiber aufgezeichnet worden.

ANWENDUNG

Im folgenden zeigen einige Beispiele die vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten dieser Methode:

(1) So beschreibt die Analyse eines blausäurehaltigen Dampfes die Handhabung niedrigsiedender Substanzen. Man erhitzt in einem Zweihalskolben mit Rückflusskühler und Einleitrohr eine alkoholische Lösung von Tetracyanäthylen zum Sieden, wobei nach MIDDLETON *et al.*¹² Blausäure hydrolytisch abgespalten wird. Die Probenahme erfolgt am Kühlerende, während durch Lösung und Kühler Stickstoff in einer Menge von 50 ml/min strömt. In diesem Fall ist eine Kühlung mit Kohlendioxid-Alkohol notwendig, und es wird das Anbringen und Entfernen derselben vorteilhaft an der im Gaschromatographen eingebauten Säule vorgenommen. Dadurch verhindert man weitgehend das Eindringen von Alkohol aus der Kühlmasse

in die Säule. Es ist nicht notwendig, die unbelegte Säulenzone zu heizen. Zum Ansaugen des Probenvolumens dient ein evacuierter 50 ml Kolben.

Fig. 2a und b zeigen die Chromatogramme der aus dem Dampfraum entnommenen Proben. Bei der ersten Aufnahme ist die Kühlung nach Beendigung des N_2/O_2 Peaks entfernt und die Säule sofort auf 40° aufgeheizt worden. Bei Fig. 2b ist die Wegnahme der Kühlung erst drei Minuten später erfolgt, sodass noch 90 ml He durch die Säule mit der 2 cm langen Kühlzone geströmt sind. Ein Vergleich der

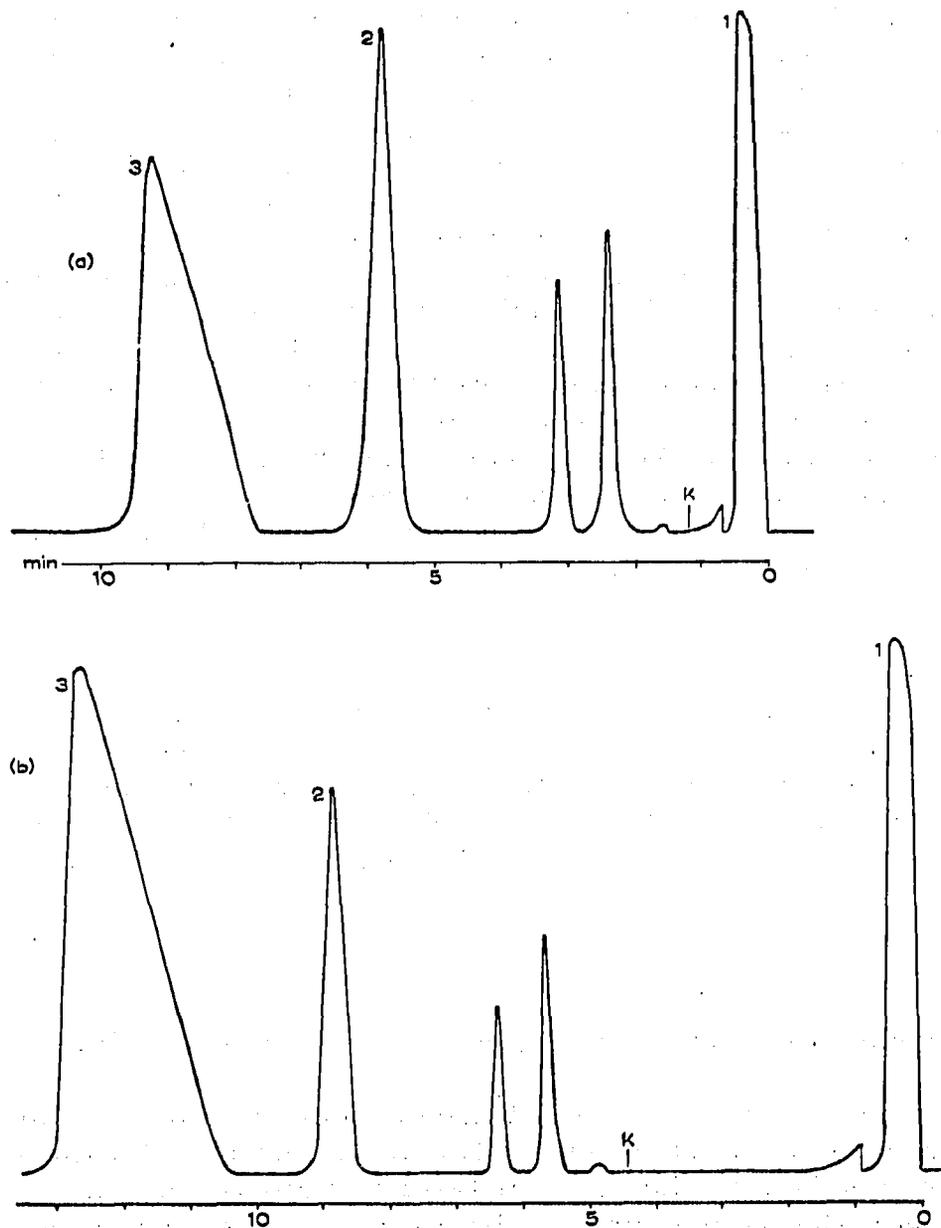


Fig. 2a und b. Gaschromatogramm des Dampfraumes über einer siedenden Lösung von Tetracyanäthylen in Äthanol. Probenvolumen 25 ml; Dosierzeit 30 sec; Säulenkühlung mit Kohlen-säureschnee-Äthanol; Ofentemperatur nach Entfernen der Kühlung 40° ; Glassäule 150 cm; Durchmesser 0.3 cm; Säulenfüllung 10% β, β' -Oxydipropionitril auf Chromosorb W, behandelt mit Hexamethyldisilan; Trägergas 30 ml/min He; Heizdrahtdetektor mit 3.2 V Speisespannung (Stufe 1); Detektorraumtemperatur 100° . Bezeichnung der Peaks und Empfindlichkeit ihrer Anzeige: 1 = $O_2/N_2 \times 512$; 2 = $HCN \times 1$; 3 = $C_2H_5OH \times 16$. K = Wegnahme der Kühlung.

beiden Abbildungen zeigt, dass die einzelnen Komponenten erst nach Entfernen der Kühlung zu wandern begonnen haben. Es empfiehlt sich daher, als Startpunkt das Entfernen der Kühlung und nicht das Anschliessen der Säule an den Trägergasstrom anzunehmen.

(2) Liegen Substanzen mit Siedepunkten um 100° in nicht zu geringen Konzentrationen vor, so kann auf Kühlung und Heizung verzichtet werden. Ein Beispiel für derartige Systeme ist der Dampfraum über einer Mischung der vier isomeren Butylalkohole. Die Korrekturfaktoren zum Berechnen der Gewichts- aus den Flächenprozenten sind bei Verwendung des FID für die Butylalkohole nach ACKMAN¹³ nur wenig voneinander verschieden. Die hier untersuchte Mischung liefert bei der gaschromatographischen Analyse 4 gleiche Peaks und enthält die 4 Butylalkohole daher in praktisch gleichen Gewichtsmengen (siehe Fig. 3 und 4).

Ein 250 ml Kolben mit seitlichem Einleitrohr befindet sich bis zum Hals in einem Wasserthermostaten. Nach Einfüllen von 50 ml der Alkoholmischung und Einstellen der gewünschten Temperatur wird unter gleichzeitigem Durchleiten von Stickstoff ein Volumen von 2–5 ml aus dem Dampfraum entnommen. Die Analyseergebnisse sind in Tabelle I wiedergegeben.

TABELLE I

PROZENTUELLE VERTEILUNG DER BUTYLALKOHOLE BEI VERSCHIEDENER TEMPERATUR ÜBER EINER MISCHUNG, DIE JEDEN DER 4 ALKOHOLE ZU 25,0 % ENTHÄLT

BuOH	20°	25°	30°	35°	40°	45°	50°	55°
tert.	46.5	47.5	48.4	48.7	50.0	51.5	52.5	53.0
sec.	24.4	24.4	24.4	24.3	23.9	23.8	23.9	23.8
iso	17.0	16.7	16.2	16.1	15.6	15.0	14.5	14.5
n	12.1	11.4	11.0	10.9	10.5	9.7	9.1	8.7

Zum Vergleich trägt man die von BUTLER *et al.*¹⁴ für die Butylalkohole einzeln bestimmten Dampfdrucke in ein p - t Diagramm ein und berechnet bei bestimmten Temperaturen das prozentuelle Verhältnis der p -Achsenabschnitte. Solche Zusammensetzungen, wie sie in Tabelle II aufscheinen, wären zu finden, wenn die 4 Butylalkohole in getrennten Gefässen mit gemeinsamen Dampfraum vorliegen würden. Die Abweichungen zwischen Tabelle I and II sind auf 1–2 Kräfte und deren Temperaturabhängigkeit in der Mischung zurückzuführen.

Am Beispiel der 4 Butylalkohole lässt sich auch zeigen, wie weit eine Ver-

TABELLE II

VERHÄLTNISSE DER p -ACHSENABSCHNITTE AUS EINEM p - t DIAGRAMM, GEZEICHNET UNTER VERWENDUNG DER VON BUTLER¹⁴ BESTIMMTEN DAMPFD RUCKE

BuOH	20°	25°	30°	35°	40°	45°	50°	55°
tert.	55.0	54.4	53.5	53.1	52.2	51.6	51.0	50.5
sec.	21.9	22.0	22.6	22.6	23.0	23.1	23.2	23.3
iso	14.6	14.8	15.1	15.2	15.4	15.7	16.0	16.2
n	8.3	8.7	8.8	9.2	9.4	9.6	9.9	10.0

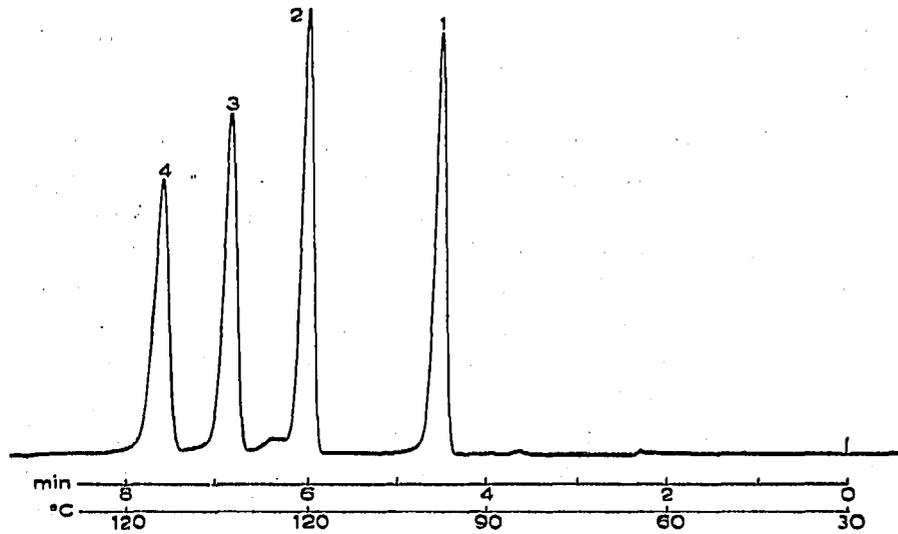


Fig. 3. Chromatogramm der Butylalkoholmischung. Probenvolumen $0.2 \mu\text{l}$; Ofentemperatur 30° , mit einem Anstieg von $15^\circ/\text{min}$ auf 120° programmiert; Stahlsäule 200 cm; Durchmesser 0.3 cm; Säulenfüllung 12% Polypropylenglykol LB-550-X auf Chromosorb W, behandelt mit Hexamethyldisilan; Trägergas 32 ml/min He, FID; Empfindlichkeit $\times 100$. Bezeichnung der Peaks: 1 = *tert.*-Butanol; 2 = *sec.*-Butanol; 3 = *iso*-Butanol; 4 = *n*-Butanol.

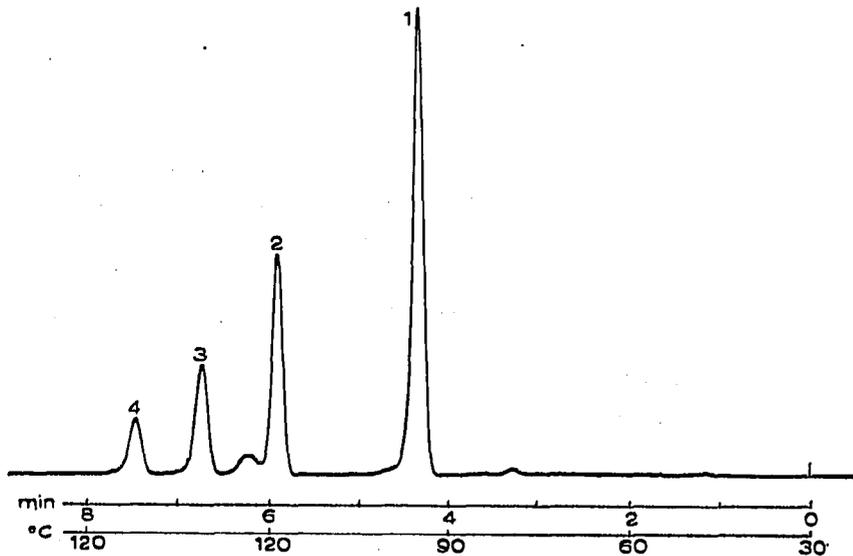


Fig. 4. Chromatogramm des Dampfes über der Butylalkoholmischung, deren Chromatogramm Fig. 3 zeigt. Probenvolumen 5 ml; Dosierzeit 10 sec; Temperatur der Probe 20° . Übrige Bedingungen wie bei Fig. 3.

schlechterung der Trennung durch die hier beschriebene "head space" Methode eintritt. Als Kennzahl wird die Peakbreite in halber Höhe ($b = 1/2$) genommen. Die Berechnung der Trennstufenzahl oder der Trennleistung erweist sich hier als nicht sehr sinnvoll, da die Gesamtretentionszeit je nach Temperaturprogramm variiert. (Siehe Tabelle III).

TABELLE III

MITTLERE PEAKBREITE IN MM BEI VERSCHIEDENEN PROBENDOSIERUNGEN

1 = Isotherm bei 100°, 0.1 μ l, Einspritzung; 2 = Isotherm bei 100°, 1.5 μ l CH_2Cl_2 -Lösung, Einspritzung; 3 = Temperaturprogramm 30-100°, 0.1 μ l, Einspritzung; 4 = Temperaturprogramm 30-100°, 3 ml Dampfvolumen nach "head space" Technik.

BuOH	1	2	3	4
tert.	1.8	—	1.8	2.0
sec.	2.5	3.2	2.4	2.5
iso	3.2	3.8	3.2	3.5
n	4.4	4.8	4.3	4.5

Wie aus Tabelle III ersichtlich ist, liefert die Probengebung nach der "head space" Methode (4) breitere Peaks als die direkte Einspritzung (1 und 3), jedoch schmalere als die Injektion der verdünnten Lösung (2). Gleichzeitig sind auch die Wanderungsgeschwindigkeiten der vier Butanole bei 22° und einem Trägergasmengengstrom von 30 ml He/min bestimmt worden, was den Bedingungen bei der Probengebung entspricht. Man findet für den tert.- 9.1, für den sec.- 1.8, für den iso- 1.2 und für den n-Butylalkohol 1.0 cm/min.

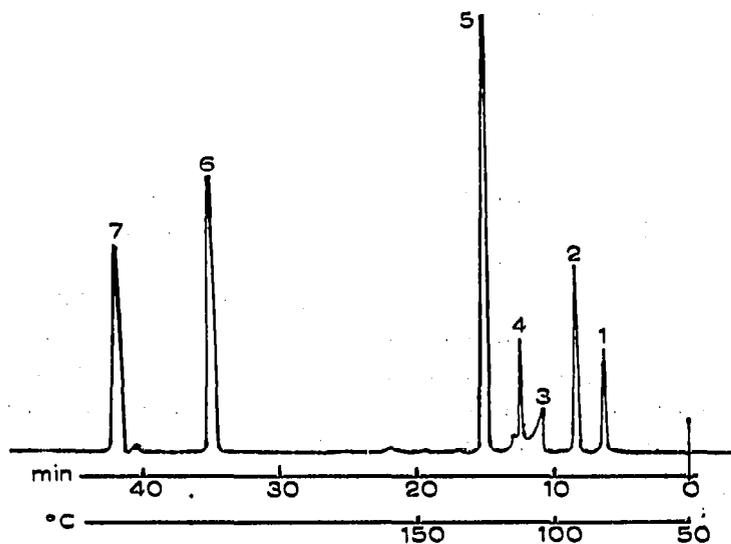


Fig. 5. Gaschromatogramm des Dampfraumes über einem Pilzmycel von *Beauveria bassiana*. Temperatur der Probe 25°; Probenvolumen 500 ml; Dosierzeit 20 min; Säulenheizung 75°; Säulenkühlung mit Kohlendäureschnee; Ofentemperatur nach Entfernen der Kühlung 50°; Temperaturprogramm bis 150° mit einem Anstieg von 5°/min; Stahlsäule 200 cm; Durchmesser 0.3 cm; Säulenfüllung 15% Polypropylenglykol UCON-OIL LB 550X auf Celite 545, 60-100 mesh (Perkin-Elmer-Säule R); Trägergas 30 ml/min He, FID. Bezeichnung der Peaks und Empfindlichkeit ihrer Anzeige: 1 = Aceton $\times 64$; 2 = Methylacetat $\times 64$; 3 = Methanol $\times 64$; 4 = Äthylacetat $\times 64$; 5 = Äthanol $\times 128$; 6 = 6-Methyl-5-hepten-2-on $\times 16$; 7 = 6-Methyl-5-hepten-2-ol $\times 16$.

(3) Die Anwendung der Methode auf sehr verdünnte Systeme, die mit Wasserdampf gesättigt sind, wird an Hand einer Analyse der Duftstoffe eines Pilzes beschrieben. Der insektenpathogene Pilz *Beauveria bassiana* lässt sich in Oberflächenkultur auf flüssigem Nährboden züchten¹⁵. Die in die Dampfphase abgegebenen Stoffwechselprodukte des Pilzmycels, welche zum typischen Geruch beitragen, werden nach der "head space" Methode der gaschromatographischen Analyse zugeführt. Nach einer Züchtungsdauer von 3 Wochen bei 22° ist über dem Mycel der charakteristische Geruch wahrnehmbar und eine Analyse erscheint sinnvoll. Der Züchtungskolben wird thermostatisiert und zur Ergänzung des im Verlauf der Probenentnahme abgesaugten Volumens Stickstoff eingeleitet. Die Details der Probenentnahme und die genauen Bedingungen der chromatographischen Trennung sind aus der Legende zu Fig. 5 ersichtlich.

Im allgemeinen sind beim Probenentnehmen aus mit Wasser gesättigten Dämpfen gewisse Vorsichtsmaßnahmen notwendig. Da der prozentuelle Anteil des Wassers meist nicht interessiert, ist dem FID der Vorzug vor dem HDD zu geben. Vorteilhaft entfernt man die Metallfritte am Säulenansatz und heizt denselben zur Vermeidung von Kondensationen. Gleichzeitig ist zu beachten, dass die Kühlzone durch Eisbildung verstopft werden kann, was mit Hilfe eines in die Saugleitung eingebrachten Blasen-zählers zu erkennen ist.

SCHLUSSWORT

Die behandelten Beispiele geben einen Hinweis auf die vielseitige Anwendbarkeit der "head space" Technik für Reaktionsaufklärung, Partialdruckmessung und Duftstoffanalyse. Einige der hier aufgezeigten Sachgebiete werden im weiteren eine detaillierte Bearbeitung erfahren, wobei das Problem und nicht die Methode im Vordergrund stehen soll.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine gaschromatographische "head space" Methode beschrieben, bei welcher Konzentrierung und Auftrennung der dampfförmigen Komponenten in der Säule erfolgen. Damit erübrigt sich die Verwendung zusätzlicher Kühlfallen, Adsorptionsfilter und Dosierspritzen. Die Erfassung niedrig siedender Substanzen wie Blausäure als Reaktionsprodukt, die Messung der Partialdruckverhältnisse über einer Lösung der 4 isomeren Butylalkohole und die Geruchstoffanalyse eines insekten-tötenden Pilzes sind als Beispiele gewählt. Die Anwendbarkeit der Methode auf Probenvolumina von 2 bis 500 ml und Substanzen mit Siedepunkten von 26° (Blausäure) bis 178° (Methylheptenol) ist ersichtlich.

SUMMARY

A gas chromatographic head space technique is described whereby concentration and separation of volatile components are carried out in the column. This procedure eliminates the additional use of cooling traps, absorption filters and syringes. The determination of low boiling substances such as hydrogen cyanide from an organic reaction, the measurement of the relationship of the partial pressures above a solution

of the 4 isomeric butanols and an aroma analysis of an insecticidal fungus are chosen as examples. The application of the method to sample sizes from 2 to 500 ml and substances with boiling points from 26° (HCN) to 178° (methylheptenol) is shown.

LITERATUR

- 1 D. A. M. MACKAY, D. A. LANG UND M. BERDICK, *Anal. Chem.*, 33 (1961) 1369.
- 2 C. WEURMAN, *Food Technol.*, 15 (1961) 531.
- 3 W. W. NAWAR UND I. S. FAGERSON, *Food Technol.*, 16 (1962) 107.
- 4 R. TERANISHI, R. G. BUTTERY UND R. E. LUDIN, *Anal. Chem.*, 34 (1962) 1033.
- 5 R. BASSETTE, S. ÖZERIS UND C. H. WHITNAH, *Anal. Chem.*, 34 (1962) 1540.
- 6 R. TERANISHI UND R. G. BUTTERY, *Symp. Volatile Fruit Flavours, Intern. Fed. Fruit Juice Producers, Bern, 1962*, Juris Verlag, Zürich, 1962, p. 257.
- 7 S. ÖZERIS UND R. BASSETTE, *Anal. Chem.*, 35 (1963) 1091.
- 8 E. SPRECHER UND K. H. STRACKENBROCK, *Z. Naturforsch.*, 18b (1964) 495.
- 9 R. E. KEPNER, H. MAARSE UND J. STRATING, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 77.
- 10 K. H. STRACKENBROCK, *Dissertation, Univ. Bonn, 1961*.
- 11 *Symp. Volatile Fruit Flavours, Intern. Fed. Fruit Juice Producers, Bern, 1962*, Juris Verlag, Zürich, 1962.
- 12 W. J. MIDDLETON, E. L. LITTLE, D. D. COFFMAN UND V. A. ENGELHARD, *J. Am. Chem. Soc.*, 80 (1958) 2795.
- 13 R. G. ACKMAN, *J. Gas Chromatog.*, (1964) 173.
- 14 I. A. V. BUTLER, C. N. RAMCHANDANI UND D. W. THOMSON, *J. Chem. Soc.*, 138 (1935) 280.
- 15 H. SCHLÜNKEN, *Dissertation, Univ. Graz, 1963*.

J. Chromatog., 25 (1966) 189-197