

Notes

CHROM. 4135

Improved gas chromatographic separation and determination of acetone, diacetyl and C₁-C₇ alcohols

The gas chromatographic separation of acetone, C₁-C₇ alcohols and diacetyl using a 5-ft. stainless steel column (1/4 in. I.D.) was reported earlier¹. The method was an isothermal one whereby 0.5 μ g portions of acetone, methanol, ethanol, isopropanol, 0.25 μ g portions of *n*-propanol, isobutanol, *n*-butanol and 1.2 μ g diacetyl were detectable at 70° with the hydrogen flame detector, and at a column temperature of 110°, 0.1 μ g portions of *n*-pentanol, *n*-hexanol and *n*-heptanol could be detected. Diacetyl was not separable from ethanol and required an additional extraction before gas chromatographic analysis. Although it was possible to carry out bacterial end-product determinations very successfully², it was still a cumbersome method for routine analysis. The introduction of temperature-programming made this method more sensitive and more versatile in routine analysis.

The gas chromatograph used in the reinvestigation was a Shimadzu GC-4APTF with the thermoconductivity cell connected in series with the dual hydrogen flame.

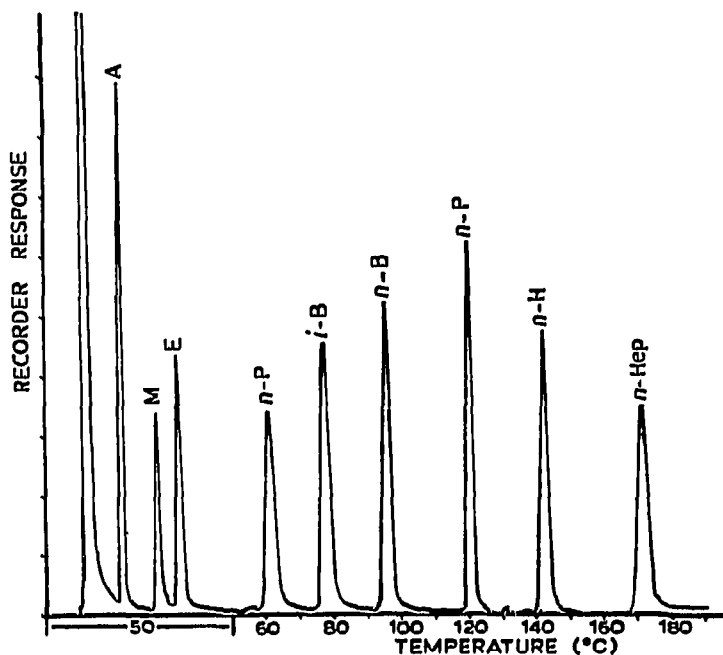


Fig. 1. Gas chromatographic separation of acetone (A), methanol (M), ethanol (E), *n*-propanol (*n*-P), isobutanol (*i*-B), *n*-butanol (*n*-B), *n*-pentanol (*n*-P), *n*-hexanol (*n*-H) and *n*-heptanol (*n*-Hep) on a 6 ft. \times 1/8 in. (3 mm) I.D. stainless steel column packed with 30% PEG-400 on acid-washed Chromosorb W (60/80 mesh). Sensitivity, 10^3 m Ω ; range, 3.2 V; amount of injection, 5 μ l, representing 25 μ g of each compound. For all other conditions see text.

The final column used was a 6-ft. stainless steel column of 3 mm (1/8 in.) I.D., packed with 30 % polyethylene glycol 400 on 60/80 mesh acid-washed Chromosorb W. The conditions of the gas chromatograph were: detector oven temperature, 250°; injection port temperature, 150°; helium gas flow rate, 100 ml/min; air flow rate, 400 ml/min; and hydrogen flow rate, 70 ml/min. With an initial temperature of 50° and a temperature-programming rate of 10°/min starting from 5 min after injection, a perfect separation of acetone, methanol, ethanol, *n*-propanol, isobutanol, *n*-butanol, *n*-pentanol, *n*-hexanol and *n*-heptanol was obtained (Fig. 1). Amounts of 0.02 mg/ml or 100 ng were easily detectable at a sensitivity of 10² mΩ and a range of 0.1 V on the hydrogen flame detector. In addition to the separation of all these compounds in one injection, diacetyl was also clearly separated from ethanol (Fig. 2) and amounts of 0.05 mg/ml or 250 ng were easily detectable. All peaks were distinct and sharp with the exception of diacetyl, which tended to trail slightly. However, the peak heights in all cases and angles of sensitivity did not vary more than 3 % even in the case of diacetyl. The latter never influenced the peak of *n*-propanol.

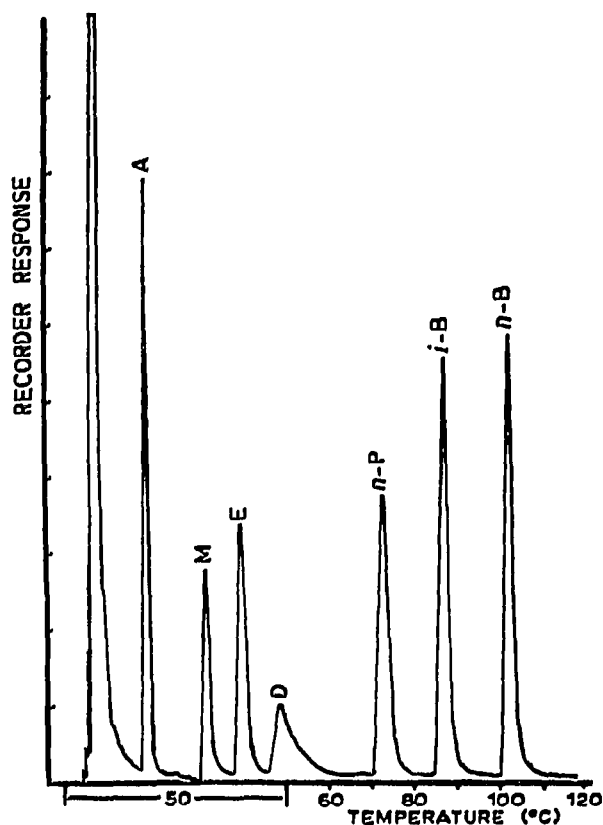


Fig. 2. Gas chromatographic separation of diacetyl (D) from acetone (A), methanol (M), ethanol (E), *n*-propanol (*n*-P), isobutanol (*i*-B) and *n*-butanol (*n*-B). All conditions were as in Fig. 1.

Using columns of smaller diameter and temperature-programming made it possible to increase the sensitivity of detection 2.5- to 5-fold in the case of acetone and the C₁-C₄ alcohols and 10-fold in the case of diacetyl. It also eliminated the necessity

of separating ethanol from diacetyl by a second extraction before gas chromatographic analyses are carried out. However, it was still impossible to separate ethanol from isopropanol.

*Department of Microbiology,
University of Queensland, Medical School,
Herston, Qld. 4006 (Australia)*

H. W. DOELLE

1 H. W. DOELLE, *J. Gas Chromatog.*, 5 (1967) 582.

2 H. W. DOELLE, *Antonie van Leeuwenhoek, J. Microbiol. Serol.*, 32 (1966) 373.

Received April 21st, 1969

J. Chromatog., 42 (1969) 541-543

CHROM. 4123

Trockentransfer dünn-schicht-chromatographisch abgetrennter Flecken

STAHL¹ hat die verschiedenen Kopplungs- und Transfer-Möglichkeiten zwischen Chromatographie und anderen mikroanalytischen Verfahren zusammenfassend beschrieben. Im Sinne einer Ergänzung wird eine neue Technik in der Dünnschicht-Chromatographie (DC) vorgeschlagen, die wir seit einem Jahr mit Erfolg verwenden. Wir nennen sie "DC-DC Trockentransfer".

Da bei der dünn-schicht-chromatographischen Reinheitsprüfung ein einziges System oft noch nicht alle Verunreinigungen abtrennt, werden die Proben meistens auf mehreren Platten mit verschiedenen Fliessmitteln chromatographiert. Dabei stellt sich bei verschiedenem Fliessmittel die Frage, welche Flecken miteinander übereinstimmen. Die DC-DC Trockentransfer-Technik kann hier rasch Klarheit schaffen, da sie eine Zuordnung ermöglicht.

Beschreibung der Technik

Die dünn-schicht-chromatographisch aufgetrennten Komponenten eines Substanzgemisches werden zunächst auf einer ersten DC-Platte zerstörungsfrei nachgewiesen, z.B. durch Fluoreszenzlöschung, Eigenfluoreszenz oder Eigenfärbung. Auf einer zweiten frischen Platte wird am Start eine Fläche von ca. 3 × 3 mm der Schicht weggekratzt. Der zu untersuchende Fleck wird aus der eben trocken gewordenen Schicht der ersten Platte herausgeschabt, in die schichtfreie Stelle der zweiten Platte überführt und mit einem Spatel angeedrückt. Je nach Problemstellung wird nun mit dem gleichen oder einem anderen Fliessmittel chromatographiert. Das Ausfüllen der Startstelle mit dem ausgekratzen losen Sorptionsmittel verursachte nach unseren Erfahrungen weder R_F -Wert Verschiebungen noch sonstige Störungen. Neben dem transferierten Fleck muss selbstverständlich auch das ursprüngliche Gemisch auf der Platte mitchromatographiert werden. Gegenüber der zweidimensionalen DC bietet

J. Chromatog., 42 (1969) 543-544