

Trennung, Identifizierung und Bestimmung nichtionischer Tenside mittels Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie*

Hans König, Roland Ryschka und Werner Strobel

Analytische Laboratorien der Blendax-Werke R. Schneider GmbH & Co., Rheinallee 88, D-6500 Mainz, Bundesrepublik Deutschland

Separation, Identification and Determination of Non-Ionic Surfactants using High-Performance Liquid Chromatography

Summary. A method is described which allows the separation, identification and determination of mixtures of non-ionic surface active agents in one process. The separation of most of the ethoxylated non-ionics and of all fatty acid alkanol amides can be performed by HPLC using reversed phase silica columns and methanol/water (90:10 v/v) as liquid phase at about 170 bar with a flow rate of 1.5 ml/min. For the detection and the quantitative determination a differential refractometer is used. The detection limits are generally between 2 and 5 µg/ml, except for the partial esters of ethoxylated fatty acids which are about ten times lower. EO/PO-adducts can possibly be separated on columns of lower polarity with methanol as liquid phase.

Zusammenfassung. Eine Methode zur Auftrennung von Gemischen nichtionischer Tenside durch Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) an Umkehrphasen-Säulen wird beschrieben. Die meisten ethoxylierten nichtionischen Tenside und alle Fettsäurealkanolamide lassen sich auf Umkehrphasen-Säulen (RP 18) mit Methanol/Wasser (90:10 v/v) als flüssige Phase mit einer Fließrate von 1,5 ml/min bei ca. 170 bar trennen und mit einem Refraktionsdetektor quantitativ bestimmen. Die Nachweisgrenzen liegen im allgemeinen zwischen 2 und 5 µg/ml, nur bei den ethoxylierten Fettsäurepartialestern sind sie mit 20–50 µg/ml wesentlich niedriger. EO/PO-Addukte können gegebenenfalls auf Säulen mit geringerer Polarität (RP 8-Säulen) mit reinem Methanol abgetrennt werden.

Einleitung

Bei der Analyse kosmetischer oder pharmazeutischer Präparate werden zur Abtrennung von anorganischen ionischen Verbindungen oder von ionischen Tensiden Ionenaustauscher eingesetzt, in deren Effluat die nichtionischen Verbindungen im allgemeinen quantitativ erhalten werden [7]. Zur weiteren Auftrennung der nichtionischen Anteile wird zunächst am besten die Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) an Kieselgel-Säulen mit n-Hexan/Ethylacetat (93:7 v/v) als flüssige Phase eingesetzt, wobei Paraffinkohlenwasserstoffe, Fettsäurealkylester, Fettsäuretriglyceride und Fettalkohole voneinander und von in diesem Eluens

löslichen nichtionischen Tensiden getrennt werden [5, 6]. Die meisten nichtionischen Tenside, außer Fettsäurediethanolamiden und niedrig ethoxylierten EO-Addukten, sind jedoch in n-Hexan/Ethylacetat (93:7 v/v) nicht löslich und bleiben daher im Rückstand.

Mit der Auftrennung von Gemischen nichtionischer Tenside haben wir uns seit vielen Jahren beschäftigt. Mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie gelang, zumindest qualitativ, eine schon recht weitgehende Trennung an mit Oxalsäure imprägnierten Kieselgelschichten mit einem Fließmittelgemisch aus Chloroform und Methanol (9:1 v/v) [4]. Eine noch bessere, zudem quantitativ auswertbare Trennung konnte nun mittels HPLC erzielt werden.

Mit der Analyse nichtionischer Tenside mit Hilfe der HPLC haben sich in den letzten Jahren zahlreiche Autoren beschäftigt, auf deren Arbeiten hier nicht im einzelnen eingegangen zu werden braucht, da ein Übersichtsartikel über dieses Gebiet inzwischen von Garti u. Mitarb. [2] vorliegt. In den meisten Fällen wurden die Molekulargewichtsverteilung der Ethylenoxid-Addukte bestimmt oder nur einzelne nichtionische Tenside abgetrennt, nicht aber Gemische verschiedener Gruppen. Nur wenige Veröffentlichungen [9–11] beschäftigen sich mit einer Trennung, die nicht nach dem Ethoxylierungsgrad erfolgt, sondern nach den lipophilen Molekülgruppen, der grundlegenden Bedingung für eine erfolgreiche Trennung der nichtionischen Tenside nach Gruppen.

Experimenteller Teil

Für unsere Untersuchungen setzten wir die in Tabelle 1 aufgeführten nichtionischen Tenside ein, die in Anlehnung an eine bereits früher von uns [4, 8] aufgestellte Klassifizierung geordnet sind; neben der chemischen Bezeichnung sind die Handelsnamen und Hersteller aufgeführt. Zu Vergleichszwecken wurden außerdem die homologen Reihen der reinen Fettsäuren und Fettalkohole (bezogen von der Fa. Henkel) sowie Octyl- und Nonylphenol (Fa. Hüls) eingesetzt, ebenso Polyethylenglykole verschiedener Molekulargewichte (Fa. Hoechst).

Versuche, die dünnenschicht-chromatographischen Arbeitsbedingungen [4] direkt auf die Flüssigkeits-Chromatographie zu übertragen, verliefen ohne Erfolg. Hingegen brachte der Einsatz von Umkehrphasen (z.B. LiChrosorb RP-18, Merck, oder Nucleosil C₁₈, Macherey & Nagel) mit verschiedenen flüssigen Phasen gute Trennergebnisse. Wir stellten fest, daß sich am besten Methanol/Wasser-Mischungen eignen, die zur Abtrennung von Polyethylenglykolen aus EO-Addukt-Gemischen z.B. von Coupkova u. Mitarb. [1] wie auch von Henke [3] beschrieben worden sind. Als

* Herrn Prof. Dr. Rudolf Bock zum 70. Geburtstag in dankbarer Verbundenheit

Tabelle 1. Untersuchte nichtionische Tenside

Gruppen-Nr.	Handelsname	Chem. Bezeichnung	Hersteller
I.1	Glykoldistearat	Glykolmono- und -distearat	Goldschmidt
2	Monomuls 90-L 12	Glycerinmonolaurat	Grünau
	Empilan GMS/NSE 40	Glycerinmonostearat	Marchon
3	Arlacel-Typen	Sorbitanmonofettsäureester	Atlas
4	Saccharosemonostearat	Saccharosemonostearat	Donal
II.1	Comperlan KD	Kokosfettsäurediethanolamid	Henkel
	Comperlan OD	Ölsäurediethanolamid	Henkel
	Comperlan F	Linolsäurediethanolamid	Henkel
2	Comperlan 100	Kokosfettsäuremonoethanolamid	Henkel
3	Comperlan LP	Laurinsäuremonoisopropanolamid	Henkel
III.A.1	Tagat O	Polyoxyethylenglycerinmonooleat	Goldschmidt
	Cutina E 24	Polyoxyethylenglycerinmonopalmitat/-stearat	Henkel
	Tagat S	Polyoxyethylenglycerinmonostearat	Goldschmidt
	Cetiol HE	Polyoxyethylenglycerinmonokokosfettsäureester	Henkel
2	Tween 20	Polyoxyethylensorbitanmonolaurat	Atlas
	Tween 60	Polyoxyethylensorbitanmonostearat	Atlas
	Tween 80	Polyoxyethylensorbitanmonooleat	Atlas
B	Deplastol	Laurin-/Myristinsäurepolyglykolester	Henkel
	Eumulgin ST 8	Stearinsäurepolyglykolester	Henkel
C	Dehydol LT 7	Fettalkohole C ₁₂ –C ₁₈ mit 7 Mol EO	Henkel
	Dehydol LS 2	Laurylalkohol mit 2 Mol EO	Henkel
	Genapol S 100	Stearylalkohol mit 10 Mol EO	Hoechst
	Eumulgin B 1	Cetylstearylalkohol mit 12 Mol EO	Henkel
	Eumulgin B 2	Cetylstearylalkohol mit 20 Mol EO	Henkel
	Eumulgin 010	Oleyl-/Cetylalkohol mit 10 Mol EO	Henkel
D	Arkopal-Typen	Nonylphenolpolyglykolether	Hoechst
	Stockolan NS 9	Nonylphenol mit 9 Mol EO	Stockhausen
E	Pluronic-Typen	Ethoxylierte Polypropylenglykole	Wyandotte
F	Eumulgin C 4	Kokosfettsäuremonoethanolamid mit 4 Mol EO	Henkel
	Dionil OC	Ölsäureamid mit 4 Mol EO	Hüls
G.1	Tetronic 704	EO/PO-Addukt an Ethylendiamin	Wyandotte
2	Genamin S 100	Stearylaminooxethylat mit 10 Mol EO	Hoechst
	Genamin S 250	Stearylaminooxethylat mit 25 Mol EO	Hoechst

Tabelle 2. Retentionszeiten und k' -Werte der nichtionischen Tenside

Tensidgruppe	Verbindung	RT (min)	k'	Nachweisgrenze (µg/ml)
Fettsäure-alkanolamide (Gruppe II)	Caprylsäurediethanolamid	2,0	0,17	ca. 3
	Caprinsäurediethanolamid	2,3	0,34	ca. 3
	Laurinsäurediethanolamid	2,7	0,62	ca. 3
	Laurinsäuremonoethanolamid	2,8	0,70	ca. 3
	Laurinsäuremonoisopropanolamid	2,9	0,75	ca. 3
	Myristinsäurediethanolamid	3,5	1,08	ca. 3
	Myristinsäuremonoethanolamid	3,6	1,22	ca. 3
	Myristinsäuremonoisopropanolamid	3,8	1,31	ca. 3

Tabelle 2. Fortsetzung

Tensidgruppe	Verbindung	RT (min)	k'	Nachweisgrenze (µg/ml)
Fettsäure-alkanolamide (Gruppe II)	Palmitinsäurediethanolamid	4,7	1,86	ca. 3
	Palmitinsäuremonoethanolamid	5,0	2,09	ca. 3
	Palmitinsäuremonoisopropanolamid	5,3	2,23	ca. 3
	Stearinsäurediethanolamid	6,9	3,16	ca. 3
	Stearinsäuremonoethanolamid	7,5	3,53	ca. 3
	Stearinsäuremonoisopropanolamid	7,9	3,76	ca. 3
	Ölsäurediethanolamid	5,0	2,01	ca. 3
	Linolsäurediethanolamid	3,6	1,43	ca. 3

Tabelle 2. Fortsetzung

Tensidgruppe	Verbindung	RT (min)	k'	Nachweisgrenze ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Ethoxylierte Fettsäurepartialester des Glycerins (Gruppe III.A.1)	Polyoxyethylen-glycerinmono-laurat	3,1	0,86	50
	Polyoxyethylen-glycerinmono-myristat	4,2	1,51	50
	Polyoxyethylen-glycerinmono-palmitat	5,8	2,39	50
	Polyoxyethylen-glycerinmono-stearat	8,3	3,98	50
	Polyoxyethylen-glycerinmonooleat	6,1	2,57	50
Ethoxylierte Fettsäurepartialester von Anhydrosorbiten (Gruppe III.A.2)	Polyoxyethylen-sorbitanomonolaurat	3,0	0,83	20
	Polyoxyethylen-sorbitanmonomyristat	3,4	1,04	20
	Polyoxyethylen-sorbitanmonostearat	5,5	2,27	20
Fettsäuren und Fettsäurepolyglykolester (Gruppe III.B)	Caprylsäure	2,0	0,26	ca. 10
	Caprylsäurepolyglykolester	2,1	0,31	ca. 10
	Caprinsäure	2,5	0,51	ca. 10
	Caprinsäurepolyglykolester	2,6	0,55	ca. 10
	Laurinsäure	3,0	0,96	ca. 10
	Laurinsäurepolyglykolester	3,6	1,15	ca. 10
	Myristinsäure	4,3	1,62	ca. 10
	Myristinsäurepolyglykolester	5,0	1,96	ca. 10
	Palmitinsäure	6,1	2,67	ca. 10
	Palmitinsäurepolyglykolester	7,0	3,22	ca. 10
	Stearinsäure	9,1	4,47	ca. 10
	Stearinsäurepolyglykolester	10,6	5,38	ca. 10
	Ölsäure	5,1	2,03	ca. 10
Ölsäurepolyglykolester	6,3	2,90	ca. 10	
Polyethylen-glykole, Alkanole und Alkanolpolyglykolether (Gruppe III.C)	Polyethylen-glykole	1,7	0,03	ca. 3
	Octanol	2,5	0,48	ca. 3
	Octylalkoholpolyglykolether	2,6	0,56	ca. 3
	Decanol	3,1	0,85	ca. 3
	Decylalkoholpolyglykolether	3,3	0,97	ca. 3
	Laurylalkohol	4,1	1,46	ca. 3
	Laurylalkoholpolyglykolether	4,3	1,71	ca. 3

Tabelle 2. Fortsetzung

Tensidgruppe	Verbindung	RT (min)	k'	Nachweisgrenze ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
	Myristylalkohol	6,0	2,54	ca. 3	
	Myristylalkoholpolyglykolether	6,4	2,87	ca. 3	
	Palmitylalkohol	8,9	4,34	ca. 3	
	Palmitylalkoholpolyglykolether	9,2	4,58	ca. 3	
	Stearylalkohol	13,2	7,38	ca. 3	
	Stearylalkoholpolyglykolether	14,2	7,61	ca. 3	
	Oleylalkohol	8,8	4,31	ca. 3	
	Oleylalkoholpolyglykolether	9,3	4,60	ca. 3	
	Alkylphenole und Alkylphenolpolyglykolether (Gruppe III.D)	Octylphenol	3,1	0,88	2
		Octylphenolpolyglykolether	3,6	1,19	2
Nonylphenol		3,4	1,11	2	
Ethoxylierte Fettsäureamide (Gruppe III.F)	Nonylphenolpolyglykolether	3,7	1,23	2	
	Laurinsäureamidpolyglykolether	3,4	1,20	5	
	Myristinsäureamidpolyglykolether	4,05	1,43	5	
	Palmitinsäureamidpolyglykolether	4,5	1,67	5	
	Ölsäureamidpolyglykolether	5,60	2,31	5	
Stearinsäureamidpolyglykolether	6,75	3,19	5		

günstigste Zusammensetzung der flüssigen Phase erwies sich ein Gemisch von Methanol:Wasser = 90:10 (v/v).

Wir arbeiteten mit einem Gerät, das aus Bausteinen der Fa. Knauer zusammengesetzt war: HPLC-Pumpe Typ 64.00, Spektralphotometer 87.00 und Differential-Refraktometer 98.00 mit 250×4 mm Fertigsäulen, gefüllt mit Nucleosil 7 C₁₈ der Fa. Macherey & Nagel. Zum Schutz der Säulen waren 30 mm Vorsäulen mit der gleichen stationären Phase eingesetzt. Zur Aufzeichnung und Auswertung der Chromatogramme war der Rechner-Integrator Chromatopac C-R 2 A (X) der Fa. Shimadzu Corp. mit dem Zusatzgerät INP-R 2 A für 2-Kanalbetrieb angeschlossen. Die flüssige Phase wurde mit einer Fließrate von 1,5 ml/min bei einem Säulenvordruck von ca. 170 bar bei Raumtemperatur eingesetzt, für die verwendeten Säulen optimale Arbeitsbedingungen.

Mit Methanol/Wasser (90:10) lassen sich die Fettsäurealkanolamide (Gruppe II) und fast alle Tenside der Gruppe III (EO-Addukte) so weit auftrennen, daß eine Identifizierung der eingesetzten Verbindungen auf Grund der Retentionsdaten möglich ist, wie aus den Retentionszeiten bzw. den daraus errechneten Kapazitätsfaktoren oder k' -Werten zu ersehen ist. In Tabelle 2 sind die Retentionszeiten

Tabelle 3. Retentionsdaten für einige Alkylphenolpolyglykoether

	RT (min)	k'
Nonylphenolpolyglykoether mit 6 Mol EO (Arkopal N 60)	3,60	1,21
Nonylphenolpolyglykoether mit 9 Mol EO (Stockolan NS 9)	3,60	1,21
Nonylphenolpolyglykoether mit 11 Mol EO (Arkopal N 110)	3,61	1,22
Nonylphenolpolyglykoether mit 13 Mol EO (Arkopal N 130)	3,61	1,22
Nonylphenolpolyglykoether mit 23 Mol EO (Arkopal N 230)	3,60	1,21
Nonylphenolpolyglykoether mit 30 Mol EO (Arkopal N 300)	3,56	1,20

und die k' -Werte der nichtionischen Tenside zusammengestellt. Da die Handelsprodukte keine einheitlichen chemischen Verbindungen sind, sondern neben Homologen und Isomeren auch Komponenten der Ausgangsverbindungen und Nebenprodukte enthalten können, sind in der Tabelle 2 neben den Werten der untersuchten Tenside auch die für die zugrundeliegenden Fettsäuren sowie Fettalkohole bzw. Alkylphenole gefundenen Retentionsdaten aufgeführt, ebenso die Werte für freie Polyethylenglykole. Gleichzeitig sind die Erfassungsgrenzen angegeben.

Von besonderer Bedeutung ist bei dieser Methode, daß keine Trennung der Verbindungen nach dem Ethoxylierungsgrad erfolgt, die zur Ermittlung der Gruppenzugehörigkeit der zu analysierenden Verbindungen unerwünscht ist. Den Beweis liefern die Retentionsdaten für einige niedrig und hoch ethoxylierte Alkylphenolpolyglykoether in Tabelle 3, deren Kapazitätsfaktoren innerhalb des Fehlerbereiches liegen.

Unlöslich in dem angewandten Eluens sind die Fettsäurepartialester mehrwertiger Alkohole (Gruppen I.1–I.3), die durch Zentrifugieren von den anderen in Methanol/Wasser (90:10) löslichen nichtionischen Tensiden abgetrennt werden können. In den meisten Fällen verbleiben sie bereits im Rückstand des Alkoholextrakt vor der Ionenaustauschertrennung. Sind Fettsäurepartialester von Anhydrosorbiten oder Zuckern in den nichtionischen Anteilen der Ionenaustauschertrennung enthalten, so werden sie auf alle Fälle bei der Trennung mit n-Hexan/Ethylacetat (93:7) an Kieselgelsäulen im unlöslichen Rückstand des Lösungsmittelgemisches verbleiben.

Nicht oder nur mit sehr geringer Empfindlichkeit erfaßt werden bei der Trennung mit Methanol/Wasser (90:10) die ethoxylierten Polypropylenglykole (Gruppe III.E), die EO/PO-Addukte von Diaminen und die ethoxylierten Fettamine (Gruppe III.G.1 und 2). Diese Verbindungen sind zwar in der Methanol/Wasser-Mischung (90:10) gut löslich; sie werden aber vom Refraktionsdetektor nicht angezeigt, weil sich offenbar die Brechungsindices ihrer Lösungen vom eingesetzten Eluens nicht genügend unterscheiden. Besteht daher der Verdacht auf Vorliegen einer oder mehrerer Verbindungen dieser Gruppen, muß zusätzlich eine andere flüssige Phase eingesetzt werden. Nach unseren Untersuchungen eignet sich am besten reines Methanol zur Detektion von EO/PO-Addukten mit Differential-Refraktometer. Setzt man dabei RP 8-Säulen ein und arbeitet mit verminderter Durchflußgeschwindigkeit von 0,8 ml/min, so las-

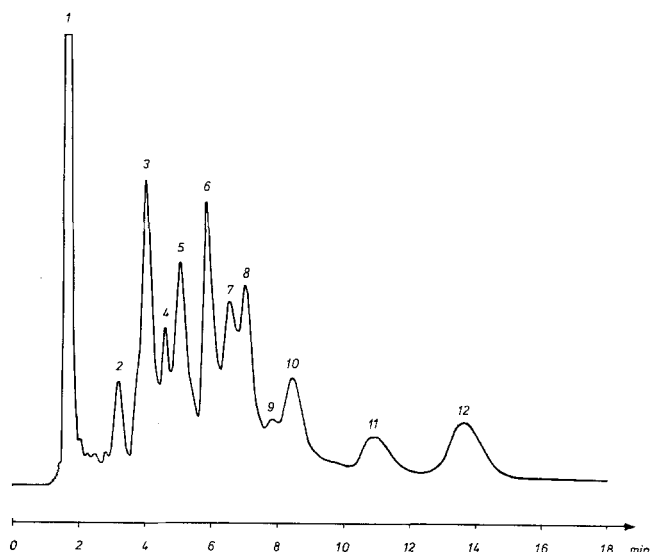


Abb. 1. Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatogramm eines Tensidgemisches

Peak Nr.	Chemische Bezeichnung	Handelsname
1	Polyethylenglykole	Polyglykol-Typen
2	Polyoxyethylensorbitanmonolaurat	Tween 20
3	Nonylphenolpolyglykoether	Stockolan NS 9
4	Laurylalkohol	Dehydol LS 2
5	Laurylalkoholpolyglykoether	
6	Ölsäurediethanolamid	Comperlan OD
7	Ölsäureamidpolyglykoether	Dionil OC
8	Myristylalkohol	Dehydol LS 2
9	Myristylalkoholpolyglykoether	
10	Palmitinsäurepolyglykolester	Eumulgin ST 8
11	Polyoxyethylenglycerinmonostearat	Tagat S
12	Stearinsäurepolyglykolester	Eumulgin ST 8

sen sich ethoxylierte Polypropylenglykole von den meisten anderen EO-Addukten abtrennen. Allerdings kann dabei eine Trennung nach dem Ethoxylierungsgrad auftreten. Die Abtrennung der EO/PO-Addukte von Alkylendiaminen und der ethoxylierten Fettamine von allen anderen nichtionischen Tensiden läßt sich am sichersten dünn-schicht-chromatographisch auf mit Oxalsäure imprägnierter Kieselgelschicht mit Chloroform/Methanol (9:1) als Fließmittel [4] ausführen.

Um die Leistungsfähigkeit der Methode zu zeigen, ist in Abb. 1 das Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatogramm einer Mischung von 7 Handelsprodukten nichtionischer Tenside der verschiedensten Gruppen wiedergegeben. Obwohl das Chromatogramm wegen des Vorliegens homologer Verbindungen mehr Peaks als eingesetzte Substanzen enthält, läßt sich eine Identifizierung anhand der Retentionsdaten gut durchführen.

Da die Trennungen bei Raumtemperatur unter isokratischen Bedingungen erfolgen, kann zur Anzeige ein Refraktionsdetektor eingesetzt werden, mit dem auch die quantitative Bestimmung der getrennten Verbindungen

mit Hilfe von Eichlösungen, welche den erwarteten Konzentrationsverhältnissen möglichst entsprechen sollten, durchgeführt werden kann. Da die Methode des externen Standards sehr empfindlich auf Dosierungsschwankungen reagiert, empfiehlt es sich, einen internen Standard als weitere Komponente hinzuzufügen. Es hat sich gezeigt, daß die molaren Brechungskoeffizienten von homologen Verbindungen sich nicht sehr unterscheiden, so daß geringere Variationen im Ethoxyierungsgrad oder in den Kettenlängen der Alkylgruppen bei der quantitativen Bestimmung nicht störend ins Gewicht fallen, wenn nicht exakt gleiche Eichsubstanzen zur Verfügung stehen.

Literatur

1. Čoupkova M, Janeš K, Sanitrák J, Čoupek J (1978) *J Chromatogr* 160:73–80
2. Gati N, Kaufman VR, Aserin A (1983) *Sep Purif Methods* 12:49–116
3. Henke H (1978) *Tenside Deterg* 15:193–195
4. König H (1970) *Fresenius Z Anal Chem* 251:167–171
5. König H, Ryschka R (1983) *Fresenius Z Anal Chem* 315:434–437
6. König H (1984) *Fette Seifen Anstrichm* 86:37–41
7. König H (1983) *Zur Analyse kosmetischer Präparate*. In: Bock R, Fresenius W, Günzler H, Huber W, Tölg G (Hrsg) *Analytiker Taschenbuch*, Bd 3. Springer, Berlin Heidelberg New York, S 213–228
8. König H (1984) *Zur Analyse kosmetischer Präparate – Teil II*. In: Fresenius W, Günzler H, Huber W, Lüderwald I, Tölg G (Hrsg) *Analytiker Taschenbuch*, Bd 4. Springer, Berlin Heidelberg New York, S. 384–386
9. Kudoh M (1984) *J Chromatogr* 291:327–330
10. Ohtsuki A, Shiraiski H (1979) *Anal Chem* 51:2329
11. Thomas D, Rocca JL (1979) *Analysis* 7:386

Eingegangen am 18. Januar 1985