

Kapillar-Gaschromatographie von Triglyceriden

Autor(en): **Grob, Konrad**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Jahrbuch der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft. Wissenschaftlicher und administrativer Teil = Annuaire de la Société Helvétique des Sciences Naturelles. Partie scientifique et administrative**

Band (Jahr): **160 (1980)**

PDF erstellt am: **18.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-90797>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Kapillar-Gaschromatographie von Triglyceriden

Konrad Grob

Kapillar-Gaschromatographie von Triglyceriden erschliesst eine Reihe von interessanten Möglichkeiten für die Lebensmittelanalytik (1, 2). So erlaubt sie eine rasche und, verglichen mit hergebrachten Methoden, auch genauere Butterbestimmung in Fetten (z. B. Butteranteil in Margarinen, Schokoladen oder Fettanteilen aus z. B. Gebäck). Dabei ist die selektive Bestimmung von Butterfett (Fig. 1) neben Kokosfett, das sich in der Molekulargewichtsverteilung der Triglyceride nicht stark von Butter unterscheidet, eine Voraussetzung. Sie gelingt nur mit Kapillar-GC indem z. B. die Triglyceride 4-14-18 (Butter) und 12-12-12 (Kokosfett) innerhalb der Gruppe 36 (36 C-Atome in den Seitenketten) getrennt werden können. Andere Anwendungen ergeben sich für den Nachweis fraktionierter Butter, von Umesterungen, Hitzebehandlungen (Friturefette) und Identitätsbestimmungen für Kakaobutter. Das weltweite Interesse an der Triglyceridanalytik lässt aber vermuten, dass der Bereich von deren Anwendung sich rasch ausweiten könnte.

Kapillar-GC von Triglyceriden ist aber auch aus technischer Sicht ein höchst interessantes Thema, das geradezu dazu einlädt, über neuere Entwicklungserfolge, aber auch deutlicher sichtbar gewordene Begrenzungen der Technik zu berichten. Triglyceride sind die höchstmolekularen Substanzen, deren Kapillar-GC systematisch untersucht worden ist. Gewisse Triglyceride haben Molekulargewichte von über 1000 Dalton, und von Flüchtigkeit (bzw. Gasen) derartiger Substanzen zu sprechen fällt schwer. Die Gaschromatographie derartiger Verbindungen erfolgt bei 300 bis 380 °C, in einem Bereich also, der für die Kapillar-GC erst in den letzten 2 bis 3 Jahren erschlossen worden ist – obwohl für gepackte Säulen Hübner bereits 1961 eine Triglyceridanalyse beschrieben hat (3). Die Triglyceride ergaben eine

Gelegenheit, die hergebrachten Methoden und apparativen Techniken mit einer sehr kritischen Probe zu überprüfen.

Injektionstechniken für Triglyceride

Ein Vergleich der Resultate von Verdampfungsinjektionen (split und splitlos) und kalter on-column Einspritzung wurde kürzlich veröffentlicht (4). Probenaufgabe mittels Verdampfung im Einspritzblock ergab hohe Standardabweichungen und (für die Einspritzung mit Stromteilung) auch starke Verfälschung der Probenzusammensetzung im Probenanteil, welcher die Kapillare erreichte. Solche Resultate sind allerdings nicht überraschend, denn von einer wirklichen Verdampfung der Probe im Einspritzblock kann nicht die Rede sein. Da wird eine Methode zur Probenaufgabe verwendet, deren Begründer niemals an Triglyceride gedacht haben. Auch in einem Verdampfer von 400 °C bleiben die Triglyceride weitgehend flüssig. Das Lösungsmittel (Verdünnung ca. 1:1000 pro Substanz) gewinnt dabei eine grosse Bedeutung, da es als Treibmittel wirkt, um die Probe sprayartig in kleine Tröpfchen zu zerlegen. Bei der Stromteilung wird nicht ein Gas, sondern ein Nebel geteilt. Obwohl bei andern Proben eine Teilung von Nebeln bei entsprechend gewählten Techniken durchaus brauchbare Resultate lieferte (5), ist diese Methode für Triglyceride kaum brauchbar. Umso überraschender waren unter diesen Gesichtspunkten die relativ guten Resultate der splitlosen Einspritzungen. Da der Triglyceridnebel im Injektor relativ lange verweilt (ca. 10 Sekunden im Mittel) wären grössere Verluste durch Kondensation von Tröpfchen an die Oberflächen im Probengeber nicht erstaunlich gewesen. Die beobachteten Verluste waren aber durch die unvollständige Elution aus der Spritzennadel

vollständig erklärbar (jene Verluste erreichten ca. 15% der Probe, abhängig von der angewandten Technik zur Spritzenadelhandhabung während der Einspritzung (6, 7)). Offensichtlich gelingt es, die Triglyceridtröpfchen genügend klein zu halten, um den Nebel zu stabilisieren.

Eine interessante Alternative stellt die bereits über 10jährige «moving needle»-Einspritztechnik dar (1), welche den Vorteil bietet, alle Spritzenadelprobleme zu umgehen. Die Triglyceride müssen allerdings bei mindestens 400 °C von einer Glasoberfläche verdampfen, was kaum ohne Zersetzung möglich ist.

Die Einspritzmethode der Wahl stellt jedoch eindeutig die kalte Injektion direkt in die

Kapillare dar, die bald 4jährige «cold on-column»-Injektion (8, 9, 10), was alle Probleme im Zusammenhang mit der Probenverdampfung umgeht. Die Probenzusammensetzung erfährt keine Veränderung, und die Standardabweichung der Resultate bewegt sich im Bereich von 1–3%. Damit ist aber auch erstmals eine Einspritztechnik der Kapillar-GC eindeutig den Techniken für gepackte Säulen überlegen.

Chromatographie

Die einzigen Kapillarkolonnen, die bis heute ein routinemässiges Arbeiten bei Temperaturen bis 380 °C erlauben, sind die in den

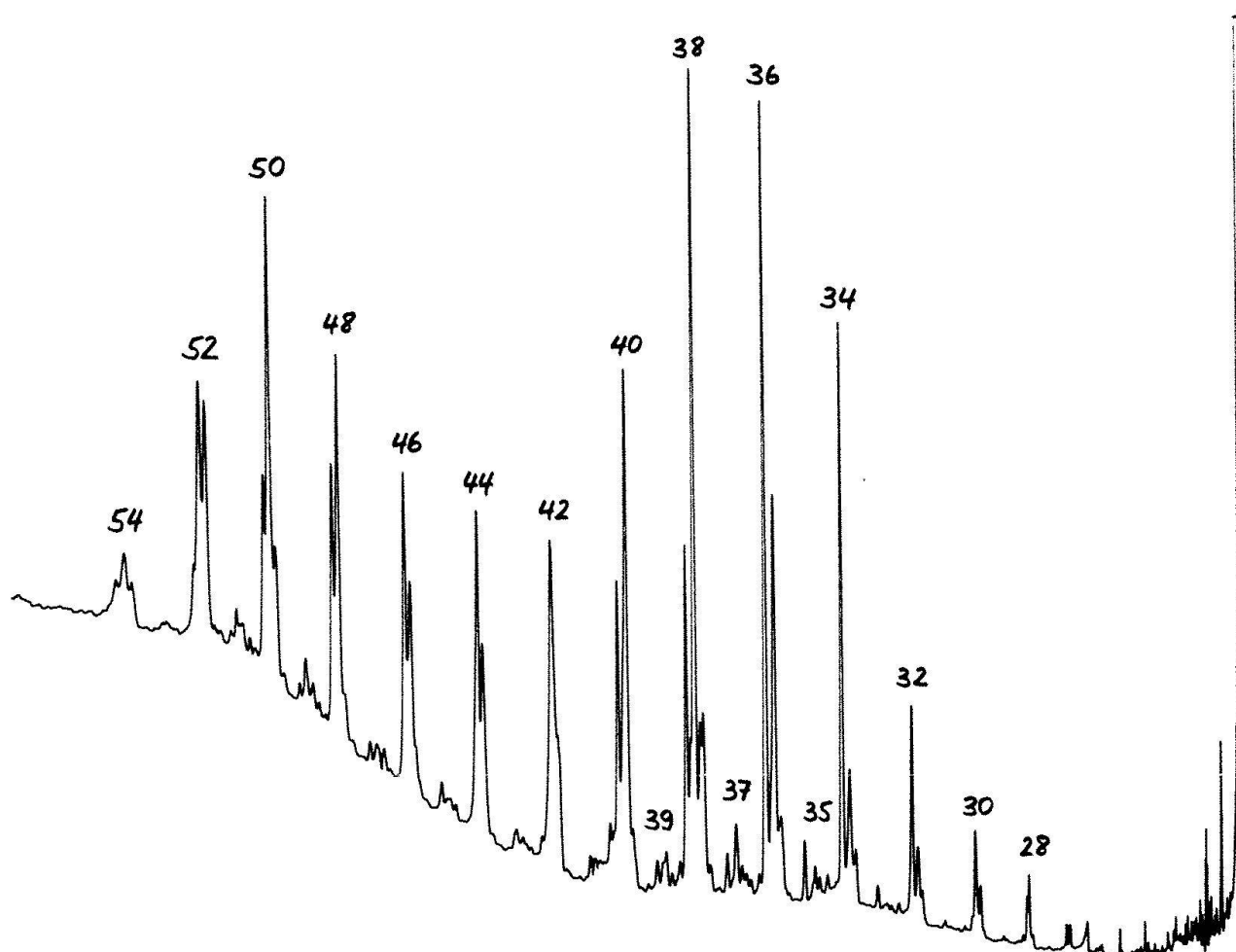


Fig. 1. Buttertriglyceride auf einer 15 m/0,30-mm-Glaskapillare belegt mit 0,08 µm SE 52; 0,9 at Wasserstoff als Trägergas; kalte on-column-Einspritzung. Die angegebenen Zahlen über den Peakgruppen beziehen sich auf die Gesamtzahl von Kohlenstoffatomen in den Seitenketten. Innerhalb der Gruppen mit einer bestimmten Anzahl Kohlenstoffe sind eine Vielzahl von Isomeren möglich, die sich durch verschiedene Kombinationen von Fettsäureketten unterschiedlicher Länge, durch Doppelbindungen und deren Positionen etc. unterscheiden. Die partielle Auftrennung dieser Isomere gelingt nur mit Kapillar-GC. Sie erlaubt eine empfindliche Analyse von Veränderungen des Fettes durch Zusätze oder technologische Veränderungen.

letzten 3 Jahren entwickelten Glaskapillaren mit persilylierter Oberfläche (11, 12) und unpolaren Gummiphasen. Voraussetzung für eine derartige Thermostabilität der Trennsäulen ist eine genügende Inertie der Unterlage. Dabei hat sich die Problematik insofern verschoben, als nicht mehr Adsorption polarer Verbindungen, sondern Reaktivität und katalytische Aktivität im Zentrum der Entwicklungsbemühungen steht. Letztere entscheiden über die chemische Stabilität der stationären Phase und der Desaktivierung der Unterlage. Reaktivität und katalytische Aktivität sind aber auch immer mehr von entscheidender Bedeutung der Probe gegenüber. Die wichtigste Begrenzung der Kapillar-GC stammt heute weniger von der Thermostabilität der Säulen her als von der chemischen Stabilität der Proben. Triglyceride sind auch da ein geeignetes Experimentierfeld. Seit langem ist bekannt, dass auf (gepackten) Säulen Verluste auftreten (13), wobei die Meinung vorherrschte, dass diese durch Adsorption der Triglyceride aufgrund ungenügender Flüchtigkeit auftreten (14). Eigene Arbeiten mit Kapillarsäulen bestätigen diese Meinung allerdings nicht (15). Quantitative Analysen der Substanzen, welche die Kapillare während der Chromatographie von Triglyceriden verlassen, zeigten, dass die verlorenen Triglyceride praktisch vollständig in der Form ihrer Abbauprodukte wiedergefunden werden (freie Fettsäuren und Fragmente mit Diglycerid-ähnlichen Strukturen). Für Kapillar-GC ist also weiterhin keine Probe bekannt, die mangels Flüchtigkeit teilweise in der Säule «hängen» bleibt – eine verbreitete Ansicht in der GC mit gepackten Säulen. Eine Probe, welche in präparativem Stil den gleichen Hitzebehandlungen ausgesetzt wurde wie eine chromatographierte Probe, zeigte ähnliche Abbauraten wie jene, welche die Kapillare passierte. Daraus wurde abgeleitet, dass der thermische Abbau nicht wesentlich durch katalytische Aktivität der Kapillarunterlage beschleunigt worden sein kann. Die thermische Fragmentierung verlief also spontan. Das bedeutet, dass für diese Proben die Möglichkeiten ausgeschöpft sind, durch Verbesserung der Säulenherstellungstechniken die Zerstörung thermolabiler Substanzen zu vermindern. Als einziger Ausweg zur Verminderung der Triglyceridverluste bleibt die Wahl

möglichst milder Chromatographiebedingungen. So erlaubt Wasserstoff als Trägergas die kürzesten Retentionszeiten für eine bestimmte Trennleistung (ca. die Hälfte verglichen mit Helium und ein Drittel jener von Stickstoff). Noch wichtiger ist aber die geeignete Wahl der Filmdicke der stationären Phase. Eine Halbierung der Filmdicke bewirkt eine Erniedrigung der Elutionstemperatur um 15 °C, wenn die übrigen Faktoren konstant bleiben (16). Bei Filmdicken unter 0,05 µm nimmt diese Abhängigkeit jedoch ab, so dass der Übergang zu noch dünneren Schichten nur noch die ohnehin knappe Kapazität der Kapillare weiter verringert, ohne die Retention noch wesentlich zu verkürzen. Die letzte Möglichkeit, die Verkürzung der Kapillare, kostet Auflösung und ist nur beschränkt möglich. Wenn diese Möglichkeiten jedoch voll ausgeschöpft sind, stösst die Kapillar-GC an ihre Grenzen. Die Flüchtigkeit der mit Glaskapillar-GC analysierbaren Substanzen mag zwar noch weiter abnehmen, falls es gelingt, die Thermostabilität der Kapillaren weiter zu erhöhen. Adsorption oder Verluste aufgrund von Reaktivität oder katalytischer Aktivität der Unterlage mögen durch verbesserte Desaktivierungsverfahren vermeidbar werden. Bei Substanzen wie den Triglyceriden jedoch, die bei den hohen Temperaturen spontan zerfallen, scheint heute ein Ende der Entwicklungsmöglichkeiten erreicht zu sein.

Literatur

- (1) A. Monseigny, P.V. Vigneron, M. Levacq und F. Zwoboda, *Rev. Fse Corps Gras* 3, 107 (1979).
- (2) K. Grob jun., H.P. Neukom und R. Battaglia, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 57, 282 (1980).
- (3) V.R. Hübner, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 38, 628 (1961).
- (4) K. Grob jun., *J. Chromatogr.* 178, 387 (1979).
- (5) K. Grob jun., H.P. Neukom und P. Hilling, *J. High Res. Chromatogr., Chromatogr. Commun.* 4, 203 (1981).
- (6) K. Grob jun. und H.P. Neukom, *J. High Res. Chromatogr., Chromatogr. Commun.* 2, 15 (1979).
- (7) K. Grob jun. und S. Rennhard, *J. High Res. Chromatogr., Chromatogr. Commun.* 3, 627 (1980).
- (8) K. Grob und K. Grob jun., *J. Chromatogr.* 151, 311 (1978).
- (9) M. Galli, S. Trestianu und K. Grob jun., *J. High Res. Chromatogr., Chromatogr. Commun.* 2, 366 (1979).

- (10) K. Grob jun. und H.P. Neukom, J. Chromatogr. 189, 109 (1980).
- (11) K. Grob, G. Grob und K. Grob jun., J. High Res. Chromatogr., Chromatogr. Commun. 2, 31 (1979).
- (12) K. Grob, J. High Res. Chromatogr., Chromatogr. Commun. 3, 493 (1980).
- (13) C. Litchfield, R.D. Harlow und R. Reiser, J. Am. Oil Chem. Soc. 42, 849 (1965).
- (14) W.C. Breckenridge und A. Kuksis, Lipids 5, 342 (1970).
- (15) K. Grob jun., J. Chromatogr. 205, 289 (1981).
- (16) K. Grob jun. und K. Grob, Chromatographia 10, 250 (1977).

Adresse des Autors:

Dr. Konrad Grob
Kantonales Labor Zürich
Postfach
CH-8030 Zürich