

Kurze Mitteilungen

Maximalumfang: 6 Schreibmaschinenseiten (alles inbegriffen). Bis zum 15. des Monats bei der Redaktion eingehende Manuskripte können günstigenfalls am 15. des folgenden Monats veröffentlicht werden.

Trennung von Carotinen und Diterpenen mit Hochleistungsflüssigchromatographie*

Hanspeter Pfander**, Heidi Schurtenberger*** und Veronika R. Meyer

Institut für organische Chemie der Universität Bern

Abstract

HPLC-methods for the separation of α -, β -, γ -carotene and lycopene and for the separation of diterpenes are described.

1. Einleitung

Wegen der hohen Leistungsfähigkeit der Hochdruck-flüssigchromatographie (HPLC) ist diese Methode in letzter Zeit auch für die oft schwierige Trennung von Carotinoiden angewendet worden.

Im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen von Safrancarotinoiden waren wir in erster Linie an Methoden zur Trennung von Carotinoidkohlenwasserstoffen (Carotinen) und möglichen biogenetischen Vorläufern des Crocetins (Abb. 2) interessiert [1].

α -Carotin (β, ϵ -Carotin) und β -Carotin (β, β -Carotin) wurden erstmals von Stewart [2] an Magnesiumoxid mit Hexan/5 Vol-% tert. Pentanol getrennt. Später gelang ebenfalls die Trennung von ζ -Carotin (7,8,7',8'-Tetrahydro- ψ, ψ -carotin) und β -Carotin [3]. Lange [4] berichtete über die Trennung von β -Carotin und Lycopin (ψ, ψ -Carotin) unter reversed-phase-Bedingungen (Nucleosil 10 C₁₈, Aceton/Wasser). Fiksdahl et al. [5] untersuchten u. a. die Trennung von Carotinen an Silicagel, wobei acylische (Lycopin), monocyclische (γ -Carotin = β, ψ -Carotin) und bicyclische Carotine aufgetrennt werden konnten. Eine Trennung von α - und β -Carotin konnte unter den beschriebenen Bedingungen jedoch nicht erreicht werden. Kürzlich beschrieben Zakaria et al. [6] die Trennung von α -Carotin, β -Carotin und Lycopin an Partisil-5/ODS mit Chloroform/Acetonitril als mobile Phase.

2. Resultate und Diskussion

Auf Grund der in der Literatur erwähnten Erfahrungen untersuchten wir für die Trennung von Carotinen Trennsysteme, welche unter reversed-phase-Bedingungen arbeiten. Wie in Abb. 1 gezeigt ist, gelang die Trennung von Lycopin, γ -Carotin, α -Carotin und β -Carotin an einer Octadecylsilansäule, wobei als mobile Phase reines Acetonitril verwendet wurde. Bei einem Volumenstrom der mobilen Phase von 2 ml

min.⁻¹ konnte dabei eine Trenndauer von nur 10 min. erreicht werden. Die unpolare, inerte stationäre Phase garantiert dabei eine schonende Trennung; in den Elektronenspektren der aufgefängenen Fraktionen konnte keine cis-trans-Isomerisierung beobachtet werden.

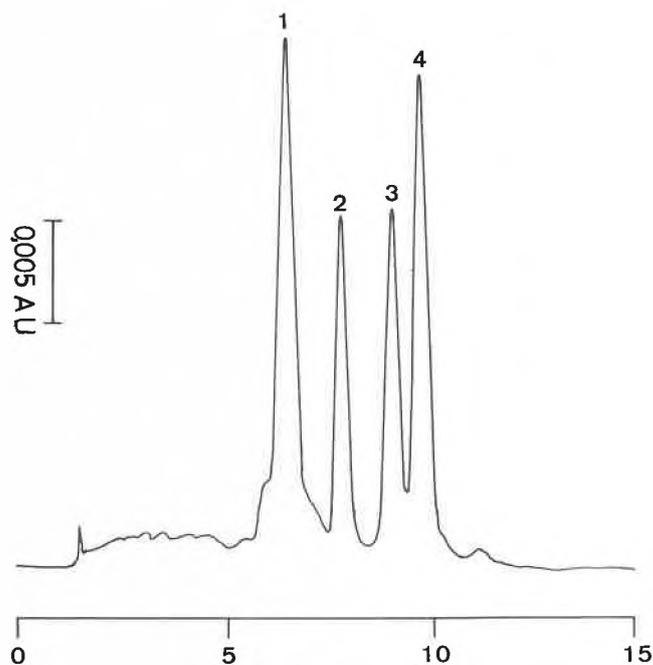


Abb. 1: Trennung von α -Carotin (3), β -Carotin (4), γ -Carotin (2) und Lycopin (1)

Stationäre Phase: Spherisorb ODS 5 μ m (Phase Sep); Säule: 25 cm \times 4,6 mm; mobile Phase: Acetonitril, 2 ml min.⁻¹, 80 bar; Detektion: VIS 440 nm.

Für die Trennung der in Abb. 2 gezeigten Diterpen-Kohlenwasserstoffe, welche leicht polarer als die beschriebenen Carotine sind, eignet sich das oben beschriebene Trennsystem nicht, da die vier Verbindungen ohne jegliche Trennung mit der Front eluiert werden. Polarere mobile Phasen konnten wegen der Unlöslichkeit der Kohlenwasserstoffe nicht eingesetzt werden.

Wie in Abb. 2 gezeigt ist, gelang jedoch die Trennung an einer Nitrilsäule, welche eine etwas höhere Polarität als die Octadecylsilan-Säule aufweist. Als mobile Phase wurde dabei n-Pentan angewendet, wobei bei einem

* Eingegangen am 8. Februar 1980. 1. Mitteilung über Trennung von Carotinoiden mit HPLC.

** Dr. H. Pfander, Institut für organische Chemie der Universität Bern, Freiestrasse 3, CH-3012 Bern

*** Teil der Dissertation H. Schurtenberger, Bern, 1980

Volumenstrom von 1 ml min.^{-1} eine extrem kurze Trenndauer von nur 3 Min. erreicht werden konnte. Da die vier Verbindungen Absorptionsmaxima zwischen 420 und 220 nm aufweisen, musste die Detektion mit einem stop-flow-System erfolgen. Die zwei ersten Komponenten wurden bei 230 nm detektiert. Nach ihrer Elution wurde die Pumpe abgeschaltet, ein Lampenwechsel vorgenommen und nach dem Abgleich der Nulllinie bei 375 nm die Pumpe wieder eingeschaltet.

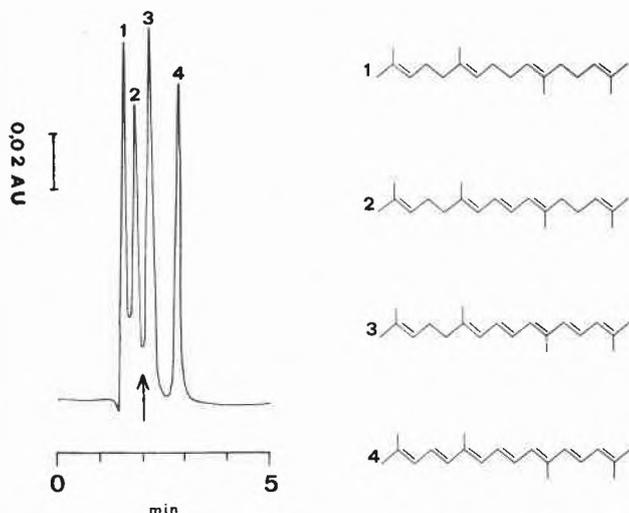


Abb. 2: Trennung von Diterpenen.

Stationäre Phase: Spherisorb Nitrile $5 \mu\text{m}$ (Phase Sep); Säule: $25 \text{ cm} \times 3,2 \text{ mm}$; mobile Phase: n-Pentan, 1 ml min.^{-1} , 25 bar; Detektion: 230 bzw. 375 nm, \uparrow = Lampenwechsel.

Eine ebenso gute Trennung des Vierkomponentensystems kann auf einer Silicagel-Säule erreicht werden (Abb. 3). Als mobile Phase wurde entwässertes n-Pentan mit 0,02% Acetonitril verwendet. Erwähnenswert ist dabei die Tatsache, dass die k' -Werte bei diesem Adsorptionssystem empfindlich abhängig von anwesenden Desaktivatoren (Acetonitril, Wasser) sind.

Die beschriebenen Trennsysteme zeichnen sich neben der Einfachheit vor allem durch die kurzen Trennzeiten aus. Die Systeme zur Trennung der C_{20} -Diterpene mit verschiedenem Sättigungsgrad dürften darüber hinaus auch für die Trennung der biosynthetischen Vorläufer der C_{40} -Carotine von Interesse sein.

Experimentelles und Apparatives

Die hier verwendeten Carotine sind synthetische Produkte, welche uns freundlicherweise von der Firma *F. Hoffmann-La Roche*

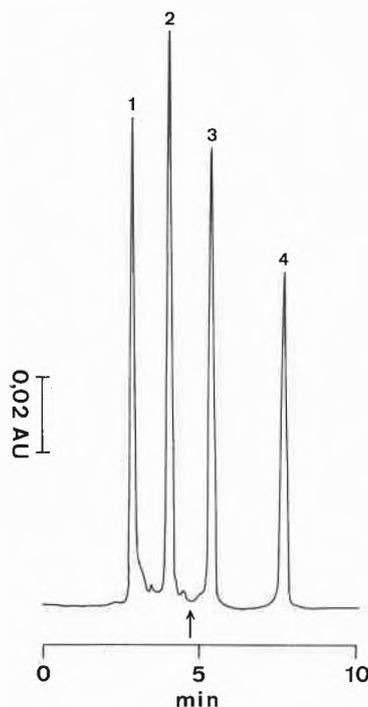


Abb. 3: Trennung von Diterpenen (zur Identifizierung der Komponenten siehe Abb. 2).

Stationäre Phase: LiChrosorb SI 60, $5 \mu\text{m}$ (Merck); Säule: $25 \text{ cm} \times 3,2 \text{ mm}$; mobile Phase: n-Pentan (wasserfrei) mit 0,02% Acetonitril, 1 ml min.^{-1} , 45 bar; Detektion: 230 resp. 375 nm.

+ Co. AG, Basel, zur Verfügung gestellt wurden. Die Diterpene wurden nach [1] dargestellt. Pumpe *Altex 110A*, Detektor *Uvikon LCD 725*. Mobile Phasen: Acetonitril zur Rückstandsanalyse, *Merck* Nr. 17; Pentan für die Spektroskopie, *Merck* Nr. 7179.

Dank

Wir danken der Firma *F. Hoffmann-La Roche + Co. AG*, Basel, und dem Schweizerischen Nationalfonds (Projekt Nr. 2.159-0.78) für die Unterstützung dieser Arbeit.

Literaturverzeichnis

- 1 *H. Schurtenberger*: Dissertation, Bern, 1980.
- 2 *I. Stewart* und *T. A. Wheaton*: *J. Chromatogr.* 55 (1971) 325.
- 3 *I. Stewart*: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 60 (1977) 132.
- 4 *K. Lange*: Dissertation, Erlangen-Nürnberg, 1976.
- 5 *A. Fiksdahl*, *J. T. Mortensen* und *S. Liaaen-Jensen*: *J. Chromatogr.* 157 (1978) 111.
- 6 *M. Zakaria*, *K. Simpson*, *P. R. Brown* und *A. Krstulovic*: *J. Chromatogr.* 176 (1979) 109.

Einsatz einer Mikrowaage zur Messung der Gassorption an Katalysatoren *

Beat Walker, Michael Dettmer, Albert Renken **

Ecole polytechnique fédérale, Lausanne.

Abstract

The use of microbalances to study gas-solid reactions at high temperatures and normal pressure is often limited by fluctuations due to thermal convection in the reaction zone. The observed fluctuations depend on the pressure, the type of gas, the temperature and the geometry of the arrangement. The problems have been overcome by distributing the gas on the circumference of the tube surrounding the specimen. The observed fluctuations under normal pressure (1,1 bar) and temperatures up to 200 °C were less than 0,5 μg .

Einleitung

Zur Aufklärung der Kinetik heterogen-katalytischer Reaktionen ist die Kenntnis des Adsorptions-Desorptionsverhaltens der Reaktionspartner an der Katalysatoroberfläche von grosser Bedeutung. Es wurde daher eine mikrogravimetrische Methode zur Untersuchung der Gassorption an Feststoffoberflächen entwickelt, die folgenden Anforderungen genügen sollte:

- Variable und hohe Gasdurchsätze, die Stofftransporthemmungen am Katalysatorkorn weitgehend ausschliessen.
- Einsatz auch korrosiver Gase im Temperaturbereich bis 200 °C und Druckbereich bis ca. 1,5 bar.
- Vernachlässigbare Grundschrwingungen der Mikrowaage im Vergleich zu den auftretenden Gewichts-differenzen.

Das Problem der durch Temperaturunterschiede auftretenden Schwingungen in der Mikrowaage ist bereits von verschiedenen Autoren aufgegriffen worden [vgl. 2-5]. Die Störungen konnten teilweise durch konstruktive Massnahmen vermindert werden. Bei höheren Drucken (über 250 mbar) traten bei grösseren Gasdurchsätzen jedoch Turbulenzen auf, die ein Messen mit genügender Genauigkeit verunmöglichten.

Konzeption der Mikrowaage

Das entwickelte Wägesystem sollte die oben aufgeführten Schwierigkeiten überwinden und den genannten Anforderungen genügen. Da hierzu das Gehängegehäuse und Gehänge selbst konstruiert werden musste, wurde eine Mikrowaage mit einem breiten Anwendungsspektrum eingesetzt (Fa. Mettler, Greifensee, Typ ME 21). Die Mikrowaage verfügt über eine elektrische Gewichtskompensation, Schalenbremse und ein thermostatisierbares Glasgehäuse mit Flanschen, das den Anbau eines Gehäuses eigener Konstruktion für das Gehänge leicht ermöglicht.

* Eingegangen am 8. Februar 1980.

** Dipl.-Chem.-Ing. B. Walker, Dipl.-Chem. M. Dettmer, Prof. A. Renken, Institut de génie chimique, Ecole polytechnique fédérale, CH-1015 Lausanne

Grundproblem bei der Konzeption des Gehäuses ist die Art der Zu- und Abführung der Sorptionsgase. In herkömmlichen mikrogravimetrischen Apparaturen, die kontinuierlich arbeiten, [1-5] wird das Gas von oben nach unten (selten umgekehrt) über das Gehänge geleitet. Aus dieser Anordnung ergeben sich folgende Nachteile:

- Bei grösseren Gasdurchsätzen ($\dot{V} > 0,1 \text{ l/min}$) wird das Gehänge in eine starke Grundschrwingung versetzt.
- Wird die Gehäusewand geheizt, nehmen die Turbulenzen und damit die Schwingungen stark zu. Zudem entsteht infolge der freien Konvektion eine starke Rückmischung. Experimente mit sprungartiger Änderung der Konzentration im Gasraum zeigen daher starkes Tailing in der Antwortfunktion.
- Steht die Waage unter einem Schutzgasstrom, wird das Sorptionsgas verdünnt.
- Das Gewicht ist von der Strömungsrichtung und der Strömungsgeschwindigkeit im Gehäuse abhängig.

Die genannten Probleme können nach einem Vorschlag von E. G. Schlosser [6] weitgehend gelöst werden, wenn die Sorptionsgase radialsymmetrisch zur Probe in den Wägeraum eingeführt werden, so dass sich die an dem zu messenden Objekt angreifenden Kräfte kompensieren (Abb. 1).

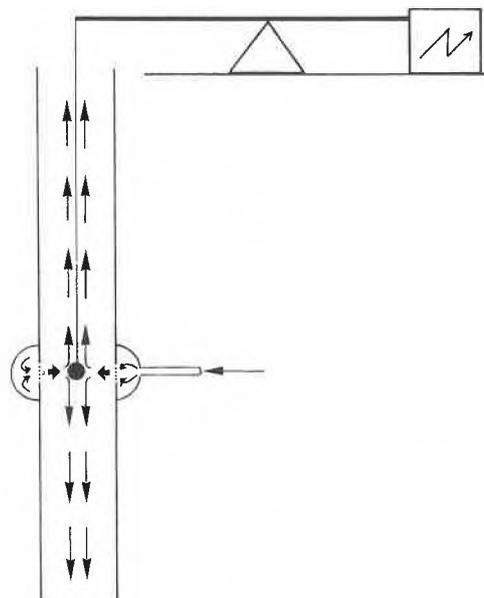


Abb. 1: Prinzipskizze der radialsymmetrischen Gaszuführung.

Mit dieser Anordnung wird die auftretende freie Konvektion durch eine gerichtete Strömung überlagert,

zudem kommt es auch bei grösseren Gasdurchsätzen nicht zu Schwingungen des Gehänges.

Ausgehend von dieser Idee wurden mit einem einfachen Glasgehäuse verschiedene radiale Gasverteiler untersucht.

Als Vergleichsmass wurde direkt die Amplitude der Schwingung des Gehänges genommen. Zur Auswahl standen:

- Ein Teflonrohr (Höhe 1 cm) mit einem Ring von 25 gebohrten Löchern mit einem \varnothing von je 0,5 mm.
- Ein Glasfaserrohr (Höhe 1 cm), Teil eines Whatmann-Filters.
- Ein gesintertes Teflonrohr (Höhe 1 cm) mit Porengrösse 25 μ .
- Ein Glasrohr, in das ca. 15 Löcher mit \varnothing 2,5 mm gebohrt und anschliessend verglühn wurden.

Alle Testrohre wiesen einen Innendurchmesser von 25 mm auf, der Zuführungsraum hatte ca. 45 mm Aussendurchmesser und 2 cm Höhe.

Die Messungen wurden bei Raumtemperatur mit einem konstanten Stickstoffstrom von 0,75 l/min. durchgeführt. Für die vier Varianten wurden folgende Amplituden gemessen:

- 0,14 mg
- 0,17 mg
- 0,08 mg
- 0,03 mg

Aufgrund dieser Messungen wurde bei der Konstruktion des Gehäuses eine Gasverteilung analog d) angewandt.

Eine gleichmässige Gasverteilung über dem Umfang des Rohres ergab keine Verbesserung des Schwingungsverhaltens, so dass die einfache Ausführung mit nur einem Zuführungsschlauch beibehalten wurde.

Beschreibung der Anlage

Beim Bau der Anlage musste zuerst darauf geachtet werden, dass keine Vibrationen eines Nebenaggregates, z. B. Thermostat, auf die Mikrowaage übertragen wurden. Aus diesem Grunde wurde eine Unterteilung in klar getrennte Anlagenteile vorgenommen. Die Mikrowaage selbst wurde an einem Betonpfeiler verschraubt, das Gehängegehäuse ruht in einem verstellbaren Stativ auf einem Wägetisch.

Abb. 2 zeigt ein Anlagenschema. Das Sorptionsgas tritt durch ein pneumatisch betätigtes 4-Weg-Ventil (6) in einen Wärmetauscher (5). Mit diesem 4-Weg-Ventil kann von Spülgas (z. B. Stickstoff) auf Sorptionsgas (z. B. Ethylen) ohne Störung der Waage umgeschaltet werden. Die Zuführung der Gase vom Wärmetauscher (5) zur Apparatur erfolgt mit einer beheizten Leitung. Die Gase treten dann mit Reaktionstemperatur auf den Festkörper (Katalysator) (3). Damit gleiche Gasvolumina auf- bzw. abströmen, lässt man die absteigenden Gase vor dem Austritt in einem beheizten Siphon wieder aufsteigen. Das Gehäuse oberhalb des Festkörpers und der abflanshbare Siphon werden mit einem Thermostaten ebenfalls auf Reaktionstemperatur geheizt.

Unmittelbar unterhalb der Gaszuführung sind zwei Stutzen für je ein Thermoelement und eine Mikrosonde, vorgesehen. Mit der Sonde kann kontinuierlich ein kleiner Gasstrom abgezogen werden, der kontinuierlich mit einem Massenspektrometer, bzw. diskontinuierlich mit einem Gaschromatographen analysiert wird. Das gesamte Gehängegehäuse ist durch Doppelmantel bzw. im Mittelteil durch Heizschläuche (Calorex, Fa. Heraeus, Hanau) thermostatisiert.

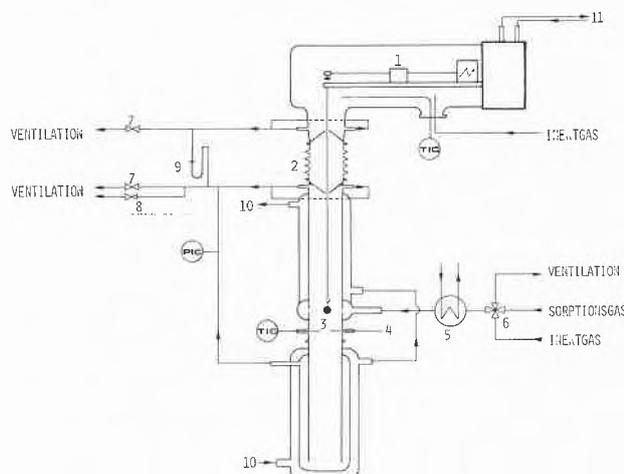


Abb. 2: Anlagenschema:

- Mikrowaage
- Flexible Rohrverbindung
- Festkörper
- Gasanalyse
- Sorptionsgas bzw. Inertgasheizung
- Pneumatisch betätigtes Vier-Weg-Ventil
- Regelventil
- Magnetventil zur Mikrowaageabsicherung
- Differenzdruckanzeige
- Thermostat (Reaktionstemperatur)
- Thermostat 22°C

Um ein symmetrisches Anströmen des Probekörpers zu ermöglichen, wurde das Gehängegehäuse in ein in der Höhe verstellbares Gestell montiert. Zwischen der fest montierten Waage und dem verschiebbaren Gehäuse wurde ein PTFE-Faltenbalg (2) angebracht. Ober- und unterhalb dieser flexiblen Rohrverbindung, d. h. vor den Austrittsstutzen der aufsteigenden Gase und vor den Austrittsstutzen des Schutzgases aus dem Wäagegehäuse wurden trichterförmige Schikanen eingebaut, die nur ein Loch mit ca. 3 mm \varnothing für das Gehänge offen lassen. Mit den Nadelventilen (7) wird der Volumenstrom des Schutzgases so geregelt, dass nur ein sehr kleiner Teil durch die flexible Rohrverbindung nach unten strömt. Dieser kleine Volumenstrom vermischt sich mit dem aufsteigenden Sorptionsgas kurz vor dem Austritt aus dem Gehäuse und kann so das Sorptionsgas im Reaktionsraum nicht verdünnen.

Diskussion

Um die Kinetik des Adsorptionsvorganges zu bestimmen, wird die Gewichtsänderung des Katalysators und

damit die Belegung mit dem Reaktanden als Funktion der Zeit nach einer sprunghaften Änderung der Gaszusammensetzung bestimmt. Die Erzeugung einer möglichst idealen Sprungfunktion ist daher Voraussetzung zur gravimetrischen Bestimmung der Adsorptionskinetik. Zur Ermittlung der Übertragungsfunktion des Gassystems, wurde mit einem Massenspektrometer die Antwortfunktion auf eine sprungartige Konzentrationsänderung aufgezeichnet. Mit dem pneumatischen 4-Weg-Ventil wurde zwischen einem Stickstoff- und einem Stickstoff/Äthylen-Strom umgeschaltet. Für verschiedene Äthylenkonzentrationen von 5–50% und verschiedene Gasdurchsätze von 0,3–1,5 l/min., wurde bei Normaltemperatur und 150°C der für Äthylen repräsentative Massenpeak 26 zeitlich aufgezeichnet. Je nach Durchflussgeschwindigkeit, weist das Gaszuführungssystem eine Totzeit von 9–15 s auf. Die gemessenen Antwortfunktionen zeigen, dass sich das Gaszuführungssystem (Gasverteiler, Probenraum), wie ein ideal vermischter Rührkessel verhält. Abhängig vom Gasdurchsatz werden 8,5–12 s benötigt, bis 90% des Konzentrationsendwertes im System erreicht wer-

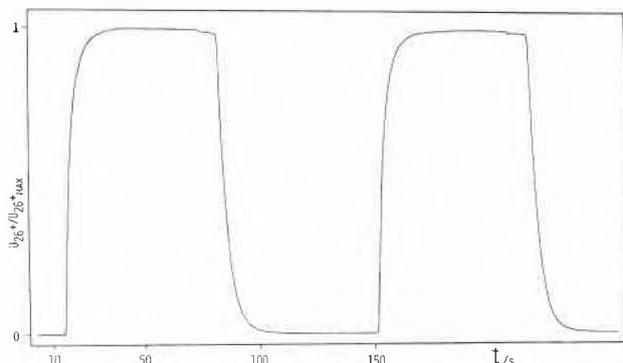


Abb. 3: Übertragungsverhalten der Gaszuführung bei sprunghafter Änderung der Eingangskonzentration.

den. Das Übergangsverhalten kann zweifellos durch Verringerung der Abmessungen weiter verbessert werden.

Die Gewichtsmessungen in der Waage zeigten in einem weiten Bereich eine ausserordentlich hohe Stabilität über mehrere Stunden. Für die Stabilitätsmessungen wurde ein kugelförmiger SiO_2 -Träger von 5 mm Durchmesser und ca. 100 mg Gewicht eingesetzt. Die innere Oberfläche der Probe beträgt ca. 120 m^2/g . Bei einem Stickstoffstrom zwischen 5 und 25 cm^3/s und 150°C beträgt die beobachtete Gewichtsschwankung $\Delta m = \pm 0,5 \mu\text{g}$. Ohne radialsymmetrische Gaszuführung steigen die Schwankungen dagegen auf über $\Delta m = \pm 4 \mu\text{g}$. Bei zu hohen Gasdurchsätzen nimmt die Stabilität ebenfalls ab. Der maximale Arbeitsbereich ist von der Gasart abhängig. In Abb. 4 ist ein typisches Messprotokoll des Schwingungspegels unter Reaktionsbedingungen mit und ohne Anströmung des Katalysatorkorns wiedergegeben.

Die erhaltenen Ergebnisse zeigen die universelle Anwendbarkeit der vorgestellten Anlage zur Bestimmung von Adsorptionskinetiken. Sie wird im weiteren zur dynamischen Messung von Sorptionsvorgängen bei der katalytischen Ethylacetat-Bildung und der Ethylenoxidation eingesetzt werden.

Referenzen

- 1 D. A. Cadenhead und N. J. Wagner: Microbalance in Adsorption and Catalysis, 223, Experimental Methods in Catalytic Research, Volume II, Academic Press, New York, San Francisco, London, 1976.
- 2 P. Barrett: Utilisation de la Thermogravimétrie en Cinétique Chimique, Prog. in Vacuum Microbalance Techn., 3 (1974) 205.
- 3 W. Kuhn, E. Robens, G. Sandstede und G. Walter: Methods for the Elimination of Weighing Troubles due to Convection in a Microbalance, Vacuum Microbalance Techn., 7 (1970) 161.

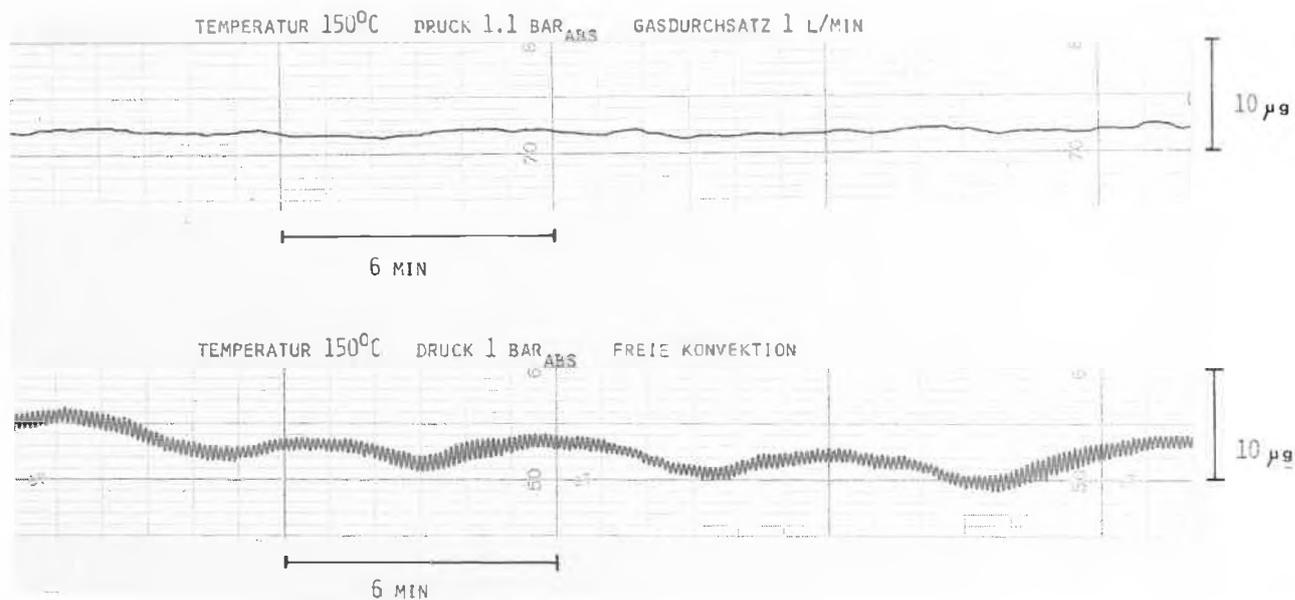


Abb. 4: Stabilitätsmessung

- 4 *H. Forster* und *V. Meyn*: Simultaneous Measurements of Adsorption and Reaction Rate by Means of a Modified Microbalance, *Prog. in Vacuum Microbalance Techn.*, 3 (1974) 370.
- 5 *M.G.C. Cox*, *B. McEnancy* und *V.D. Scott*: The Reduction of Noise in Microbalances due to Thermal Convection, *Prog. in Vacuum Microbalance Techn.*, 2 (1972) 27.
- 6 *E.G. Schlosser*: Hoechst AG, Frankfurt/Main, Persönliche Mitteilung.