

ÜBER DIE "INHALTSSTOFFE" VON FILTERPAPIEREN—II¹

G. REMBERG, H. LUFTMANN, G. v. UNRUH UND G. SPITELLER

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

(Received in Germany 29 June 1971; Received in the UK for publication 7 July 1971)

Zusammenfassung—Bei der Spurenanalyse organischer Verbindungen dürfen käufliche Rund- und Faltenfilter, insbesondere aber Extraktionshülsen ohne vorhergehende Reinigung nicht verwendet werden; denn das Papiermaterial enthält beträchtliche Mengen an Kohlenwasserstoffen, Alkoholen, Fettsäuren, Weichmachern, Terpenen und Sterinen. Weitreichende Schlüsse, die man ohne Kenntnis dieser Tatsache aus der Auffindung von Sterinen in geochemischen und biologischen Materialien ableitete, scheinen deshalb einer neuerlichen Prüfung wert.

Abstract—The trace analysis of organic compounds using commercial available filters, especially extraction thimbles, is prohibited without preceding purification because the paper contains considerable amounts of hydrocarbons, alcohols, fatty acids, plasticisers, esters of resin acids and sterols. Conclusions drawn regarding the data obtained for sterols in geochemical and biological materials should be reconsidered and justify re-examination.

UMFANGREICHERE Untersuchungen ergaben jetzt, dass die meisten der früher beschriebenen Verunreinigungen in allen käuflichen Filtern, Extraktionshülsen und Rohmaterialien der verschiedensten Herstellerfirmen enthalten sind. Über die Inhaltsstoffe der in Tab. 1 aufgeführten Materialien sowie über den Reinigungseffekt einiger Lösungsmittel soll hier berichtet werden.

Bei der Extraktion¹ erhielten wir die in Tabelle 1 angegebenen Mengen an organischen Verunreinigungen.

Die Papiere wurden im Soxhletapparat mit hochgereinigten, auf Rückstandfreiheit geprüften Lösungsmitteln extrahiert.¹

Wie man aus Tabelle 1 entnehmen kann, wird mit Äthylacetate etwa 1,5mal soviel organische Substanz wie mit Äther extrahiert (vergl. c mit d). Nach unseren Erfahrungen dürfte eine zweistündige Extraktion mit Äthylacetat als Reinigung ausreichend sein, da Papiermaterial vorwiegend unpolare Verunreinigungen enthält. Für höchste Ansprüche empfehlen wir eine zweistufige Extraktion, zuerst mit Äther, dann mit dem Lösungsmittel, mit dem man filtrieren bzw. extrahieren will. Im Falle einer GC/MS-Analyse ist die Verwendung von Petroläther ungünstig, weil dieser stets höhermolekulare Bestandteile enthält (Petroläther wird neben anderen Lösungsmitteln zur Extraktion von löslichen Holzbestandteilen vorgeschlagen²).

Bei den Filterpapieren MN 615 ff 1/4 und 616 ff handelt es sich laut Firmenangabe³ um mit organischen Lösungsmitteln harz- und fettfrei gemachte Filter, die für genaue Fettbestimmungen empfohlen werden. Wie Tabelle 1 zeigt (vergl. e und f), enthalten diese etwas weniger als die Hälfte der ursprünglichen Menge an löslichen Bestandteilen. Vergleicht man die Gaschromatogramme von e und f (Abb. 1a and 1b), so fällt auf, dass einige Substanzen in den ff-Filtern nahezu verschwunden sind. Palmitin-

TABELLE I

Untersuchtes Material		lösl. Verb. in µg/Stück	Extraktions- mittel
(a) Faltenfilter MN 616 1/4	Ø 12.5 cm	418	Aeac.
(b) Faltenfilter MN 616 1/4	Ø 9 cm	231	Aeac.
(c) Rundfilter MN 616	Ø 12.5 cm	245	Aeac.
(d) Rundfilter MN 616	Ø 12.5 cm	156	Ae.
(e) Rundfilter MN 616	Ø 9 cm	352	Aeac.
(f) Rundfilter NM 616 ff	Ø 9 cm	161	Aeac.
(g) Faltenfilter MN 615 ff 1/4	Ø 27 cm	1860	Aeac.
(h) Faltenfilter Whatman 2V	Ø 9 cm	520	Aeac.
(i) Faltenfilter Whatman 2 V	Ø 12.5 cm	420	Aeac.
(k) Rundfilter Whatman 1	Ø 9 cm	117	Aeac.
(l) Faservliesefilter MN 100/40	Ø 9 cm	150	Aeac.
(m) Glasfaserfilter S. & S. Nr. 6 (nicht gegläht)	Ø 15 cm	540	Ae.
(n) Melitta-100-Kaffeesschnellfilter 8 cm hoch		290	Ae.
(o) Extraktionshülse MN 645 85 × 25 mm		1079	Ae.
(p) Extraktionshülse S. & S. 603 19 × 90 mm		919	Aeac.
(q) Rundfilter S. & S. Nr. 597 L	Ø 15 cm	140	Ae.
(r) Rundfilter S. & S. Nr. 589 ² L	Ø 15 cm	210	Ae.
(s) Sulfatzellstoff S. & S. 668* 88.9 g		26100	Ae.
(t) Linters S. & S. 928* 76.0 g		7400	Ae.
(u) Linters S. & S. 936* 59.7 g		11800	Ae.

* Die Papierrohmaterialien S. & S. 668, 928 und 936 wurden uns als Papptafeln übersandt.

Aeac. = Aethylacetat

Ae. = Diaethyläther

MN = Macherey-Nagel & Co., 516 Düren (Deutschland)

Whatman = registered trademark of W. & R. Balston Ltd., Maidstone, England

S. & S. = Carl Schleicher & Schüll, Dassel, Krs. Einbeck (Deutschland)

säure (24 in Abb. 1a und 1b) und Sitostatrien (57 in Abb. 1a und 1b) sind deutlich weniger geworden. chloriertes Methyldehydroabietat ist vollständig extrahiert. Andere Komponenten sind relativ angereichert (insbesondere langkettige Alkohole) (vergl. 38. 39. 40. 41 in Abb. 1b). Ausserdem sind zusätzliche Verunreinigungen (vermutlich aus den verwendeten Lösungsmitteln) hinzugekommen (so Tributylphosphat 47 Abb. 1b und Di-n-butyl-phthalat 44 im gleichen Gaschromatogramm).

Um jegliche organische Verunreinigungen durch Filter zu vermeiden, werden geglähte Glasfaserfilter empfohlen. Schon ungeglähte Filter S. & S. Nr. 6 enthalten praktisch keine organischen Bestandteile. Allerdings werden aus diesen relativ grosse Mengen anorganischer Substanzen eluiert, die im Gaschromatogramm keine Peaks verursachen. Sie können aber bei Wägungen von geringen Substanzmengen störend in Erscheinung treten. (Weil die mechanische Stabilität von Glasfaserfiltern relativ gering ist, werden sie nicht als Faltenfilter geliefert.)

Linterspapiere gelten als besonders rein. Wir stellten fest, dass sie tatsächlich deutlich weniger lösliche organische Substanzen enthalten, insbesondere sind sie arm an Sterinen. Sie enthalten jedoch eine Reihe höhermolekularer, nicht identifizierter Verbindungen (Molekulargewichte: 560, 486, 482, 456). Für anorganische Analysen werden säuregewaschene, metallionenarme Linterspapiere verwendet. Diese sind

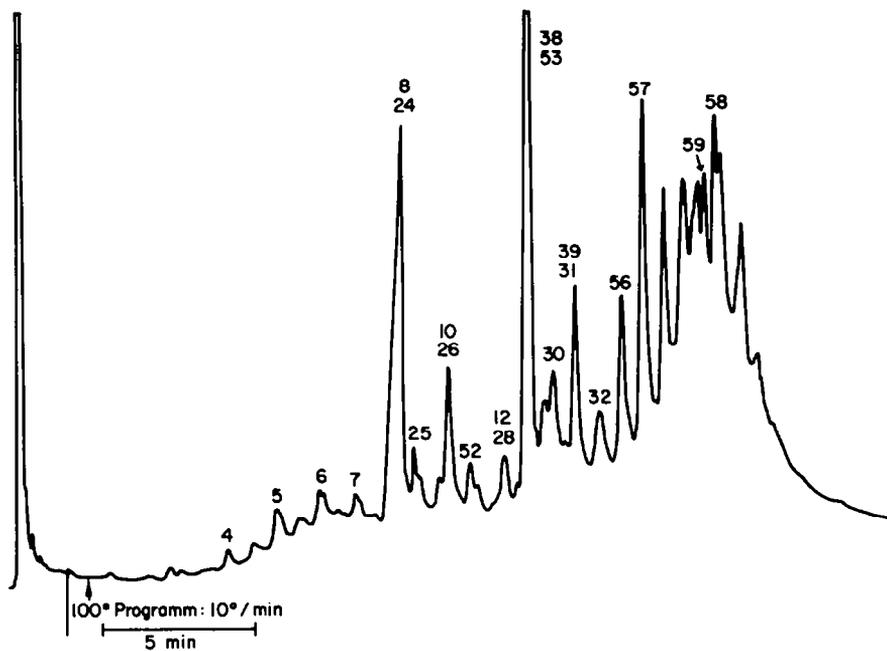


Abb. 1a: Gaschromatogramm eines Äthylacetatextrakts von Rundfiltern MN 616 \varnothing 9 cm.

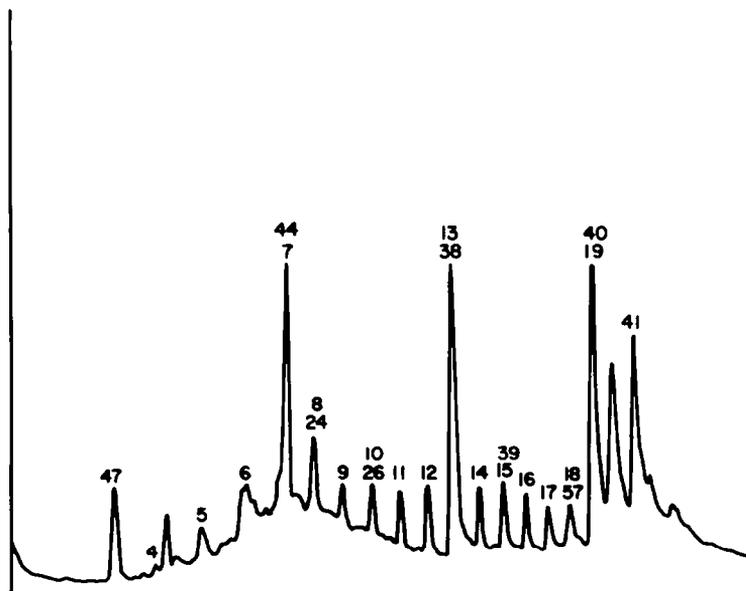


Abb. 1b: Gaschromatogramm eines Äthylacetatextrakts von Rundfiltern MN 616 \varnothing 9 cm.

Fortsetzung TABELLE 2.

Nr.	Verbindung	Vorkommen (vergl. Tab. 1)													Lit.				
		a	b	e	f	g	h	i	k	l	n	o	p	q		r	s	t	u
49	Di-n-propyl-maleat								+										7
50	Di-n-butyl-fumarat								+										7. 12
51	2.6-Di-tert-butyl-p-kresol													+	+				8
<i>Terpene</i>																			
52	Methyl-dehydro-abietat	+	+	+				+		+						+	+	+	9
53	chloriertes Methyl-dehydroabietat	+	+	+										+				+	
54	Methyl-dihydro-palustrat								+										10
55	Methyl-dihydro-iso-pimarat								+										10
<i>Steroide</i>																			
56	Campesta-trien	+	+	+				+	+					+	+			+	
57	Sitosta-trien	+	+	+	+	+	+	+	+	+				+	+			+	
58	Sitost-4-en-3-on		+	+	+			+	+	+	+			+	+				
59	Sitosta-3.5-dien-7-on	+	+	+			+												11
60	5 α -Sitostan-3 β -ol												+						7
61	5 α -Sitostan-3-on																	+	7

Tabelle 2 enthält die nach Substanzklassen geordneten, identifizierten Verunreinigungen. Die kleinen Buchstaben beziehen sich auf Tabelle 1. Außer diesen identifizierten findet man noch eine Reihe weiterer Verunreinigungen im Papier: verzweigte Kohlenwasserstoffe, einige ungesättigte Alkohole, chlorhaltige Verbindungen, Triterpene und Sterine.

allerdings für organische Untersuchungen schlechter als die unbehandelten geeignet, denn sie enthalten mehr Verunreinigungen z. T. Hydrolyseprodukte.

Die aus 100% regenerierter Zellulose bestehenden Faservliesefilter MN 100/40 enthalten verhältnismässig grosse Mengen an n-Kohlenwasserstoffen und Phthalestern. Die Hauptkomponenten sind Di-n-butyl-phthalat und Di-octylphthalat. In den von uns untersuchten Whatman-Filtertypen fällt neben den normalen Verunreinigungen ein hoher Anteil von Beimengungen aus Kunstharzen auf (u.a. Maleate). Derartige Harze dienen zur Verbesserung der Nassfestigkeit.

Interessehalber untersuchten wir zusätzlich Kaffeefilter (Melitta 100) und fanden in erster Linie Kohlenwasserstoffe (n-C₁₄ bis n-C₁₈) und Tri-n-butylphosphat.

Schon beim normalen Filtrieren werden störende Mengen organischer Substanzen mit Sicherheit gravierend, nicht nur wegen der erschöpfenden Extraktion, sondern auch weil die Masse einer Extraktionshülse viel grösser ist als die eines Filters (Abb. 2).

Um die Frage der Herkunft der Verunreinigungen zu klären, untersuchten wir Papierrohmaterialien (Abb. 3).

Dabei zeigte es sich, dass die meisten Verunreinigungen schon im Rohmaterial enthalten sind. Sie stammen aller Wahrscheinlichkeit nach aus dem Holz bzw. der Baumwolle. Als zusätzliche Quelle für lösliche Verbindungen kommen Papierhilfsmittel zur Verbesserung der Nassfestigkeit in Frage.

Es lassen sich folgende Gruppen von Verunreinigungen unterscheiden:

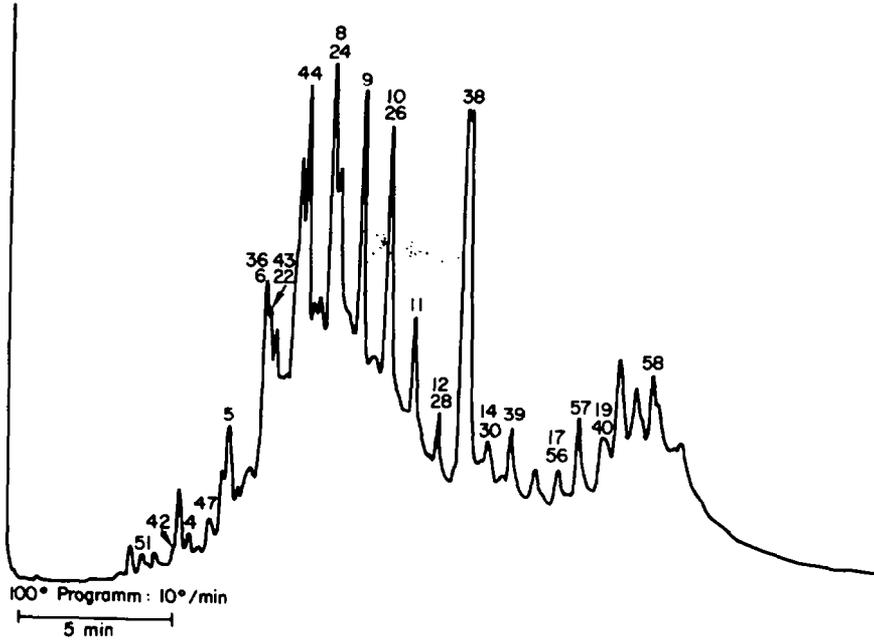


ABB. 2: Gaschromatogramm eines Äthylacetatextraktes von Extraktionshülsen S. & S. 603.

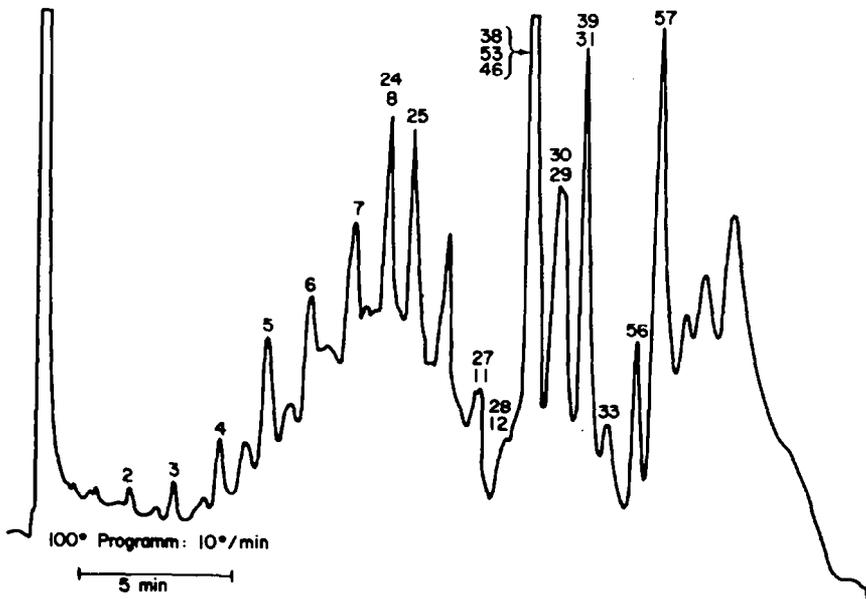


ABB. 3: Gaschromatogramm eines Ätherextraktes von Sulfatzellstoff S. & S. 668.

(A) Pflanzenstoffe (Phytosterine, Terpene); (B) Artefakte von (A) (dehydratisierte Sterine, chlorierte Verbindungen); (C) Bei der Verarbeitung und "Veredelung" hinzukommende Substanzen (Phthalester, Alkylphosphate, Maleate u. a. Weichmacher); (D) Stoffe, die jeder der vorgenannten Gruppen angehören können (Fettsäuren, Kohlenwasserstoffe, Alkohole).

Wegen der ausserordentlich weiten Verbreitung der Substanzen A, B und vor allem D scheint uns die Gefahr gegeben zu sein, dass bei früheren Aufarbeitungen kleiner Mengen von Naturstoffen Verunreinigungen aus Papier eingeschleppt, als solche nicht erkannt wurden und demnach falsche Schlussfolgerungen ergaben.

Besonders störend ist der hohe Gehalt an Sterinen, sowohl in allen Filterpapierarten als auch in den Extraktionshülsen für geochemische und biologische Untersuchungen, Sterinspuren werden häufig in der "organischen Geochemie" als Beweis für den phytochemischen Ursprung eines Sedimentes herangezogen¹³. So wurden in einer kürzlich erschienenen Arbeit¹⁴ in einem Sediment nur Steroide nachgewiesen, die auch in Extraktionshülsen und Filterpapieren vorhanden sind. Sterinspuren werden immer wieder in menschlichem und tierischem Gewebe¹⁵ nachgewiesen. Medizinisch so interessante Probleme wie die Passage von Steroiden aus der Mutter in den Fetus wurden über eine Bestimmung der Phytosterine angegangen.¹⁶ In diesen und vielen anderen Fällen scheint uns die sorgfältige Reinigung des verwendeten Papiermaterials unerlässlich zu sein.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung der Arbeiten durch eine Sachbeihilfe, den Firmen Carl Schleicher & Schüll und Macherey-Nagel + Co., für die Überlassung des Filtermaterials und die bereitwilligen Auskünfte bei allen auftretenden Fragen.

LITERATUR

- ¹ Gerd v. Unruh, Gerd Remberg und Gerhard Spiteller, *Chem. Ber.* **104**, 2071 (1971)
- ² B. L. Browning, *Methods of wood chemistry* Vol I Interscience, Wiley, New York (1967)
- ³ Firmenprospekt: Filterpapiere, Filterhilfsmittel: Macherey-Nagel Co., 516 Düren, Deutschland (1970)
- ⁴ American Petroleum Institute (API): Collection of "uncertified" mass spectra
- ⁵ Gerhard Spiteller, *Massenspektrometrische Strukturanalyse organischer Verbindungen*, Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr. (1966)
- ⁶ A. Cornu and R. Massot, *Compilation of Mass Spectral Data*, Heyden, London (1966).
- ⁷ Eigene Spektrensammlung
- ⁸ Uncertified Dow Mass Spectral Data
- ⁹ C. R. Enzell und I. Wahlberg, *Acta Chem. Scand.* **23**, 871 (1969)
- ¹⁰ C. A. Genge, *Analyt. Chem.* **31**, 1750 (1959)
- ¹¹ K. Biemann, *Mass Spectrometry, Organic Chemical Applications* S. 173, McGraw Hill, New York (1962)
- ¹² J. H. Bowie, D. H. Williams, P. Madsen, G. Schroll and S. O. Lawesson, *Tetrahedron* **23**, 305 (1967)
- ¹³ P. Albrecht und G. Ourisson, *Angew. Chem.* **83**, 221 (1971)
- ¹⁴ W. Henderson, W. E. Reed, G. Steel and M. Calvin, *Nature, Lond.* **231**, 308 (1971)
- ¹⁵ T. A. Miettinen, *Acta Chem. Scand.* **21**, 286 (1967)
- ¹⁶ T. A. Miettinen and T. Luukkainen, *Ibid.* **22**, 2603 (1968)