

secrets of science

magazine

02/2023



Saubere Leistung: Zeitersparnis durch ultraschnelle LC-Vorbereitung

So extrahiert und reinigt Syngenta Nebenprodukte im Grammbereich

Beschleunigung der Entwicklung von Elektro-Hypercars

Rimac Technology kontrolliert Simulationsdaten mit dem Autographen AGS-X von Shimadzu

Mit Licht gegen Krebs

Neue Ansätze in der photodynamischen Therapie



Saubere Leistung: Zeitersparnis durch ultraschnelle LC-Vorbereitung
 Wie Syngenta mit UFPLC Nebenprodukte im Grammbereich für vorgeschriebene Tests extrahiert und reinigt **Seite 22**

Die fünf Kategorien in der „Secrets of Science“

SWITCH ON

Erfahren Sie mehr über unsere Produkte und Applikationen sowie aktuelle Themen.

MOVE ON

Wir begeben uns auf Neuland: neue Anwendungen und Einsatzgebiete unserer Systeme und neue Konfigurationen für Applikationen.

ON SHOW

Shimadzu vor Ort: Berichte zu Events, Ausstellungen und Seminaren.

VOICES

Hier kommen unsere Kunden zu Wort in Interviews, Gastbeiträgen und Kommentaren.

HANDS-ON

Servicethemen sowie Tipps und Tricks zu unseren Geräten (Funktionen, Wartung etc.).



Beschleunigung der Entwicklung von Elektro-Hypercars

Rimac Technology kontrolliert Simulationsdaten mit dem Autographen AGS-X von Shimadzu

Spurensuche: Mineralöl in Lebensmitteln

Forschungsprojekt entwickelt Nachweismethode für DNA-reaktive Mineralölfractionen



Sie machen den Unterschied – probieren Sie es aus.
Setzen Sie Ihre wissenschaftlichen Fähigkeiten dort ein, wo es darauf ankommt.

www.shimadzu.eu/career

Newsletter
Aktuelle Nachrichten von Shimadzu direkt in Ihr Postfach mit den Shimadzu Europa Updates.



Jetzt registrieren!



Ein integrierter Ansatz für medizinische Gase

Verbesserte UV-Spektroskopie zur Analyse medizinischer Stickstoffmonoxidmischungen

14



Mit Licht gegen Krebs

Neue Ansätze in der photodynamischen Therapie

18



Plastik in Eissturmvögeln

Sektion, Magenanalyse und die Plastikidentifikation mit Infrarotspektroskopie

28



Schnellere und automatisierte Analyse von Aromaverbindungen in Kosmetika

Digitale Präzision der Smart Aroma Database vereinfacht bislang komplexe Aufgabe

32



Nährwertbestimmung und Betrugserkennung

Durch den kombinierten Einsatz von GC-2030 und GCMSQP2020NX lassen sich bei der Analyse von Speiseölen mehr Informationen erfassen

37

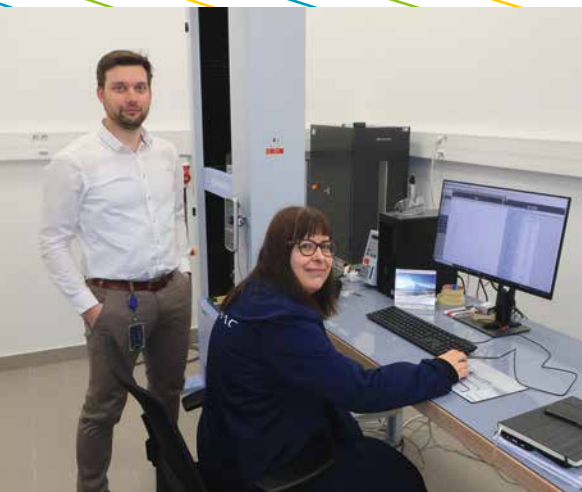


Veranstaltungen

44

Beschleunigung der Entwicklung von Elektro-Hypercars

Rimac Technology kontrolliert Simulationsdaten mit dem Autographen AGS-X von Shimadzu



Gordana Ribarić, Dr. Primož Štefane, Rimac Technology

Rimac Technology entwickelt und produziert hochwertige Komponenten für Elektro-Hypercars. Das Unternehmen mit Sitz im kroatischen Zagreb ist bekannt für die Konzeption, Entwicklung und Produktion von Hochleistungs-batteriesystemen, elektrischen Antriebseinheiten, elektronischen Systemen und Komponenten für Benutzerschnittstellen. Um sich in diesem äußerst wettbewerbsintensiven Bereich noch besser aufzustellen, investierte Rimac kürzlich in modernste Materialprüfmaschinen von Shimadzu. Zwei Experten des Unternehmens erläutern uns die Gründe dafür.

Abbildung 1: Simulationstechniker Gordana Ribarić und Primož Štefane





Spitzenreiter

Hypercars sind die weltweit leistungsstärksten Sportwagen für Verbraucher. Seit einigen Jahren werden diese außergewöhnlichen Fahrzeuge zunehmend elektrisch angetrieben. In dieser hart umkämpften Marktnische streben zahlreiche Unternehmen kontinuierlich nach noch mehr Leistung, indem sie die Grenzen des Möglichen ausreizen.

Eine dieser dynamischen Firmen ist Rimac Technology, die Elektro-Hypercars konzipiert, entwickelt und produziert.

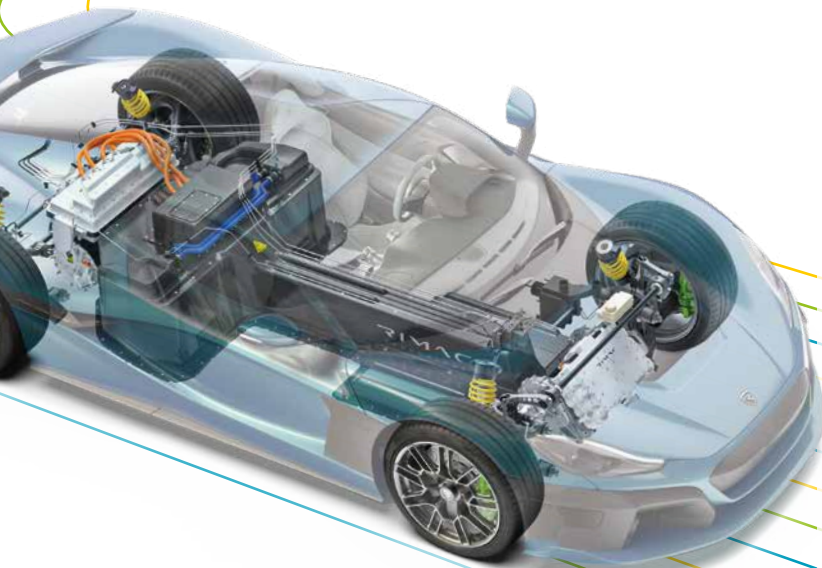
Der Zeit immer einen Schritt voraus

Im Zuge des Wachstums von Rimac Technology nahm auch der Wunsch des Unternehmens zu, das Potenzial der Prüfung mechanischer Eigenschaften für Forschung und Entwicklung besser auszuschöpfen.

Nach gründlicher Recherche entschied sich das Unternehmen für den Kauf einer Universalprüfmaschine von Shimadzu. Gordana Ribarić und Primož Štefane, Simulationstechniker bei Rimac Technology, erläutern die Gründe dafür:

Wie sind Sie auf Shimadzu aufmerksam geworden?

Shimadzu ist weithin bekannt für seine innovativen Produkte. Viele Einrichtungen in Kroatien nutzen Systeme von Shimadzu. →



Aus welchen Gründen haben Sie sich für Shimadzu entschieden? Nach eingehender Abwägung mehrerer Optionen haben wir uns für den Autographen AGS-X 100kN von Shimadzu entschieden, der uns hochpräzise Messergebnisse zu einem angemessenen Preis liefert.

Wie setzen Sie die Maschine ein? Mit der Universalprüfmaschine testen wir Materialien und Komponenten für unsere Automobilbauteile. Wir müssen die mechanischen Eigenschaften eines jeden Materials präzise messen, da die Genauigkeit der Simulationsergebnisse von der Genauigkeit der Eingabedaten abhängt.

Einfach und sicher

Der ursprüngliche Zweck der AGS-X 100kN war die Qualitätskontrolle, inzwischen nutzen sie jedoch immer mehr Unternehmen für aufwendige F&E-Anwendungen. Mit der AGS-X 100kN haben Anwender die volle Kontrolle über alle Prüfparameter und können jederzeit beliebig viele Tests durchführen. Gordana Ribarić und Primož Štefane erzählen uns mehr:

Welche Merkmale der Maschine halten Sie für besonders nützlich? Besonders hilfreich ist, dass wir mit der Software Trapezium X unsere eigenen Methoden zum Prüfen von Materialien und Komponenten erstellen können.

Entspricht die AGS-X 100kN Ihren Erwartungen? Ja. Für uns ist am wichtigsten, dass wir mit der Maschine individuelle Methoden für die Prüfung von Materialien entwickeln können. Außerdem sind wir sehr zufrieden mit dem generell hohen Sicherheitsniveau für die Maschinenbediener. Es gibt mehrere Schutzstufen.

War es leicht, die Handhabung der neuen Maschine zu erlernen?

Die AGS-X 100kN ist ebenso wie die dazugehörige Software Trapezium X sehr intuitiv zu bedienen. Zudem stehen uns die Anwendungstechniker von Shimadzu jederzeit mit Rat und Tat zur Seite.

Abbildung 2: Simulationstechniker von Rimac Technology arbeiten an einer Prüfmaschine von Shimadzu

Abbildung 3: Arbeit an der AGS-X 100kN

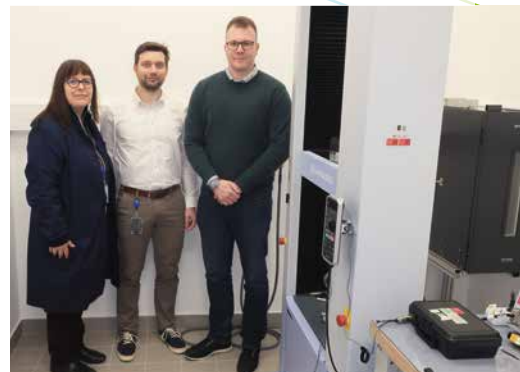


Abbildung 4: Simulationstechniker von Rimac Technology mit Shimadzu Vertreter Matej Tkalčič

Erfolg als Ziel

Der Support durch kompetente Fachleute war ein weiterer Grund, warum sich Rimac Technology für Shimadzu entschied. Selbst bei der besten Hard- und Software ist gelegentlich fachkundige Unterstützung erforderlich. Shimadzu bietet Rimac diese über ein hervorragend ausgebautes Supportnetzwerk in Kroatien. Gordana Ribarić und Primož Štefane äußern sich dazu wie folgt:

Sind Sie mit dem Support, den Sie von Shimadzu erhalten, zufrieden? Wir sind äußerst zufrieden mit dem Service und der Unterstützung des Teams von Shimadzu. Es geht auf unsere Bedürfnisse ein und reagiert schnell auf unsere Anforderungen.

Wie zufrieden sind Sie mit der Zuverlässigkeit und Langlebigkeit der AGS-X 100kN? Wir sind mit der Zuverlässigkeit und Langlebigkeit der Maschine äußerst zufrieden.

Wie würden Sie den Einfluss von Shimadzu auf Ihren F&E-Prozess beschreiben? Unsere neue Universalprüfmaschine hatte einen überaus wichtigen und positiven Effekt. Mit ihr konnten wir den Prozess der Prüfung von Materialien und Klebe- und Schweißverbindungen beschleunigen. Sie hilft uns bei der Optimierung der Prozessparameter in der Verbindungs- und Schweißtechnik sowie bei der Auswahl der richtigen Materialien für unsere Anforderungen.

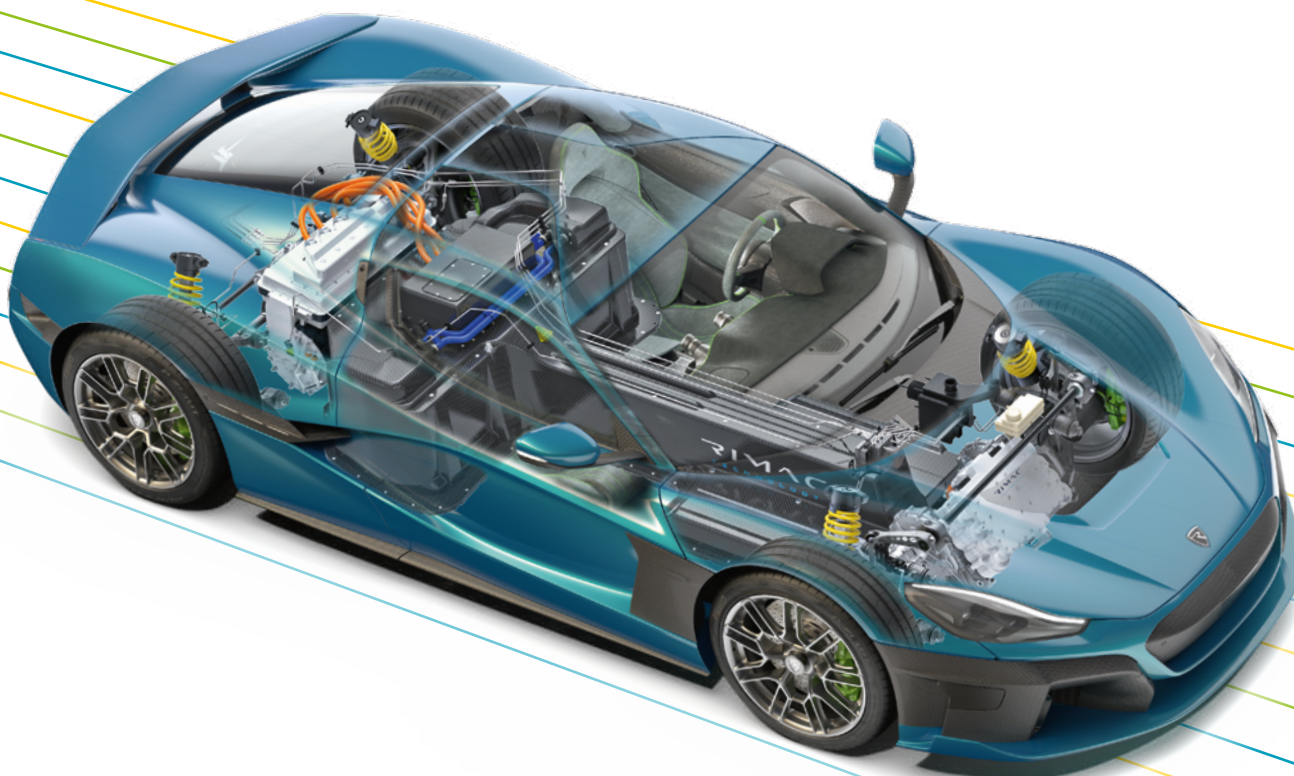
Dieser Erfolg hat auch Auswirkungen auf die ökologische Nachhaltigkeit. Die mit der AGS-X 100kN von Shimadzu gewonnenen Daten verhelfen Gordana Ribarić, Primož Štefane und ihren Kollegen zu besseren Simulationen. Dadurch können sie und Rimac Technology leichtere und stärkere Automobilkomponenten für Elektrofahrzeuge entwickeln.

Nachhaltig und zufrieden

Rimac Technology ist Lieferant von umfassenden Technologielösungen für OEMs (Original Equipment Manufacturer) weltweit – von Batterie- und Fahrzeugsystemen bis hin zu Torque Vectoring, e-AXLES, fortschrittlichen Fahrerassistenzsystemen, Infotainment, Konnektivität und UX/UI. Shimadzu ist ein etablierter Anbieter von hochwertigen Präzisionslaborgeräten und fachkundigem Support. Besonders erfreulich ist es, wenn solche Unternehmen bei der Herstellung hochwertiger Produkte zusammenarbeiten können – vor allem, wenn diese Produkte Teil der zunehmenden Abkehr von fossilen Brennstoffen und der Hinwendung zu einer nachhaltigeren Zukunft für alle sind.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.



Spurensuche: Mineralöl in Lebensmitteln

Forschungsprojekt entwickelt Nachweismethode für DNA-reaktive Mineralölfractionen

Sanja Savić, Elisa Mayrhofer, Österreichisches Forschungsinstitut für Chemie und Technik (OFI), Team Mikrobiologie & Zellkultur

Andrea Hochegger, Erich Leitner, Technische Universität Graz, Institut für Analytische Chemie und Lebensmittelchemie

Mit Mineralöl kontaminierte Lebensmittel waren in den vergangenen 15 Jahren regelmäßig Ursache für Schlagzeilen und Stellungnahmen der europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA = European Food Safety Authority). Ob ukrainisches Sonnenblumenöl im Jahr 2008, der foodwatch-Report zu Babymilchpulver 2019 oder die jährlichen Warnungen vor dem Schoko-Nikolaus in der Vorweihnachtszeit[1, 2, 11]: Mineralölverunreinigungen finden sich mittlerweile überall. Aber wie gefährlich sind sie? Dieser Frage wurde im kooperativen Forschungsprojekt „MOSH MOAH – Reduktion von Mineralöl in Lebensmitteln“ nachgegangen.

Bereits 2012 gab es ein wissenschaftliches Gutachten der EFSA zu den unterschiedlichen Effekten und Wirkungen von Mineralölkontaminationen auf die menschliche Gesundheit. [3] Als Hauptexpositionsquellen wurden in dem Bericht Lebensmittelverpackungen und deren Additive sowie Schmiermittel hervorgehoben – heute wissen wir, dass die Kontaminationen verschiedenste Quellen im gesamten Produktionszyklus haben. Dabei unterscheidet man grundsätzlich zwischen unbeabsichtigten Verunreinigungen und erlaubter Einbringung z. B. durch Hilfsstoffe wie E905, also mikrokristallines Wachs. All diese führen in unterschiedlichem Maße dazu, dass Mineralöle (MOH = Mineral Oil Hydrocarbons) in Lebensmitteln enden und beim Verzehr vom Körper aufgenommen werden.[3, 4, 5]



Trennung in MOSH und MOAH

MOH sind Mischungen von Substanzen, deren Ursprung im Rohöl liegt. Aufgrund ihrer komplexen und vielseitigen Zusammensetzung sind die einzelnen Komponenten bis heute aber kaum identifizierbar, wodurch eine substanzbasierte Risikobewertung schwierig ist. Eine grobe Trennung gelingt in MOSH (Mineral Oil Saturated Hydrocarbons) und MOAH (Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons). Bei MOSH handelt es sich um aliphatische langkettige oder zyklische Kohlenwasserstoffe. Sie können sich zwar im menschlichen Körper bis zu einer gewissen Menge anreichern, ihnen werden jedoch keine schwerwiegenden gesundheitsbeeinträchtigenden Eigenschaften zugeordnet. MOAH hingegen sind aromatische Verbindungen, die aufgrund der Vorkommnisse von polyaromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) mit 3–7 Ringen als potenziell mutagen und karzinogen eingestuft werden. In üblichen Mischungen liegt der MOAH-Anteil bei 15–30 %.[3, 6]

Stetige Weiterentwicklung in der Analytik

Um die Sicherheit für Konsumenten zu gewährleisten, ist es Aufgabe der Routineanalyse, die Sicherheitsbedenken in Lebensmitteln effektiv zu erkennen, um diese zu beheben. Der Mangel an standardisierten Methoden wird zwar langsam beseitigt (z. B. Update der EN16995:2022, JRC-Methode für MOAH in Babymilchnahrung), dennoch bleibt die Analytik herausfordernd.[4, 15, 16] Einerseits ist die Probenvorbereitung, die vor allem vom Fettgehalt der Lebensmittelmatrix abhängig ist, sehr komplex. Viele manuelle Aufreinigungsschritte sind nötig wie Verseifung, um Fett zu entfernen, ein Clean-up mit Aluminiumoxid, um natürlich vorkommende n-Alkane aus der MOSH-Fraktion zu eliminieren (Alox), oder Epoxidierung, um Olefine aus der MOAH-Fraktion zu beseitigen (Epoxy), sowie eine anschließende Anreicherung durch Lösungsmittelverdampfung.

Andererseits wird mittels der State-of-the-Art-Analysenmethode, der online gekoppelten HPLC-GC-FID (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Gaschromatographie-Flam-



menionisationsdetektion), nur eine Trennung der MOH in MOSH und MOAH und eine Bestimmung als Summenparameter bewerkstelligt. Dabei wird das nach der Probenvorbereitung erhaltene Extrakt zunächst mit Normalphasen-HPLC in die zwei Fraktionen (MOSH und MOAH) getrennt. Die gewonnenen Fraktionen werden danach online auf zwei idente GC-Säulen in einem Ofen transferiert, um MOSH und MOAH parallel in einem Lauf zu bestimmen, wobei man durch ein schnelles und steiles Ofenprogramm die Empfindlichkeit der Methode steigert, indem die komplexen Substanzgemische jeweils in einem großen, nicht aufgelösten Peak, dem sogenannten Mineralöl-Hump, konzentriert werden. Zwei universale Flammenionisationsdetektoren ermöglichen im finalen Schritt die Integration der MOSH- und MOAH-Humps und die Bestimmung der jeweiligen Gehalte (Abbildung 1).[7, 8] Immense Erleichterung bei der Routineanalytik bieten die vielen Automatisierungsmöglichkeiten. Die wichtigsten Clean-up-Schritte wie Alox und Epox sind bereits seit Längerem auch automatisiert verfügbar und können individuell für jede Probe direkt am System zugeschaltet werden, um entsprechend den standardisierten Methoden natürliche Interferenzen zu entfernen. Für Fette und Öle wurde vor Kurzem sogar eine vollständig automatisierte Aufarbeitung, die die Verseifung inkludiert, entwickelt.[9]

Neue Grenzen

Als Reaktion auf MOAH-Befunde, die im foodwatch-Report vom Dezember 2021 festgehalten wurden, wurde im April 2022 eine Stellungnahme des Ausschusses für Pflanzen, Tiere, Lebens- und Futtermittel (PAFF-Komitee) der Europäischen Kommission publiziert.[10, 11] Darin sind maximale

Quantifizierungslimits für die HPLC-GC-FID-Methode beschrieben, die von 0,5 mg MOAH/kg trockenes Lebensmittel über 1 mg MOAH/kg Lebensmittel mit einem Fettgehalt zwischen 4 % und 50 % zu 2 mg MOAH/kg für Lebensmittel mit einem Fettgehalt > 50 % reichen. Diese Quantifizierungsgrenzen werden zurzeit als allgemein gültige MOAH-Limits in der Europäischen Union interpretiert und Lebensmittel, die sie überschreiten, sollen vom Markt genommen werden. Die Grenzen sind jedoch nicht toxikologisch begründet, sondern basieren lediglich auf der Sensitivität der aktuell verfügbaren LC-GC-FID-Analysenmethode und dem Fettgehalt der Probe.[10]

Auf toxikologischen Daten basierende Limits für die MOAH-Fraktion lassen sich aus dem TTC (Threshold of Toxicological Concern)-Konzept ableiten. Da angenommen wird, dass MOAH DNA-reaktive Eigenschaften besitzen, gilt ein viel geringerer täglicher Expositionsgrenzwert von 0,15 µg/Tag bzw. 0,15 µg/kg Lebensmittel für eine 60 kg schwere erwachsene Person.[14] Nur wenn nachgewiesen werden könnte, dass das Substanzgemisch der MOAH oder bestimmte Subfraktionen keine DNA-reaktiven Effekte aufweisen, könnte dieser Grenzwert um ein Vielfaches angehoben werden. Dazu ist eine stärker substanzbezogene Risikobewertung erforderlich und nicht nur die Bestimmung eines Summenparameters, wie dies bei der Verwendung der LC-GC-FID-Methodik der Fall ist. 2019 empfahl die EFSA daher, weitere Analysenmethoden für mit MOAH kontaminierte Proben anzuwenden. Mit diesen sollte festgestellt werden, ob 3–7 PAKs in der Mischung vorhanden sind, die für den DNA-reaktiven Charakter der MOAH verantwortlich gemacht werden.[5] Die Methode der Wahl für diese Charakterisierung ist die umfassende zweidimensionale Gaschromatographie (GC×GC). Da jedoch mit dieser Methode immer noch

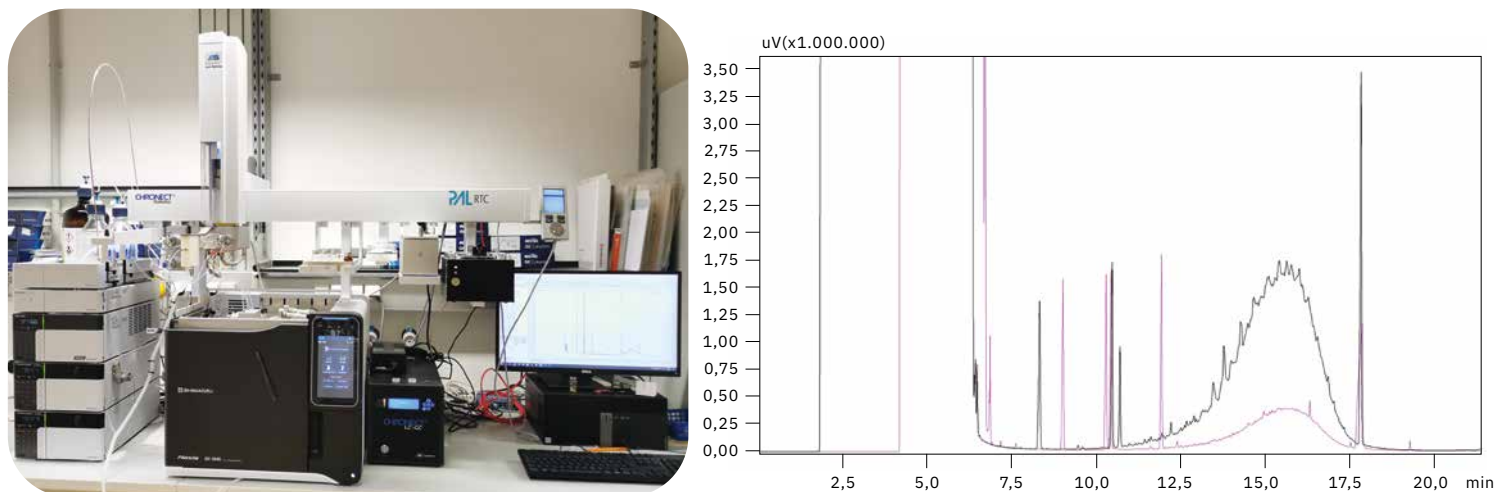


Abbildung 1: Online gekoppelte HPLC-GC-FID (links) und Chromatogramm eines typischen Mineralöls (rechts, schwarz = MOSH, pink = MOAH)



Tausende Substanzen nachgewiesen werden können, ist eine Risikobewertung jeder einzelnen mit GC×GC identifizierten Substanz nicht möglich. Alternativ könnte das gesamte MOAH-Gemisch – oder einzelne isolierte Subfraktionen mit bekannter Zusammensetzung – mithilfe von Bioassays auf DNA-reaktive Wirkungen untersucht werden.

Kombination von Methoden

In dem von der GLI Austria (Gemeinnützige Lebensmittelinitiative für Österreich) koordinierten Forschungsprojekt „MOSH MOAH – Reduktion von Mineralöl in Lebensmitteln“ hat sich ein kollektiver Ansatz als wegweisend herausgestellt. Der Technischen Universität Graz und dem Österreichischen Forschungsinstitut für Chemie und Technik (OFI), die als wissenschaftliche Partner das Forschungsvorhaben umgesetzt haben, ist es durch die Kombination von chemischer Analytik und gleichzeitiger toxikologischer Charakterisierung mit In-vitro-Tests gelungen, auf die zuvor gestellten Fragen Antworten zu generieren.[12]

Ein essenzieller Bestandteil der Arbeiten war die weitere Subfraktionierung der MOAH in mono- und diaromatische bzw. tri- und polyaromatische Teilmengen und deren Isolierung und Charakterisierung, um mehr Einblicke in die Effekte der unterschiedlichen Komponenten der MOAH-Fraktion zu erhalten. Für die Isolierung wurde nach Koch et. al (2020) eine Donor-Akzeptor-Komplexchromatographie eingesetzt.[13] →

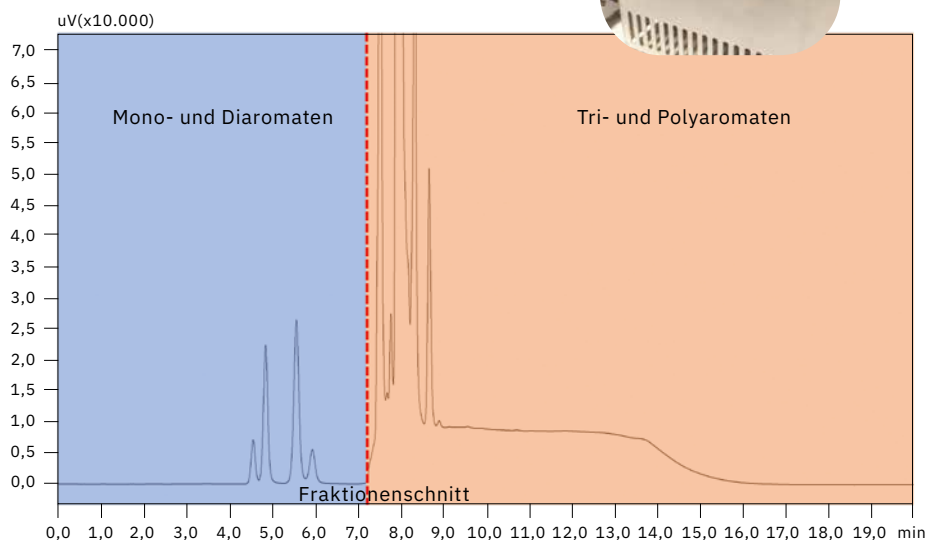
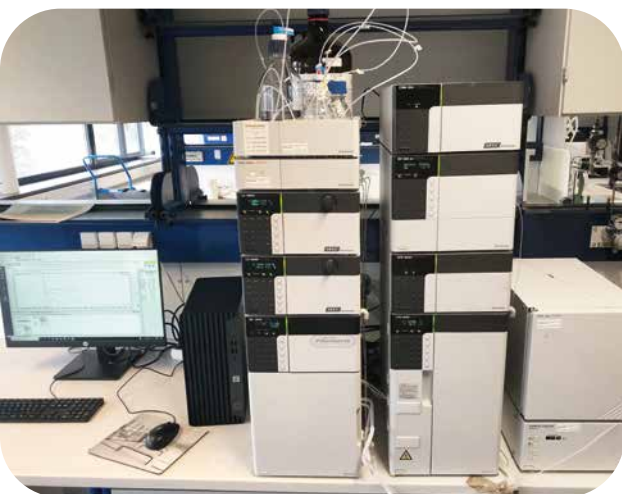


Abbildung 2 : Shimadzu Nexera LC-20AD mit Prominence RF-20Axs Fluoreszenzdetektor (FLD), SPD-M20A Photodiodenarray- Detektor (DAD) und Fraktionensammler zur Isolierung von mono- und diaromatischen sowie tri- und polyaromatischen Verbindungen aus den MOAH[13]

Dazu wurde eine Nexera LC-20AD (Abbildung 2) mit einer Nucleosil Chiral 2, 5- μm -Säule (250 \times 4 mm, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG) und einem Prominence RF-20Axs Fluoreszenzdetektor (FLD) sowie einem SPD-M20A Photodiodenarray-Detektor (DAD) verwendet, welche die Trennung der gesamten MOAH-Fraktion in Mono- und Diaromaten sowie Tri- und Polyaromaten ermöglichte. Die getrennten Fraktionen wurden mittels Fraktionensammler gesammelt, angereichert und einer weiterführenden chromatographischen Methode, basierend auf GC \times GC, zugeführt, um die unterschiedliche Zusammensetzung der Fraktionen zu evaluieren und die Präsenz bzw. Absenz von 3–7 PAKs nachzuweisen.

Um die DNA-Reaktivität der generierten Subfraktionen zu beurteilen, wurde anschließend ein miniaturisierter Ames-Test eingesetzt. Dieser basiert auf Histidin-auxotrophen Salmonellen, die bei Exposition mit DNA-reaktiven Substanzen eine Mutation erfahren, wodurch ihre Histidin-Prototrophie wiederhergestellt wird und somit ein Wachstum auf Minimalmedium möglich ist. Abbildung 3 zeigt den finalen Versuchsablauf, der im Rahmen des Forschungsprojektes „MOSH MOAH“ umgesetzt wurde.[12]

Erste Ergebnisse

Um aufzuzeigen, dass die erarbeitete kombinierte Analysenstrategie funktioniert, wurde ein Referenzmineralöl mit hohem MOAH-Gehalt getestet.[12] Erste Einblicke der instrumentellen Charakterisierung mittels GC \times GC zeigten deutlich, dass Unterschiede in der Zusammensetzung zwischen der isolierten mono- und diaromatischen und der tri- und polyaromatischen Fraktion erkennbar sind und dass die Auftrennung nach der Ringanzahl erfolgreich war. Noch interessanter waren die Ergebnisse des Bioassays: Das getestete Referenzöl war im Ames-Test positiv, d. h. DNA-reaktive Effekte wurden festgestellt, genauso konnte dies auch für die MOAH und deren Tri- und Polyaromaten-Fraktion gezeigt werden. Im Gegensatz dazu blieben die MOSH- sowie die Mono- und Diaromaten-Fraktion der MOAH-Fraktion stets negativ und zeigten somit keine DNA-Reaktivität. In Abbildung 4 sind die Ergebnisse der fraktionierten Bestandteile auszugswise dargestellt.

Nach diesem ersten Erfolg wurde die kombinierte Strategie auf weitere Proben angewendet, um fortlaufend toxikologische Daten von MOSH und vor allem von MOAH und den zugehörigen Subfraktionen zu erheben. Darunter waren etwa

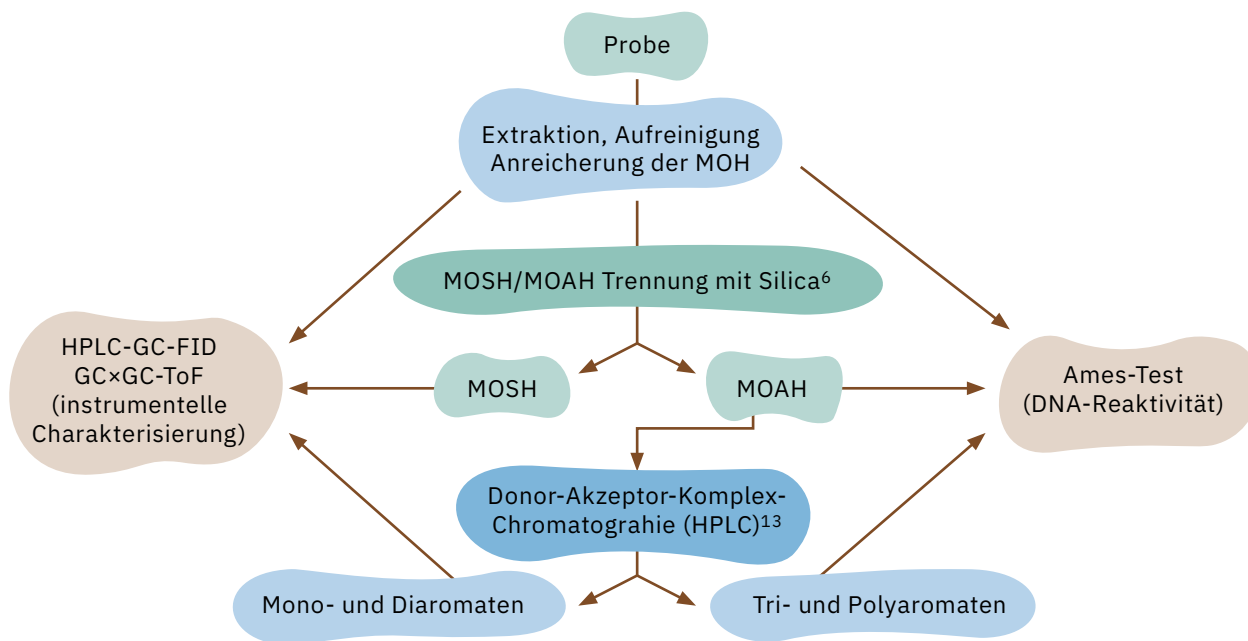


Abbildung 3: Schematische Darstellung des experimentellen Versuchsaufbaus des Forschungsprojekts „MOSH MOAH“[12]

Food-Grade- und Non-Food-Grade-Schmieröle und -Fette sowie Verpackungsmaterialien. Der nachgewiesene Trend konnte dabei erneut bestätigt werden: In allen MOAH-Fraktionen, die im Ames-Test positiv ausfielen, konnten auch aromatische Verbindungen mit mehr als 3 Ringen mittels GC×GC nachgewiesen werden, während diese in Ames-negativen (nicht DNA-reaktiven) Proben nicht präsent waren. Mithilfe dieses kombinierten Ansatzes und des damit verbundenen Wissensaufbaus wird die Gefahrenidentifizierung und Risikobewertung von Proben, die mit MOAH kontaminiert sind, in Zukunft einfacher sein.

Verbesserung der Lebensmittelsicherheit

Im Rahmen des von der FFG unterstützten Forschungsvorhabens „MOSH MOAH – Reduktion von Mineralöl in Lebensmitteln“ hat das Projektkonsortium aktiv dazu beigetragen, Lösungen für die Problematik von Mineralölrückständen in Lebensmitteln zu finden. Bestehende Methoden wurden optimiert und neue Strategien entwi-

ckelt, um die Identifizierung von Eintragsquellen zu erleichtern, die Kontamination zu verringern und das damit verbundene Risiko stoffbezogener zu bewerten.

Die entstandenen Empfehlungen im Umgang mit MOSH und MOAH unterstützen die Verpackungs- und Lebensmittelbranche dabei, Mineralöl in Lebensmitteln nachhaltig zu reduzieren und die Sicherheit für Endkonsumenten weiter zu erhöhen.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.

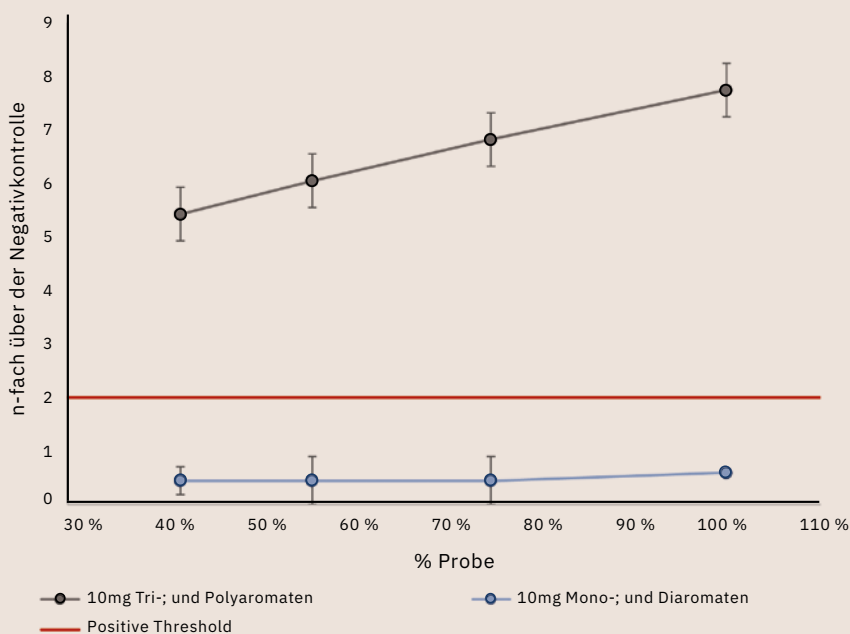


Abbildung 4: Ames-Test-Resultate: Mono- und Diaromaten des getesteten Mineralöls sind nicht DNA-reaktiv im Ames-Test, während Tri- und Polyaromaten DNA-reaktiv sind[12]





Ein integrierter Ansatz für medizinische Gase

Verbesserte UV-Spektroskopie zur Analyse
medizinischer Stickstoffmonoxidmischungen

Riccardo Nava, Massimiliano Cattaneo, Simone Bacca, SOL GROUP

Die Anzahl und die Bedeutung medizinischer Anwendungsbereiche von Stickstoffmonoxid (NO) nehmen immer mehr zu. Eine Zusammenarbeit zwischen Shimadzu und der SOL Group – die sowohl einen Wirkstoff als auch ein fertiges medizinisches Produkt auf Stickstoffmonoxidbasis herstellt – hat eine neue integrierte Systemlösung hervorgebracht, um die Analyseleistung bei der Qualitätskontrolle eines medizinischen Gases auf NO-Basis zu optimieren. Dieser Artikel stellt die Ergebnisse dieser Zusammenarbeit vor, die den Chargenfreigabeprozess für Medikamente schneller, präziser und zuverlässiger macht. Zudem wird das Potenzial angedeutet, auch andere Analyseanwendungen für Gasproben damit zu verbessern.



Entwicklung medizinischer Gase

Die SOL Group wurde 1927 gegründet und konzentriert sich als multinationales Unternehmen mit Hauptsitz in Italien auf die Herstellung und Vermarktung technischer und medizinischer Gase. In der unternehmenseigenen Fabrik für Spezialgase in Monza (in der Nähe von Mailand) werden hochreine Gase und hochpräzise Gemische für die Wissenschaft hergestellt. Zu den Kunden gehören Forschungszentren, Universitäten, Labore und die Pharmaindustrie. Die Fabrik in Monza ist durch die Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA) für die Herstellung gasförmiger Arzneimittelwirkstoffe und Arzneimittel zugelassen und erfüllt deren Kriterien der guten Herstellungspraxis (GMP).

In Monza wurde auch ein neues medizinisches Gas entwickelt, das Stickstoffmonoxid als aktiven Wirkstoff nutzt. Es wird auch dort produziert (Abbildung 1). Das Produkt ist unter dem Namen Neophyr für den europäischen Markt zugelassen und wird in vielen Krankenhäusern in Europa eingesetzt. Im Allgemeinen steigt die Nachfrage nach medizinischen Produkten auf Stickstoffmonoxidbasis, da es immer mehr therapeutische Anwendungen gibt, um die Gesundheit der Patienten zu verbessern.

Qualitätssicherung auch in geringer Konzentration

Bei der Herstellung eines gasförmigen Gemischs, in dem der Wirkstoff mit dem Faktor Parts per million in einem (inaktiven) Hilfsstoff – wie z. B. reinem Stickstoff – verdünnt wird, müssen unbedingt alle GMP-Anforderungen eingehalten werden, um eine Kontaminierung des Endprodukts zu verhindern. Zudem muss in allen Phasen eine strenge Qualitätssicherung und die höchste Produktionsqualität sichergestellt sein.

Insbesondere als Qualitätsgarantie für jedes einzelne Endprodukt verwendet das SOL-Labor in Monza (Abbildung 2) Instrumente, die mit höchster Präzision die Verunreinigungswerte nach Parts per million einschätzen und auflisten können. Dazu setzen sie Detektionssysteme auf Basis unterschiedlicher Technologien ein.

Um einen Arzneimittelwirkstoff und ein Zwischenprodukt zu erhalten, die beide die GMP-Anforderungen vollständig erfüllen – vor allem im Hinblick auf die Verunreinigungen in Stickstoffdioxid (NO₂) – beschloss das Labor in Monza, dass man nun technologisch aufrüsten und neue Instrumente anschaffen müsse. Verwiesen wurde dabei auf das Europäische Arzneibuch [Ph. EU Monografie von NO: EU Ph. 01/2008:1550], wo die Messung mittels UV-Vis-Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 400 nm als Referenztechnik für die Analyse der Verunreinigungen von Stickstoffdioxid angegeben ist. →



Abbildung 1: Hauptproduktion von aktivem Stickstoffmonoxid



Abbildung 2: Das SOL-Labor in Monza



Abbildung 3: Das Projektteam

Auf dem Weg zu einer neuen Lösung

Angesichts der Tatsache, dass die zu analysierenden Proben gasförmig waren und man für die verschiedenen NO_2 -Konzentrationen präzise Analysewerte brauchte, benötigte das Labor in Monza ein Instrument mit einer speziellen Gaszelle. Darin musste der Lichtweg mehrere Meter lang sein und elektromagnetische Strahlung über ein Spiegelsystem innerhalb der Zelle eine bestimmte Anzahl von Malen reflektiert werden.

Das SOL-Laborteam in Monza stieß auf ein Instrument, das diese speziellen Anforderungen erfüllte: das UV-2700 Spektrophotometer von Shimadzu, bei dem die 2,4 m lange PIKE-Gaszelle im erweiterten Probenraum (MPC-2600) installiert werden konnte. Hinzu kam das große Interesse von Shimadzu, gemeinsam mit dem Labor das Instrument an die speziellen Anforderungen anzupassen und optimal zu nutzen.

Zusammen mit technischer Unterstützung durch Pentatec und Selas Lab (Abbildung 3) arbeiteten Experten von Shimadzu Italia und das SOL-Team aus Monza daran, das Analysesystem in Bezug auf Befestigung und Ausrichtung der Gaszelle zu optimieren. Durch ein Quartzfenster in der Zelle und ein speziell konzipiertes Leitungssystem konnte das Instrument auch für die Analyse von unter Druck stehenden Proben verwendet werden, was die Nachweisgrenze der

Analyse absenkte. Die eingeführten integrierten Systemlösungen (Abbildung 4) erzielten positive Analyseergebnisse, insbesondere in Bezug auf die Reproduzierbarkeit der Messungen und Nachweisgrenzen.

Diese maßgeschneiderte Lösung zeigte auch Verbesserungsmöglichkeiten für andere Analyseanwendungen mit gasförmigen Proben auf, bei denen Analysetechniken wie Gaschromatographie oder Infrarot-Spektrophotometrie im Augenblick häufiger eingesetzt werden – aber ohne den Vorteil einer Systemintegration.

Zusammenarbeit verbessert moderne Technik

Die Zusammenarbeit zwischen SOL und Shimadzu sorgt dafür, dass heute die Qualitätssicherung für ein wichtiges Medikament noch schneller, präziser und zuverlässiger erfolgt. Dies unterstützt die Ausweitung sinnvoller medizinischer Anwendungen von Stickstoffmonoxid und bietet interessantes Verbesserungspotenzial für andere Analyseanwendungen für gasförmige Proben.

Hinweis

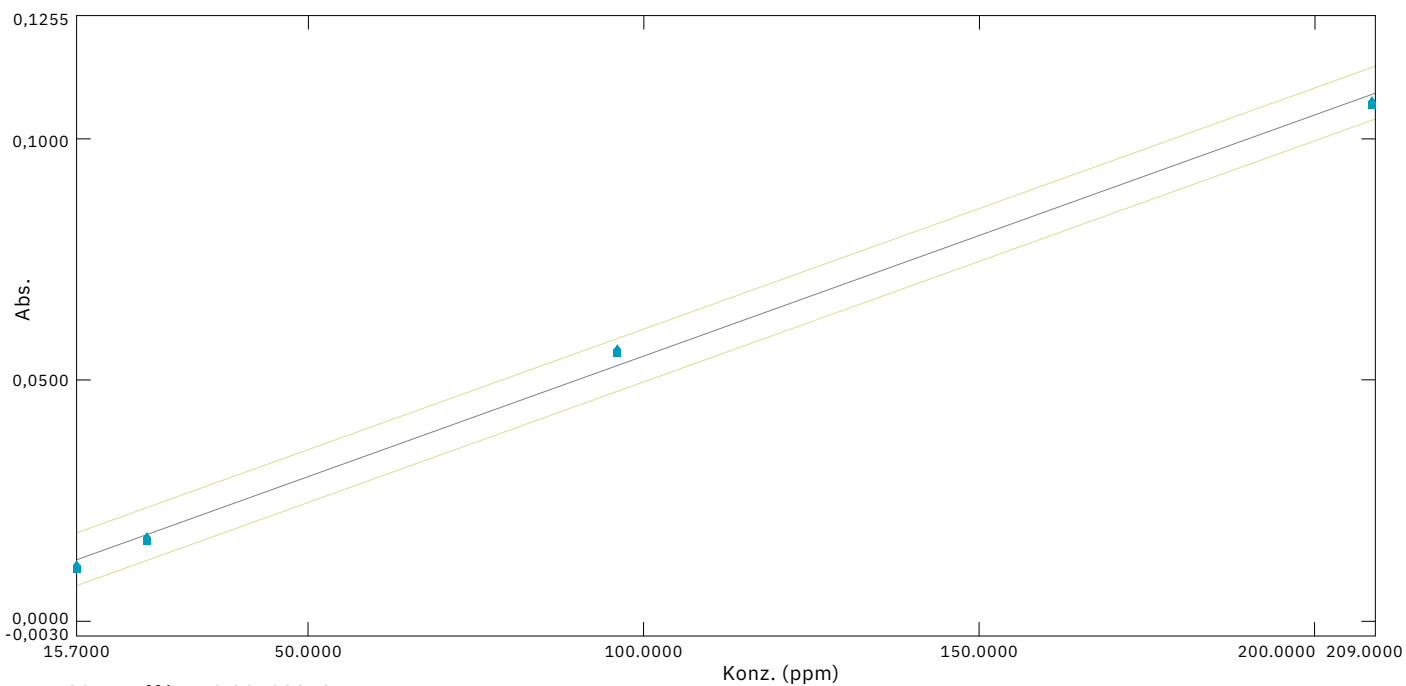
Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.





Abbildung 4: UV-2700 in Kombination mit einem MPC-2600 Modul

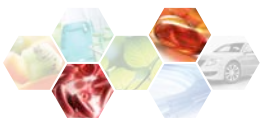
Standardkurve



$y = 4.99511 \cdot 10^{-4} x + 0,00509268$
 Korrelationskoeffizient $r^2 = 0.99786$
 Reststandardabweichung = 0.00183

Abbildung 5: Gerade Linie beim Konzentrationsbereich von 15 bis 200 ppm für NO₂

Mit Licht gegen Krebs

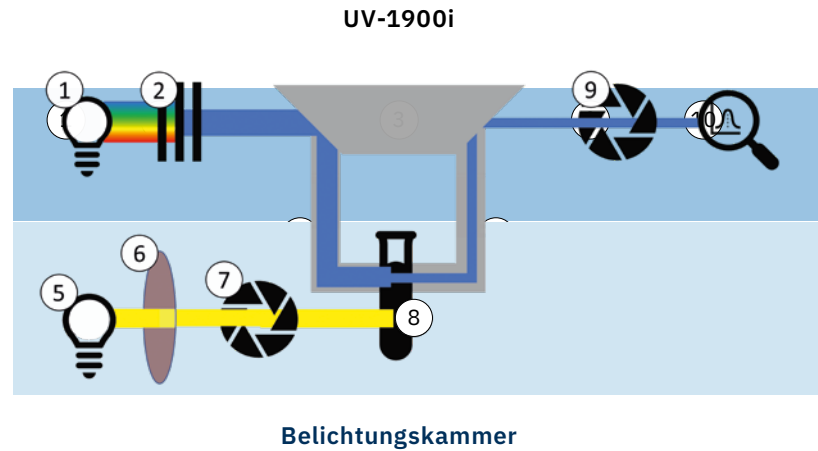


Neue Ansätze in der photodynamischen Therapie

Dr. Daniel Obitz, Ruhr-Universität Bochum

Eine alternde Bevölkerung und zunehmende Umweltverschmutzung sorgen dafür, dass Krebserkrankungen zunehmen. Durch Mutationen kommt es hierbei zum unkontrollierten Zellwachstum und zur Bildung von Tumoren. Klassische Therapien sind zum Beispiel die operative Entfernung des betroffenen Gewebes oder die Abtötung durch ionisierende Strahlung. Ein neuartiger Ansatz besteht in der photodynamischen Therapie.

Abbildung 2:
Schematischer
Aufbau des
Experiments,
bestehend aus UV-Vis
Spektrometer und
Belichtungskammer
1: D2- und WI-Lampe
2: Monochromator
3: Kopplungsoptik für
Lichtwellenleiter
4: Lichtwellenleiter
5: Xe-Lampe
6: Longpassfilter
7: Lampen-Shutter
8: Probe (Bildung von
ROS)
9: Detektor-Shutter
10: Photodiode



Krebszellen mithilfe von Licht zerstören: Die photodynamische Therapie (PDT) gilt als eine aussichtsreiche Alternative zu den klassischen Ansätzen in der Krebstherapie. Dabei wird ein – ohne Lichteinwirkung möglichst nicht toxischer – Photosensibilisator verwendet, der mit Licht einer spezifischen Wellenlänge angeregt und dadurch aktiviert wird. Dieser reagiert zusammen mit dem Sauerstoff im Tumorgewebe zu reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), die zum Zell- bzw. Gewebetod im Tumorgewebe führen und somit den Tumor bekämpfen können (Abbildung 1). Ziel der Forschung in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Nils Metzler-Nolte an der Ruhr-Universität Bochum ist die Entwicklung von neuen Photosensibilisatoren für die PDT.

Auf der Suche nach der richtigen Verbindung

Um eine Vorauswahl an aussichtsreichen Verbindungen zu erhalten, werden vor den aufwendigen Zellkulturexperimenten Tests der Verbindungen in Lösung durchgeführt (Abbildung 2):

Für die Messung der Absorptionsspektren wird ein Shimadzu UV-1900i UV-Vis-Spektrometer verwendet. Das Licht einer Deuterium- oder Halogenlampe (1) wird durch einen Monochromator (2) in monochromatische Strahlung zerlegt und über eine spezielle Optik (3) in einen Lichtwellenleiter (4) eingekoppelt. →

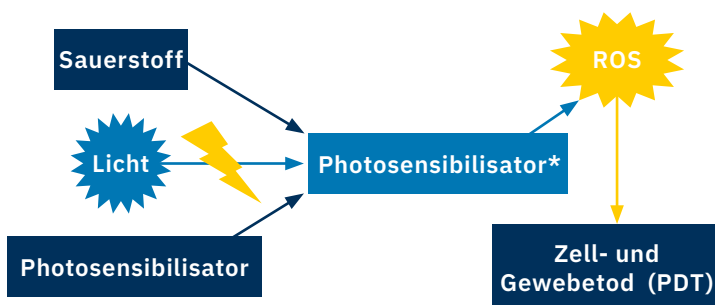
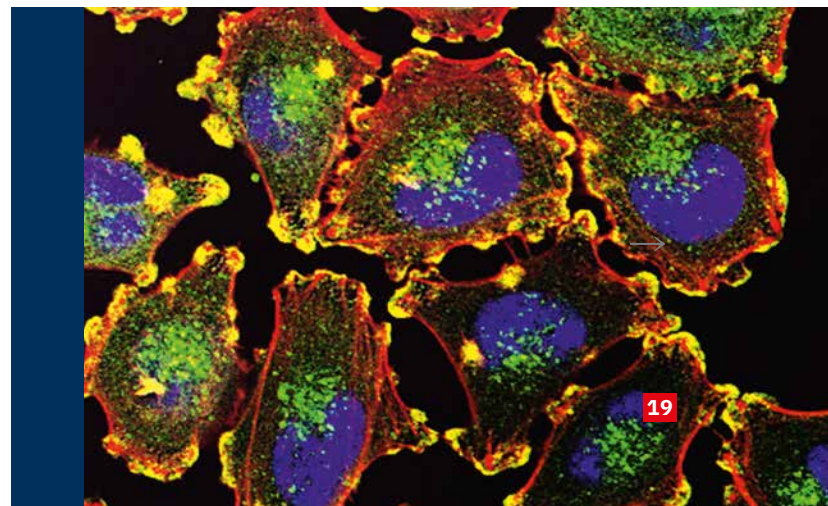


Abbildung 1: Schematischer Mechanismus der photodynamischen Therapie



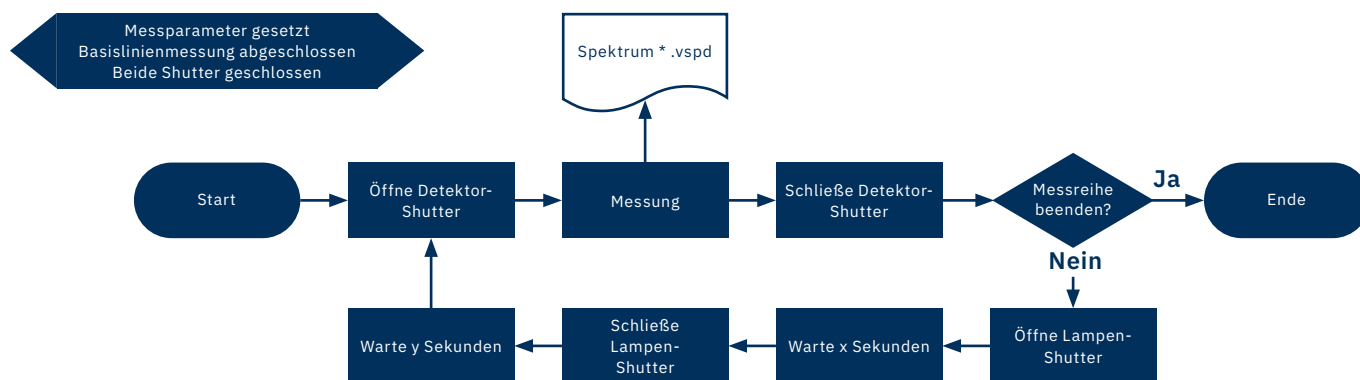


Abbildung 3: Schematischer Ablauf einer Sequenz aus Belichtung der Probe und Messung des Absorptionsspektrums. Vor dem Startpunkt wurden Spektrometer und Shutter bereits initialisiert und die Basislinie aufgenommen.

Die untersuchte Verbindung wird zusammen mit einer Substanz, die mit reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) reagiert, gelöst (8). Im Anschluss wird die Lösung mit einer Xenon-Gasentladungslampe (5) mit einem spezifischen Longpassfilter (6) beleuchtet. Die Belichtungszeit wird über einen elektronischen Shutter (7) geregelt.

Nach Abschluss der Belichtung wird der Lampen-Shutter geschlossen und das Absorptionsspektrum gemessen. Ein weiterer Shutter (9) schützt die empfindliche Photodiode (10) des Spektrometers vor Beschädigung durch intensives Streulicht während der Belichtung der Probe und wird nur während der Messung geöffnet.

Die Steuerung der Shutter- und Mess-Software wird über ein LabSolutions UV-Vis Automatic-Control-Makro synchronisiert.

Der Ablauf des Experiments ist schematisch in Abbildung 3 dargestellt. Der Startpunkt beschreibt in diesem Diagramm nicht den Programmstart, sondern den Start der Messsequenz nach der Basislinienmessung.

Mit dem Aufbau wird mittels UV-Vis-Spektroskopie die Produktion von ROS durch den Zerfall der Probensubstanz

gemessen (Abbildung 5). Hier können verschiedene Probensubstanzen eingesetzt werden, in diesem Fall 1,3-Diphenylisobenzofuran (DPBF).

Weiterhin kann durch die Aufnahme von ganzen Spektren die Photostabilität des Photosensibilisators dargestellt werden. Der Aufbau ist in der Lage, aufgrund des sehr kleinen Zeitbedarfes des UV 1900i zeitlich hochaufgelöste Messungen in Intervallen von einer Minute durchzuführen. Durch diese sehr hohe Scanrate ist es möglich, durch die Messung ganzer Spektren die Stabilität der Substanzen zu beobachten. Dies ermöglicht auch, bisher nicht zugängliche, schnelle Reaktionskinetiken umfassend zu betrachten. Die Gesamtbeleuchtungszeit beträgt in der Regel bis zu 60 Minuten mit Beleuchtungsintervallen von 2 bis 5 Minuten. Abbildung 5 zeigt den Verlauf der Zersetzung von 1,3-Diphenylisobenzofuran durch von einem Holmiumkomplex erzeugte reaktive Sauerstoffspezies über 45 Minuten mit einem Beleuchtungsintervall von 3 Minuten.

Die Zersetzung der Probe ist deutlich an der abnehmenden Intensität des Absorptionspeaks bei 410 nm erkennbar, während die Absorption der Lösung im Bereich von 500 bis 700 nm zeitlich konstant bleibt.

Gezielte Vorauswahl dank schneller Analyse

Der automatisierte Messablauf und die kurze Messzeit des UV-1900i erlauben eine schnelle Analyse von Photosensibilisatoren. Damit wird eine qualifizierte Vorauswahl von geeigneten Molekülen ermöglicht, die für aufwendigere Studien erfolgversprechend sind.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.



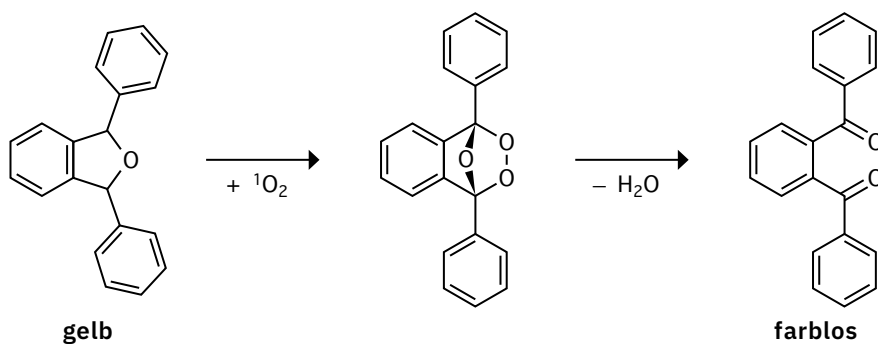
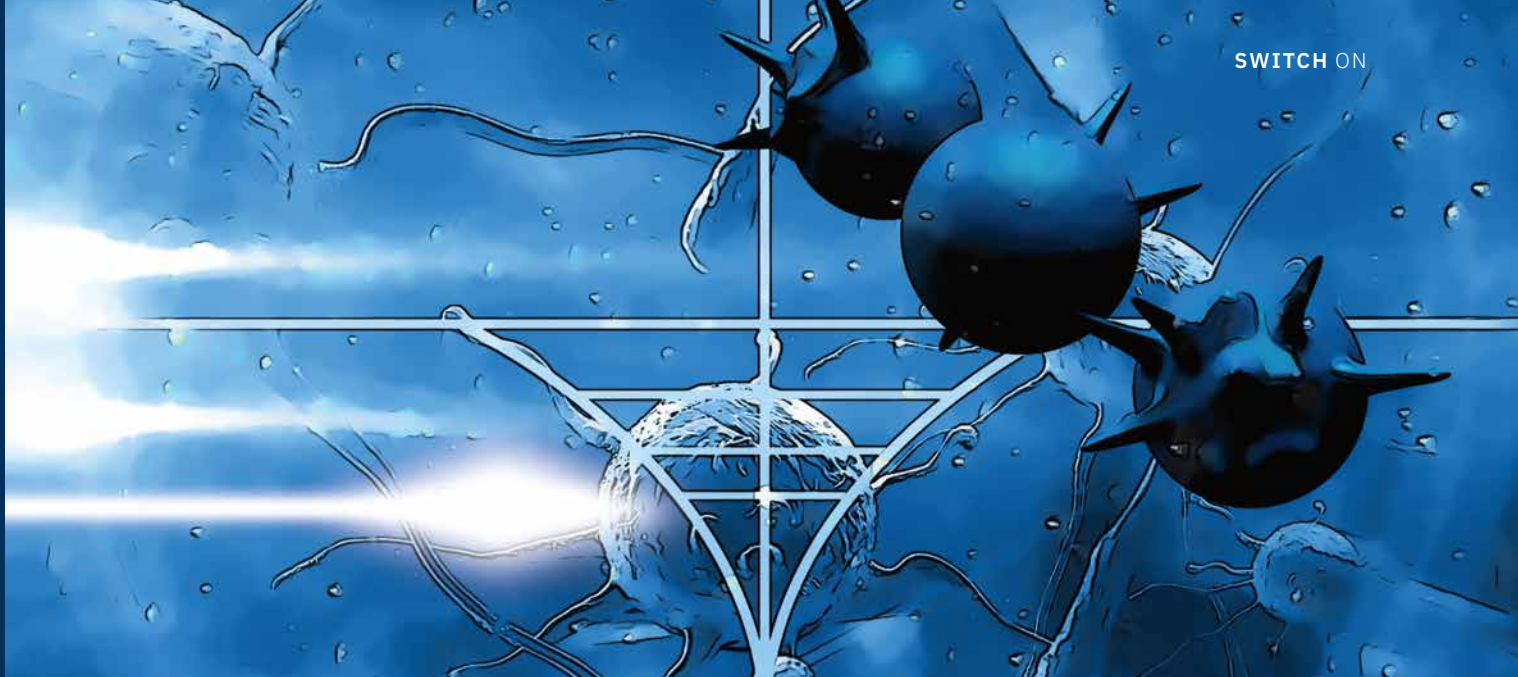


Abbildung 4: Zersetzung von DPBF durch reaktive Sauerstoffspezies

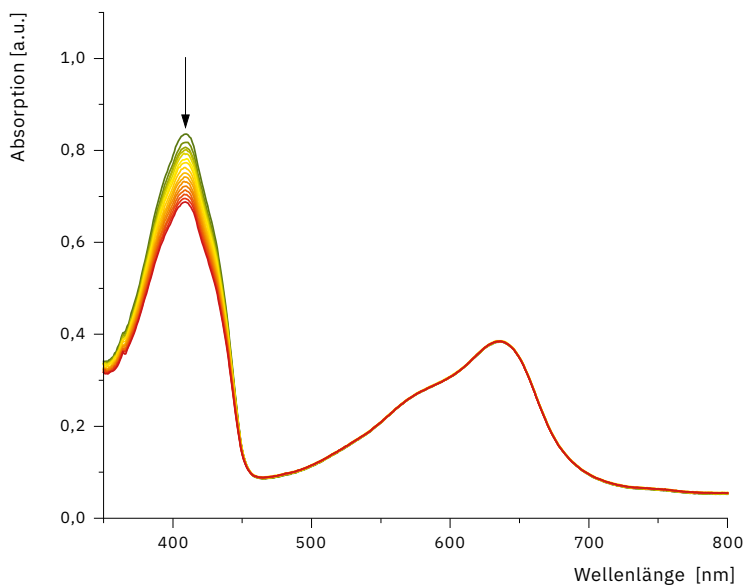
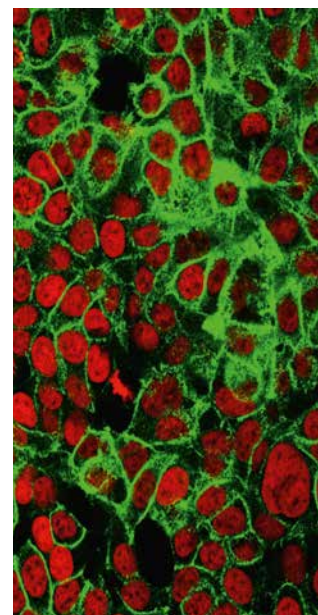


Abbildung 5: UV-Vis-Absorptionsspektren von 1,3-Diphenylisobenzofuran während der Zersetzung



Saubere Leistung: Zeitersparnis durch ultraschnelle LC-Vorbereitung

Wie Syngenta mit UFPLC Nebenprodukte im Grammbereich für vorgeschriebene Tests extrahiert und reinigt

Louise Bacon, Cyprien Bone, Lorraine Ezra, Syngenta



Um höhere Ernteerträge zu erzielen, werden weltweit häufig Chemikalien wie Herbizide, Fungizide, Insektizide und Saatgutbehandlungen eingesetzt. Als Nachweis der Wirksamkeit und Sicherheit dieser Produkte müssen die Formulierungen bis ins kleinste Detail und bis in winzigste Bestandteile untersucht werden. In diesem Artikel sprechen wir mit Syngenta darüber, wie man dort mithilfe der UFPLC-Systeme von Shimadzu die Extraktion und Reinigung von Nebenprodukten im Grammbereich beschleunigt, die in aktiven Inhaltsstoffen technischer Qualität weniger als 1 % ausmachen und für vorgeschriebene Tests und Toxizitätsuntersuchungen benötigt werden.



Nebenprodukte isolieren – eine große Herausforderung

In der Landwirtschaft erhöht sich der Druck, die Erträge stabil zu halten oder sogar zu steigern, während die Zahl der Bedrohungen zunimmt – seien es Schädlinge, Krankheiten, konkurrierendes Unkraut oder der Klimawandel. Für eine Minimierung dieser Bedrohungen und ein starkes und gesundes Pflanzenwachstum nutzen die Landwirte eine Reihe unterschiedlicher Methoden. Pflanzenschutzprodukte wie Herbizide, Fungizide, Insektizide und Saatgutbehandlungen sind dabei ein wichtiger Bestandteil und Syngenta arbeitet mit Landwirten, Forschern und Landwirtschaftsexperten daran, Herausforderungen zu erkennen und neue oder optimierte Behandlungsmöglichkeiten zu entwickeln.

Da diese Pflanzenschutzprodukte Teil einer stark regulierten Industrie sind, müssen sie zahllose Kriterien erfüllen, bevor sie zur Nutzung zugelassen werden. Dazu gehören auch strenge Tests, ob sie für die Arbeiter, die Umwelt, die Pflanzen und die Verbraucher sicher sind. Einige dieser Tests müssen an allen Bestandteilen von technischem Material durchgeführt werden, die ca. oder genau 0,1 % des Gewichts ausmachen. Die Gewinnung dieser „Nebenprodukte“ in ausreichender Menge und Reinheit stellt allerdings eine große Herausforderung dar. →



Syngenta entwickelt Analyselösungen

Die Isolierung solcher Nebenprodukte in nutzbaren Mengen ist die Aufgabe von Wissenschaftlern im Bereich Trennverfahren wie Louise Bacon. Sie arbeitet als Teamleiterin für das Preparative and Isolation Chemistry Team, das in der Analytical Solutions Group des Unternehmens im Jealott's Hill International Research Centre im britischen Bracknell angesiedelt ist. Ihr Team unterstützt Kollegen auf der ganzen Welt auch bei schwierigsten Herausforderungen in Trennverfahren mithilfe der präparativen Flüssigkeitschromatographie.



Abbildung 1: Louise Bacon (Mitte) mit ihren Kollegen Cyprien Bone (links) und Lorraine Ezra (rechts) im Preparative and Isolation Chemistry Team bei Syngenta

Louise hat in den vergangenen 30 Jahren verschiedene Positionen bei Syngenta bekleidet und beschäftigt sich seit 2016 in Vollzeit mit der präparativen Analytik. Sie beschreibt die Art der Projektanfragen, die ihr Team bekommt: „Die meisten unserer Projekte kommen von unseren ‚globalen Analysechampions‘, die für einen aktiven Inhaltsstoff und damit für die gesamte Methodvalidierung und Zulassung verantwortlich sind. In diesem Zusammenhang brauchen sie manchmal unsere Hilfe, um ein unbekanntes Nebenprodukt im Milligrammbereich zur Identifizierung zu extrahieren und zu reinigen. Viel häufiger benötigen sie aber größere Mengen eines Nebenprodukts, das als Analysestandard genutzt wird. Diese können bis in den Grammbereich reichen, der für Toxizitätsuntersuchungen notwendig ist. Es ist beispielsweise nicht ungewöhnlich, dass ein Nebenprodukt 0,5 % des Gewichts eines Produkts ausmacht. Dann muss ein Toxizitätstest der reinen Chemikalie erfolgen, damit der aktive Inhaltsstoff als Ganzes registriert werden kann.“

Diese größeren Mengen stellen die größte Herausforderung dar, sagt sie. „Wir arbeiten eng mit unseren Chemiekollegen zusammen, um den besten Weg zu diesen Nebenprodukten zu finden. Bevorzugt wird die Synthese, weil sie schneller ist – aber nicht alles lässt sich synthetisieren und selbst wenn, ist das Ergebnis meist eine unreine Mischung. Deshalb werden wir häufig gebeten, das reine Nebenprodukt aus diesen Mischungen zu extrahieren oder aus Extrakten und Waschungen, die ein Ergebnis der ursprünglichen Synthese des aktiven Inhaltsstoffs sind.“

Abbildung 2: ►

- (A) Die 5 Liter Essigsäurewaschungen, das Ausgangsmaterial für die benötigten Säureisomere, enthielten nur 0,3–0,4 % des Zielmaterials
- (B) Das Endprodukt als weißes Pulver (1,5 g, 93 % Reinheitsgrad)
- (C) Chromatogramm der Mischung in der Endphase der Methodenoptimierung bei Nutzung der Shimadzu UFPLC mit einer 100-mm-Pentafluorophenyl-Umkehrphasensäule und einer Durchlaufzeit von nur 13 Minuten. Die Analyse zeigt einen spitzen Peak der Zielverbindung, deutlich getrennt von einem „Buckel“ unerwünschten Materials.



Die ultraschnelle LC-Vorbereitung ist sehr wertvoll

Normalerweise gehen Louise und ihr Team bei diesen Reinigungen in zwei Schritten vor: „Wir haben festgestellt, dass eine ‚größere‘ und umfangreichere Reinigung des zur Verfügung gestellten Materials am besten funktioniert, z. B. wenn wir es von 0,1 % auf 5 % oder mit viel Glück sogar auf 20 % anreichern. Danach folgt der ‚Feinschliff‘, um den benötigten Reinheitsgrad zu erreichen, der meist bei 90 % oder darüber liegt.“

Der erste Schritt ist der schwierigste, erklärt Louise, weil man dabei so große Mengen an Material bearbeiten muss. „Ein Beispiel: Wir haben uns mit einem Nebenprodukt eines Insektizids beschäftigt, einer höchst flüchtigen Säure. Diese wurde mit 0,3–0,4 % in einer Essigsäurelösung geliefert, die zudem aliphatische Bestandteile und Salze enthält. Benötigt wurden 800 mg und uns war von vornherein klar, dass dies schwierig werden würde“, sagt sie.

Zunächst ließen sie die Waschungen durch eine HPLC laufen und sammelten/kombinierten alle Fraktionen. Dies war alles andere als ideal, da dazu 1.000 Injektionen mit einer jeweiligen Analysenzeit von 22 Minuten notwendig waren und literweise Extrakte behandelt werden mussten. Darüber hinaus war auch die Weiterverarbeitung schwierig. Eine Gefrier-Trocknung war nicht möglich, weil die Zielverbindung zu volatil war, und die Alternative – die Extraktion der Acetonitril-/Wasserfraktionen aus der HPLC mithilfe von Dichlormethan (DCM) – führte zu Mischungen, die nur schwer ohne Materialverlust verdampft werden konnten. Das Fazit von Louise: „All dies nahm das Team für ganze 5 Monate in Beschlag und zu

allem Überfluss war das endgültige Material nur zu 55 % rein!“

Als die Anfrage nach weiteren 4 Gramm dieser Zielverbindung kam, wusste Louise, dass nun ein anderer, automatisierter Ansatz vonnöten war: „Schon eine geringere Menge war mit dem HPLC-Weg kaum zu realisieren, sodass es offensichtlich unmöglich war, damit noch mehr Material zu gewinnen. Glücklicherweise ergab sich aber ungefähr zur gleichen Zeit, Mitte 2021, die Gelegenheit, ein UFPLC-Instrument von Shimadzu anzuschaffen. Wir erkannten sofort, wie es uns helfen könnte, und nutzten diese Chance!“



Die Ultra-Fast Preparative LC (UFPLC) von Shimadzu isoliert die Fraktion mit der Zielverbindung automatisch und bindet sie an eine kurze Säule, statt sie eluieren zu lassen. Louises Team stellte fest, dass damit ihre Zielverbindung in Acetonitril zurückgespült werden konnte, was die DCM-Extraktion überflüssig machte und eine Lösung ergeben würde, aus der sie das Acetonitril problemlos und sanft entfernen könnten.

Nach einigen Bemühungen zur Säuloptimierung, um eine Co-Elution des Analyten mit einem „Buckel“ unerwünschten Materials zu verhindern, war das Team schließlich erfolgreich, sagt Louise: „Aus 5 Litern Waschung konnten wir mehr als ein Gramm des Materials gewinnen und das Produkt war reiner als vorher. Darüber hinaus hatten wir aber die manuellen Abläufe komplett vermieden, die Probleme mit der Trocknung eliminiert und den Prozess auf einige Wochen verkürzt.“ →

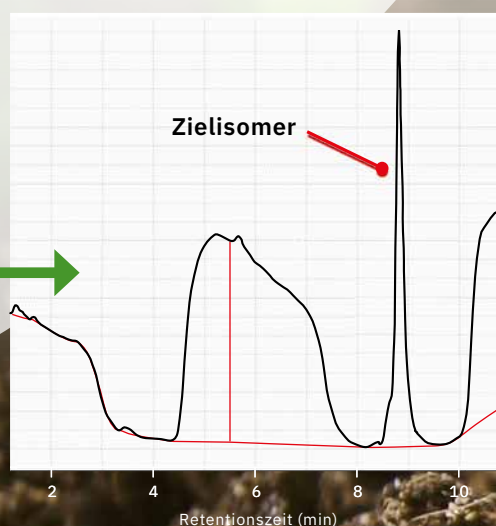
A



B



C





Automatische Fraktionssammlung zur schnelleren Verarbeitung

Die Effizienzgewinne mit diesem ersten System waren so gut, dass Louise sie als Beispiel genutzt hat, um ein zweites System zu beantragen. Dieses wurde Anfang des Jahres in Betrieb genommen. Wofür wird das Team diese neuen Geräte einsetzen?

Louise erklärt: „Den größten Nutzen der UFPLC sehen wir für Fälle mit großen Mengen an unreinem Material, wo Hunderte oder sogar Tausende von Injektionen nötig wären. Mit einer HPLC würden viele Liter an Fraktionen entstehen und uns damit sehr stark bremsen, weil so viele Proben verdampft werden müssen. Dies gilt vor allem dann, wenn wir mehrere Produkte sammeln sollen. Mit dem Shimadzu System allerdings können wir bis zu fünf Fraktionen automatisch und ohne manuelles Eingreifen sammeln.“

Damit, sagt sie, ist das System ideal für die erste Säuberungs- und Anreicherungsphase einer komplexen Mischung. „Wir müssen nicht einmal eine komplette Trennung vornehmen. In einem Projekt haben wir vor Kurzem eine 50-mm-Säule mit einer Durchlaufzeit von 5 Minuten verwendet, um einfach nur den Großteil des unerwünschten Materials zu entfernen. So bekamen wir eine kleine Menge stark angereicherten Extrakts, dem wir dann mit einem unserer anderen Vorbereitungssysteme den ‚letzten Schliff‘ geben konnten.“

Sie fügt hinzu, dass die chromatographische Reproduzierbarkeit der UFPLC entscheidend für die Möglichkeit ist, die Fraktionssammlung zu automatisieren. Denn weil das Team Produkte untersucht, die nur geringfügig über der Basislinie liegen, muss es sich auf bekannte Retentionszeiten statt auf Gradientendaten verlassen. Ein weiterer Vorteil sind die kleinen Fraktionsmengen: „Bei unserem Herbizidprojekt war das Zielmaterial nicht besonders stabil. Deshalb war es besonders hilfreich, dass wir es in kleinen Volumenmengen gelöst erhielten und so die folgenden Prozessschritte so schnell wie möglich durchführen konnten.“



Reduzierung des Lösungsmiteleinsatzes

Die neuen Geräte haben für das Team aber nicht nur Produktqualität und Verarbeitungszeiten verbessert, sondern auch die Umweltauswirkungen seiner Methoden verringert. Kurze Säulen und Durchlaufzeiten senken auch die verwendete Lösungsmittelmenge.

„Die Reduzierung unseres Lösungsmiteleinsatzes ist ein wichtiger Vorteil der UFPLC, die wir weiter untersuchen werden“, sagt Louise. „Bei einer vorbereitenden HPLC-Methode kann man Tausende Injektionen in 20-Minuten-Intervallen bei 50 ml pro Minute vornehmen – was eine riesige Menge an Lösungsmitteln verbraucht, die verdampft und schließlich entsorgt werden müssen. Mit der UFPLC verringern wir den Bedarf an Lösungsmitteln ebenso wie die entsprechenden Energiekosten für die Verdampfung und können sogar umweltfreundlichere Lösungsmittel einsetzen.“

Diese Reduzierung des Lösungsmiteleinsatzes hat auch für Syngenta Priorität, da dies einen wichtigen Beitrag zu den Nachhaltigkeitszielen des Unternehmens darstellt. Ein Student vom Imperial College in London wird Louises Team im Rahmen eines Betriebspraktikums verstärken und die neuen UFPLC-Systeme anwenden, um so herauszufinden, wo die größten Lösungsmiteleinsparungen möglich sind.

Eine große Erleichterung

Abschließend sagt Louise, dass das Team mithilfe der Shimadzu UFPLC etwas erreichen konnte, was vorher sehr schwierig war: die Extraktion von Nebenprodukten mit winzigen Prozentanteilen aus sehr komplexen Mischungen. Und das bei einem geringeren Lösungsmiteleinsatz, einer geringen Zersetzung der Zielverbindungen und mit minimalem manuellem Aufwand. Sie fasst zusammen: „Es ist fantastisch, einfach fantastisch, und hat uns so viel Zeit gespart!“



Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.



Abbildung 3: Eines von zwei Shimadzu UFPLC-Systemen im Labor des Preparative and Isolation Chemistry Teams bei Syngenta. Das System verwendet sogenannte Trapping Cartridges, die jeweils ca. 100 mg Material aufnehmen können, und lässt sich spülen, um das Lösungsmittel oder den pH-Wert zu ändern, Puffer zu entfernen – oder, wie bei den Säureisomeren, durch eine Rückspülung mit Lösungsmittel das Zielmaterial zu eluieren. In diesem Rückspülschritt setzt das Team einen zweiten UV-Detektor ein, um die Elutionsmenge zu minimieren, die in diesem Fall bei nur 5 ml lag.



Plastik in Eissturm­vögeln

Sektion, Magenanalyse und die Plastikidentifikation mit Infrarotspektroskopie



Dr. Susanne Kühn, Wageningen Marine Research, Niederlande

Der Eissturmvogel (engl. Fulmar) ist im ganzen Nordseeraum verbreitet und frisst als „Mülleimer der Meere“ – praktisch alles, was er an der Meeresoberfläche findet – leider auch viel Plastikmüll. Das macht ihn interessant für die Forschung. Die meisten Länder entlang der Nordsee berichten jährlich über die Entwicklungen der Plastikmenge und -zusammensetzung in Eissturmvogelmägen und tauschen sich in regelmäßigen Workshops aus. Im Oktober 2022 fand wieder ein Fulmar-Workshop statt am Forschungsinstitut „Wageningen Marine Research“ in den Niederlanden. Dabei kam die Infrarotspektroskopie zur Analyse der Polymerzusammensetzung zum Einsatz. Organisatorin Dr. Susanne Kühn berichtet.



Unter fachkundiger Begleitung trafen sich im Oktober 2022 Teilnehmende aus verschiedenen Ländern auf dem „Fulmar“-Workshop. Sie seziierten eine Vielzahl tot aufgefundenener Eissturmvögel und untersuchten die Plastikmenge und -zusammensetzung, die von den Tieren verschluckt worden waren. Während des Workshops wurde die Nutzung der Infrarotspektroskopie präsentiert und geübt sowie die Polymerzusammensetzung vieler Plastikteile aus den Mägen identifiziert. Außerdem wurde die Veranstaltung genutzt, um die aktuellen Forschungsstände in den anwesenden Arbeitsgruppen auszutauschen.

Schon seit 2014 nimmt Shimadzu an dem Fulmar-Workshop teil und berichtet über die Plastikaufnahme der Eissturmvögel. Die Organisatorin des diesjährigen Fulmar-Workshops, Dr. Susanne Kühn, ist eine Expertin auf dem Gebiet der Umweltverschmutzung und ihres Einflusses auf die maritime Tierwelt mit Schwerpunkt auf Eissturmvögeln.

Der Eissturmvogel – „Mülleimer“ der Nordsee

Der Eissturmvogel ist ein echter Hochseevogel. Außerhalb der Brutsaison verbringt diese Vogelart die gesamte Zeit auf See. Eissturmvögel sind mit ihrer Nahrung nicht wählerisch: Alles, was an der Wasseroberfläche treibt oder schwimmt, zum Beispiel Fisch, Tintenfisch, Krebstiere, Aas und Fischereiabfälle, steht auf dem Menüplan. Diese diverse Nahrungsaufnahme war lange Zeit eine erfolgreiche Strategie der Vögel. Im vorigen Jahrhundert hat sich ihre Population über den gesamten Nordatlantik, einschließlich der Nordsee, ausbreitet.

Im gleichen Zeitraum haben allerdings auch die industrielle Produktion und der Gebrauch von Plastik stark zugenommen. Konsequenz: Die Verschmutzung der Meere mit Plastikmüll nimmt zu. Die unkritische Nahrungsaufnahme bei Eissturmvögeln sorgt dafür, dass diese Tiere auch regelmäßig Plastik verschlucken, welches an der Meeresoberfläche treibt. Darum nutzen die EU und alle Nordseeanrainer den Eissturmvogel als Indikator-Spezies. An Stränden tot angespülte Eissturmvögel werden nordseeweit genutzt, um die Meeresverschmutzung mit Plastik zu vermessen. →

► Abbildung 1: Der Eissturmvogel ist ein Seevogel, der nur zum Brüten an Land kommt. In der Abbildung vermisst Frau Dr. Susanne Kühn einen Eissturmvogel während des Workshops.

►► Abbildung 2 : Mageninhalt eines Eissturmvogels. Schaumstoff, Fäden und industrielles Granulat (links). Styroporzellen und verschiedene Fragmente unklarer Herkunft (Jan Van Franeker, WMR), das Lineal im unteren Bildrand zeigt mm-Skalierung (rechts).





Abbildung 3: Workshopatmosphäre bei der Analyse von Plastik aus Mägen von Eissturmvögeln mit dem Shimadzu Infrarotspektrometer IRSpirit



Abbildung 4: Probe NEE-2021-001 Nummer 5 zum Größenvergleich auf dem Messplatz einer QATR-S. Das runde Diamantfenster ist kleiner als 2 mm im Durchmesser (links). Die Probe stammt aus einem Vogel-magen aus Nordostengland (rechts).

Workshop – ein Ort zum Lernen

Während des Workshops wurden neben dem fachlichen Austausch auch standardisierte Methoden gelehrt und kalibriert. Hierbei wurden Alters- und Geschlechtsmerkmale sowie der Zustand des Federkleids und mögliche Todesursachen der Eissturmvögel bestimmt. Der Mageninhalt wurde über einem 1-Millimeter-Sieb ausgespült und alle Plastikteile unter dem Mikroskop sortiert, um später getrocknet und gewogen zu werden.

Mikroplastikanalyse

Durch die Siebung erhält man Fragmente in cm, mm und auch μm . Je kleiner die Fragmente, umso interessanter die Frage: Wie und was kann man analysieren? Zur Identifikation des Polymers kann für ein schnelles Screening ein Infrarotgerät und/oder Infrarotmikroskop eingesetzt werden. Geht die Fragestellung in Richtung von Additiven, die in Kleinstmengen in den Kunststoffen vorliegen, und ob diese den Vögeln oder anderen Tieren, die die Partikel aufnehmen, schaden, dann kann man durch chemische Aufbereitung der Polymere solche Inhaltsstoffe extrahieren, selektiv sichtbar machen und verfolgen.

Die analytischen Gerätetechniken dazu sind GC-MS-Kopplungen mit Pyrolyseeinheit und Elementanalyse (EDX, AAS, ICP, ICP-MS), die zur Charakterisierung genutzt werden. Die Forschung bemüht sich, dem fraktalen Zerfall in Mikro- und Nanopartikel analytisch nachzukommen.

Infrarotspektroskopie

Während des Workshops konnte wegen des schnellen screenings mit Infrarotspektroskopie (FTIR, Shimadzu IRSpirit) die Polymerzusammensetzung von Plastik aus Eissturmvogelmägen bestimmt werden.

Die hierbei genutzte Infrarotspektroskopie ist die FTIR mit ATR-Technik. Die Proben können ohne nasschemische Aufbereitung, also zerstörungsfrei, auf ein Messfenster gelegt und analysiert werden. Für chromatographische und elementanalytische Untersuchungen wird eine etwas aufwendigere Probenvorbereitung notwendig. Darüber hinaus sind die dafür benötigten Geräte standortfest. Ein IRSpirit hingegen lässt sich auch in den Sezierraum bringen, um dort die Analytik der kurzen Wege zu realisieren. Auch unreine Plastikproben aus Mägen, die noch mit Resten von organischem Material verschmutzt sind, können analysiert werden.

Bei der Infrarotspektroskopie wird mit Wärmestrahlung aus dem Wellenlängenbereich von 2.500 bis 25.000 nm (FTIR üblicherweise $4.000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$), je nach eingesetztem Zubehör, gearbeitet. Ein Stoff unter Wärme nimmt Energie auf, die die Moleküle und Molekülgerüste des Stoffes in Bewegung bringt. Jedes Polymer weist ein eigenes Infrarotspektrum auf. Sammelt man diese in einer Spektrenbibliothek, kann man schnell eine Identifizierung von unbekanntem Stoffen erhalten.



Das schnelle Screening via ATR, die abgeschwächte Totalreflexionstechnik, macht die Analyse sehr effektiv. Die Handgriffe unter ATR-Bedingung wären mit einem Zeitaufwand von ca. 1,5 Minuten per Probemessung zu schätzen:

1. Probe auf das Messfenster legen
2. Probe mit Presseinheit an das Messfenster anpressen
3. Messen (1 Minute akkumulieren)
4. Probe entfernen und Fenster reinigen

Infrarotspektroskopie wird zunehmend genutzt, um die Plastikzusammenstellung in Magenproben zu analysieren. Durch die Analyse können Plastikteile von organischem Material unterschieden werden. Zudem kann der Polymertyp Aufschluss geben über die Herkunft des aufgenommenen Plastiks. Zuletzt kann durch die Analyse des Polymers eine erste Einschätzung gegeben werden, wie viel Zusatzstoffe in dem Plastik erwartet werden können.

Ergebnisse tragen bei zum Schutz der Meere und ihrer Bewohner

Die vorläufigen Ergebnisse der FTIR-Messungen bestätigen vorherige Resultate: Die durch Eissturmvögel am häufigsten verschluckten Plastikteile bestehen zum größten Teil aus Polyethylen und Polypropylen, zwei Kunststoffen, die zu den meistproduzierten der Welt gehören und zumeist an der Oberfläche der Ozeane treiben. Diese Ergebnisse können

auch der Politik dienen, zum Beispiel um Regelungen zu treffen, die den Einstrom bestimmter Plastiktypen in die Umwelt weiter einschränken. Auch jeder Mensch kann dazu beitragen: Durch bewussten Umgang mit Plastik(-abfall) kann die Menge des Meeremülls reduziert und damit der Eissturmvogel geschützt werden. Eine Statistik aus den Niederlanden zeigt, dass von 1979 bis 2021 die Menge des Plastiks in Vogelmägen signifikant abgenommen hat. Die Abnahme hängt vermutlich mit der breiten Aufmerksamkeit bei Politik und Gesellschaft zusammen, die der Plastikmüll in den vergangenen Jahren verursacht hat. Aufklärung und strengere Regeln tragen dazu bei, dass zumindest innerhalb der Nordsee der Plastikmüll langsam abnimmt. Nichtsdestotrotz hat nach wie vor praktisch jeder Eissturmvogel in der Nordsee (über 90 %) Polymerteile im Magen.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.



Schnellere und automatisierte Analyse von Aromaverbindungen in Kosmetika

Digitale Präzision der Smart Aroma Database vereinfacht bislang komplexe Aufgabe

*Dr. Waldemar Weber,
Shimadzu Europa GmbH*

Abbildung 1: GCMS-TQ8040 NX System + AOC-6000 Plus



Aromen haben eine große Wirkung auf Verbraucher. Körperpflegemarken und -produkte werden häufig nach ihrem Duft beurteilt. In Laboren für Produkttests werden diese Düfte durch hochqualifizierte Fachkräfte in relativ zeitaufwendigen Prozessen bewertet. Aus diesem Grund ist in den letzten Jahren das Interesse an der instrumentellen Analytik gestiegen, um damit die Produktivität zu steigern. Der Einsatz von Gaschromatographie ist möglich, aber schwierig, weil die Analyse durch die Komplexität der Proben nicht so zügig und exakt erfolgt wie gewünscht. In diesem Artikel wird eine schnelle und präzise Möglichkeit vorgestellt, um mit der Smart Aroma Database von Shimadzu Aromen in Kosmetika zu analysieren.

Die Analyse von Aromen spielt eine wichtige Rolle dabei, Marken und Produkte – insbesondere in den Bereichen Lebensmittel und Körperpflege – für Verbraucher attraktiv zu machen. Klassischerweise werden solche Analysen manuell von hochqualifizierten Fachkräften durchgeführt. Diese Methode ist aber sehr zeitaufwendig, weshalb es in der Branche Bemühungen gab, sie durch instrumentelle Analytik wie GC-MS zu ergänzen. Selbst die Gaschromatographie kann eine Herausforderung darstellen: Das liegt nicht nur an der großen Anzahl von Analyten, sondern auch daran, dass sehr erfahrene Anwender hochkomplexe technische Lösungen beherrschen müssen.

Es liegt daher auf der Hand, dass Labore und Unternehmen im Bereich Aromenanalyse eine schnellere und exaktere Methode gut gebrauchen können, die von normalen Fachkräften im Labor einfach durchgeführt werden kann. Die hier beschriebene neue Methode erfüllt genau diese Kriterien.

Analyse mithilfe der Smart Aroma Database

Der Schlüssel, um diese komplexe Aufgabe zu vereinfachen, ist die Smart Aroma Database, die Analyseinformationen für 500 wichtige und für Düfte relevante Verbindungen enthält. Bei einer Nutzung der Smart Aroma Database müssen zur Erstellung der Analysemethoden lediglich die Retentionszeiten durch die Nutzung einer Standardmischung mit n-Alkanen vor der Probenanalyse angepasst werden. Mit diesen Ergebnissen lassen sich dann die relevanten Verbindungen automatisch und exakt identifizieren. →



Identifizierung von Schlüsselverbindungen durch breit angelegte Zielanalyse (Scan-Modus)

Quantitative Analyse der Schlüsselverbindungen durch Zielanalyse (SIM- und MRM-Modus)

Abbildung 2: Ablauf des Analyseprozesses mithilfe der Smart Aroma Database

Proben und Analysebedingungen

Eine 20-mg-Probe handelsübliches Lipgloss wurde abgewogen und in einem Fläschchen mit Schraubverschluss versiegelt, um eine Analyse per Festphasenmikroextraktion (SPME) durchzuführen. Die in der Probe enthaltenen Verbindungen wurden zunächst im Scan-Modus identifiziert, die in der Smart Aroma Database registriert sind. Anschließend wurden für die identifizierten Verbindungen automatisch SIM- und MRM-Methoden erstellt und die Probe im SIM- und im MRM-Modus analysiert (Tabelle 1).

Anwendung der Smart Aroma Database

Mit der Smart Aroma Database wurden 31 Aromaverbindungen im Scan-Modus entdeckt. Diese Verbindungen und die Ähnlichkeitswerte in der entsprechenden Bibliothek sind in Tabelle 2 aufgeführt. Die Smart Aroma Database grenzt die Liste der Zielverbindungen aufgrund der Retentionszeiten und Ion Ratio sowie nach den Ähnlichkeitswerten ein. So wird die Analyse präziser und effizienter. Zudem können die Aromaeigenschaften der Verbindungen überprüft werden, sobald die Identifizierungsergebnisse vorliegen, da auch sensorische Informationen registriert werden (Abbildung 3). Für die Bewertung von Produktaromen muss zunächst festgestellt werden, wie sich die jeweiligen Verbindungen auf den Produktduft auswirken. Dank der Smart Aroma Database lassen sich Identifizierungsergebnisse und sensorische Informationen gleichzeitig überprüfen.

Analysen im SIM- und MRM-Modus

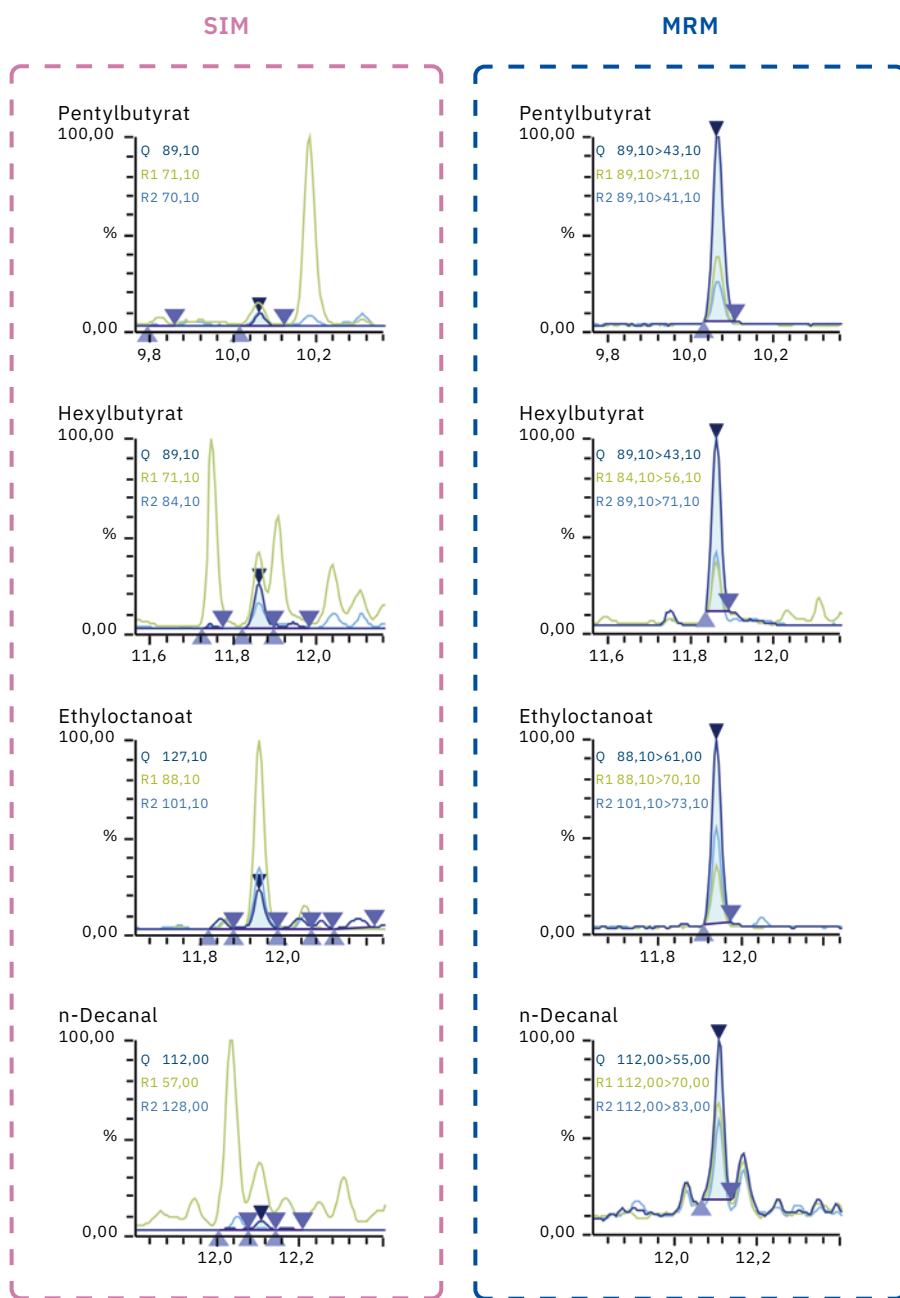
Die im Scan-Modus identifizierten 31 Verbindungen wurden anschließend mit den von der Smart Aroma Database automatisch erstellten SIM- und MRM-Methodiken analysiert. Da ein Duft durch das Gleichgewicht der jeweiligen Aromaverbindungen entsteht, ist eine exakte quantitative Analyse von Bedeutung. Kosmetika und andere Körperpflegeprodukte enthalten allerdings häufig Düfte oder Inhaltsstoffe, die aus Pflanzen oder anderen Quellen gewonnen werden. Es werden normalerweise viele Störpeaks entdeckt, was eine präzise

Name	RT	Bereich	Kommentar
Limonen	8,652	199705,00	Zitrone, Orange
Benzylalkohol	8,740	2494982,00	süß, blumig
Diethylmalonat	9,467	2999970,00	Apfel

Abbildung 3: Datenanalysefenster LabSolutions Insight

System	
GCMS-Modell	GCMS-TQ8040 NX
Autosampler	AOC-6000 plus
Säule	SH-I-5Sil MS (30 m x 0.25 m ID x 0.25 µm)
AOC-6000-Bedingungen	
SPME Arrow	DVB/Carbon WR/PDMS
Einfahrttemperatur	270 °C
Dauer der Probenextraktion	30 Min.
Dauer der Probendesorbierung	1 Min.
GC-Bedingungen	
Injektionsmodus	Split
Split-Verhältnis	5
Trägergas	He
Trägergaskontrolle	Druck (83,5 kPa)
Säulentemperatur	50 °C (5 Min.) →10 °C/Min.→250 °C (10 Min.)
MS-Bedingungen	
Quellentemperatur Ionen	200 °C
Schnittstellentemperatur	250 °C
Datenerfassungsmodus	SCAN, SIM, MRM
Scan-Bereich	<i>m/z 35–400</i>

Tabelle 1: Analysebedingungen



Quantifizierung der Zielverbindungen aufgrund von Koelutionen erschwert.

Insbesondere beim Vergleich mehrerer Analyten können die Verunreinigungen je nach Probe variieren. Daher kann es bei der Analyse von Daten, die im SIM-Modus gewonnen wurden, notwendig sein, die Quantifizierung oder falsch identifizierten Peaks bei der Probe entsprechend anzupassen. In diesen Fällen kann die höhere Selektivität des MRM-Modus dabei helfen, diese Effekte zu minimieren, um so die Zielverbindungen exakter zu quantifizieren.

Analysebedingungen für den MRM-Modus festzulegen, ist normalerweise ein schwieriger und zeitraubender Prozess. Die Smart Aroma Database allerdings kann MRM-Methoden für die ausgewählten Verbindungen automatisch erstellen und stellt so sicher, dass detaillierte Analysen im MRM-Modus einfach und ohne besondere Erfahrung oder zeitaufwendige Schritte durchgeführt werden können. Abbildung 4 ist ein Vergleich der Analyseergebnisse im SIM- und MRM-Modus. Er zeigt, dass in der Nähe der Zielverbindungen im SIM-Modus eine große Anzahl verunreinigender Peaks vorliegt, dass diese Ziele aber mit größerer Selektivität im MRM-Modus erkannt werden. Für Kosmetika und andere Proben mit komplexen Matrizen kann der MRM-Modus daher eine effiziente Möglichkeit sein, die Auswirkungen von Verunreinigungen zu unterdrücken und eine präzisere Quantifizierung und Datenanalyse zu erreichen – mit weniger Aufwand.

→

Abbildung 4: Analysenvergleich SIM- und MRM-Modus

Smarte Datenbanken zeigen Wirkung

Mithilfe der Smart Aroma Database von Shimadzu ließen sich 31 Aromaverbindungen in einem Lipgloss schnell identifizieren. Damit konnte die Präzision und Effizienz einer qualitativen Analyse von Aromaverbindungen gesteigert werden, indem Ähnlichkeitswerte aus Massenspektren genutzt wurden, die mit der Aromaverbindungsbibliothek berechnet wurden. Die in der Database enthaltene Bibliothek kann die Kandidatenliste eingrenzen, anstatt nur Massenchromatogramme und Spektren zur Identifizierung einzusetzen. Außerdem kann die Smart Aroma Database eingesetzt werden, um SIM- und MRM-Methoden für differenziertere Analysen von Aromaverbindungen in Kosmetika oder anderen Proben mit komplexen Matrizen einfach zu erstellen.

Verbindung	Ähnlichkeitswert	Verbindung	Ähnlichkeitswert
1-Butanol	95	Limonen	96
Methylbutanoat	96	Benzylalkohol	94
Ethylisobutyrat	92	Diethylmalonat	93
Ethylbutanoat	96	(E)-Linalooloxid	84
Ethyllactat	92	Pentylbutyrat	92
Butylacetat	97	Linalool	96
Ethyl-2-Methylbutyrat	96	Nonanal	94
cis-3-Hexenol	80	Benzylacetat	94
Isoamylacetat	97	(Z)-3-Hexenylbutyrat	96
Methylhexanoat	96	Hexylbutyrat	85
Benzaldehyd	94	Ethylactanoat	92
Ethylhexanoat	94	n-Decanal	95
Octanal	88	Benzylbutyrat	81
(3Z)-3-Hexenylacetat	95	Methylcinnamat	86
Hexylacetat	98	gamma-Decalacton	93
		gamma-Undecalacton	93

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.



Tabelle 2: Ergebniszusammenfassung der Identifizierung

Nährwertbestimmung und Betrugserkennung

Durch den kombinierten Einsatz von GC-2030 und GCMS-QP2020NX lassen sich bei der Analyse von Speiseölen mehr Informationen erfassen

*Fotis Fotiadis, MSc Chemist, Dr. Manos Barmounis,
N. Asteriadis SA, Athen, Griechenland*

*Prof. Peter A. Roussos, Asimina-Georgia Karyda, MSc Agronomist,
Dep. of Crop Science, Agricultural University of Athens*



Die Gaschromatographie (GC) hat sich als Verfahren für die Detektion und Quantifizierung von Fettsäuren in Speiseölen bewährt – insbesondere in Kombination mit dem Flammenionisationsdetektor (GC-FID). Die Quantifizierung von Fettsäuren in Speiseölen ist nützlich, um den Nährwert der Öle zu bestimmen und Betrug aufzudecken. Das GC-FID-Verfahren hat jedoch gewisse Einschränkungen, die Forscher nun durch die ergänzende Anwendung von GC-MS für die Analyse von sechs Speiseölen überwinden konnten. Das kombinierte Verfahren kam anschließend noch zum Nachweis von Squalen in drei Proben zur Anwendung.

Die Reinheit von Speiseölen sicherstellen

Speiseöle mit einem hohen Anteil an einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) und mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) weisen einen hohen Nährwert auf. Diese Speiseöle haben einen positiven Effekt auf die menschliche Gesundheit und Entwicklung. So senken sie beispielsweise das Risiko, an kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes und Alzheimer zu erkranken, und unterstützen die Prävention und Behandlung von Krebs.[2]

Betrugsfälle aufdecken

Vor allem mit Blick auf den korrekten Nährwert ist es daher wichtig, dass Verbraucher wissen, was sie kaufen. Die Verantwortung dafür obliegt in der Regel den staatlichen Stellen für Lebensmittelsicherheit und -kennzeichnung. Bei Speiseölen sind Aufsichtsbehörden häufig mit Betrugsfällen konfrontiert, in denen höherwertige Öle mit minderwertigeren gestreckt werden. Solche Fälle lassen sich häufig allein mit gründlichen Testverfahren aufdecken.

Die Gaschromatographie (GC) hat sich als Methode für die Detektion und Quantifizierung von Fettsäuren in Speiseölen bewährt – insbesondere in Kombination mit einem Flammenionisationsdetektor (GC-FID). Jedoch liefert GC-FID keine Informationen zur Identität der gemessenen Peaks, sodass zur Bestätigung der Messergebnisse Referenzstandards injiziert werden müssen.

Deshalb entschied sich eine Gruppe von Forschern, das häufig angewendete Verfahren mit einem neuen Verfahren zu vergleichen: der Gaschromatographie gekoppelt mit einem Massenspektrometer (GC-MS). Unterstützung bekamen sie von Shimadzu, dem Hersteller der Messgeräte, die für diesen Test erforderlich waren. Anschließend wurden insgesamt fünf verschiedene Arten von Speiseölen sowohl mittels GC-FID als auch mittels GC-MS untersucht und analysiert.



Versuchsvorbereitung

Für die Gaschromatographie müssen Fettsäuren derivatisiert werden, damit sie ausreichend volatil sind, um bei niedrigeren Temperaturen ohne thermische Zersetzung eluiert werden zu können. Methylester sind häufig untersuchte Derivate, die durch Methylierung hergestellt werden. Für das angewandte Verfahren werden die Esterbindungen hydrolysiert, um freie Fettsäuren freizusetzen, die zur Bildung von Fettsäuremethylester (FAME) transmethyliert werden. Das entsprechende FAME-Profil, das mittels GC festgestellt wird, bezeichnet man als Fettsäurezusammensetzung.

Analytische Bedingungen: GC-FID

Gaschromatograph:

Shimadzu GC-2030 mit AOC-20i+s, Split-/Splitless-Injektor, FID

Kapillarsäule:

MEGA-10 (30 m × 0,25 mm ID, 0,25 µm Schichtdicke)

Parameter	Werte
Split-Injektor-Temperatur	245 °C
Split-Verhältnis	200
FID-Temperatur	245 °C
FID-Luftstrom	200 ml/min
FID-Wasserstoff	32 ml/min
FID-Make-up-Gas	24 ml/min
Trärgas	He
Lineare Geschwindigkeit	31,3 cm/sec
Säulendurchfluss	1,1 ml/min
Ofentemperaturprogramm	150 °C → 12 min 1 °C → 175 °C → 5 min 3 °C → 200 °C → 1 min
Säule	MEGA-10 (30 m * 0,25 mm, 0,25 µm)

Tabelle 1: FAME-Methodenparameter der GC-FID-Analyse

Analytische Bedingungen: GC-MS

Gaschromatographie-Massenspektrometrie:

Shimadzu Nexis GCMS-QP2020NX mit AOC-30i+s, Split-/Splitless-Injektor

Kapillarsäule:

MEGAWAX_MS (30 m × 0,25 mm ID, 0,25 µm Schichtdicke) →

Parameter	Werte
Split-Injektor-Temperatur	240 °C
Split-Verhältnis	200
Trärgas	He
Lineare Geschwindigkeit	31,3 cm/sec
Säulendurchfluss	1,2 ml/min
Acquisition-Modus	Scan (40–500 m/z)
Ionenquellen-Temperatur	220 °C
Interface-Temperatur	240 °C
Ofentemperaturprogramm	150 °C → 5 min 2 °C → 175 °C → 5 min 12 °C → 200 °C → 5 min 10 °C → 240 °C → 10 min
Säule	MEGA-WAX_MS (30 m * 0,25 mm, 0,25 µm)

Tabelle 2 : FAME-Methodenparameter der GC-MS-Analyse



Ergebnisse

Der FAME-Gehalt wurde für jedes Speiseöl mittels GC-FID und GC-MS separat berechnet. Die Verhältnisse von einfach und mehrfach ungesättigten Fettsäuren wurden ebenfalls bestimmt. Ölsäure ist die wichtigste einfach ungesättigte Fettsäure in Speiseölen, während als mehrfach ungesättigte Fettsäuren hauptsächlich Linol- und Linolensäure vorkommen. Tabelle 3 und 4 führen die Gesamtergebnisse für den Anteil von Fettsäuren in fünf verschiedenen Speiseölen auf.

FAME	Olivenöl		Oliventresteröl		Maiskeimöl		Sojaöl		Hanföl	
	GC-Fläche (%)	GC-MS-Fläche (% TIC)	GC-Fläche (%)	GC-MS-Fläche (% TIC)	GC-Fläche (%)	GC-MS-Fläche (% TIC)	GC-Fläche (%)	GC-MS-Fläche (% TIC)	GC-Fläche (%)	GC-MS-Fläche (% TIC)
C14:0	0,013	–	–	0,02	0,012	0,04	0,024	0,11	–	0,05
C16:0	11,060	11,72	12,604	13,22	11,286	13,64	10,644	12,29	6,126	7,33
C16:1	0,938	0,98	1,049	1,12	0,136	0,16	0,087	0,11	0,166	0,18
C17:0	0,041	0,04	0,066	0,06	0,064	0,07	0,080	0,10	0,054	0,06
C17:1	0,073	0,08	0,091	0,10	0,036	0,03	0,053	0,05	0,022	0,03
C18:0	2,429	2,68	2,625	2,97	1,969	2,36	3,871	4,73	2,254	2,78
C18:1	77,291	76,74	69,477	68,76	31,808	34,92	25,117	28,66	22,374	25,67
C18:2	6,470	6,00	12,207	11,65	52,594	46,40	52,955	46,87	49,416	45,28
C18:3	0,764	0,59	0,733	0,69	1,011	0,92	5,894	5,38	17,534	15,95
C20:0	0,424	0,50	0,483	0,58	0,425	0,55	0,448	0,48	0,836	1,10
C20:1	0,313	0,35	0,363	0,45	0,338	0,44	0,189	0,33	0,651	0,77
C22:0	0,125	0,21	0,199	0,25	0,147	0,22	0,479	0,68	0,400	0,59
C24:0	0,058	0,11	0,103	0,13	0,174	0,25	0,159	0,22	0,168	0,21
	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000

Tabelle 3: Fettsäuregehalt (%) in Olivenöl, Oliventresteröl und Maiskeimöl

Tabelle 4: Fettsäuregehalt (%) in Soja- und Hanföl

Auffällig ist, dass sich die mittels GC-FID erlangten Ergebnisse nicht unmittelbar mit den Ergebnissen der GC-MS für alle Proben vergleichen lassen. Wir stellen fest, dass der gemessene SFA-Gehalt beim GC-MS-Verfahren höher war als bei GC-FID. Umgekehrt wurden beim GC-FID-Verfahren höhere PUFA-Verhältnisse (Linol-, Linolensäure) festgestellt. Daraus wird gefolgert, dass die GC-MS-Analyse von FAME unabhängig vom Probenotyp zu einer Überschätzung des SFA-Gehaltes führt.



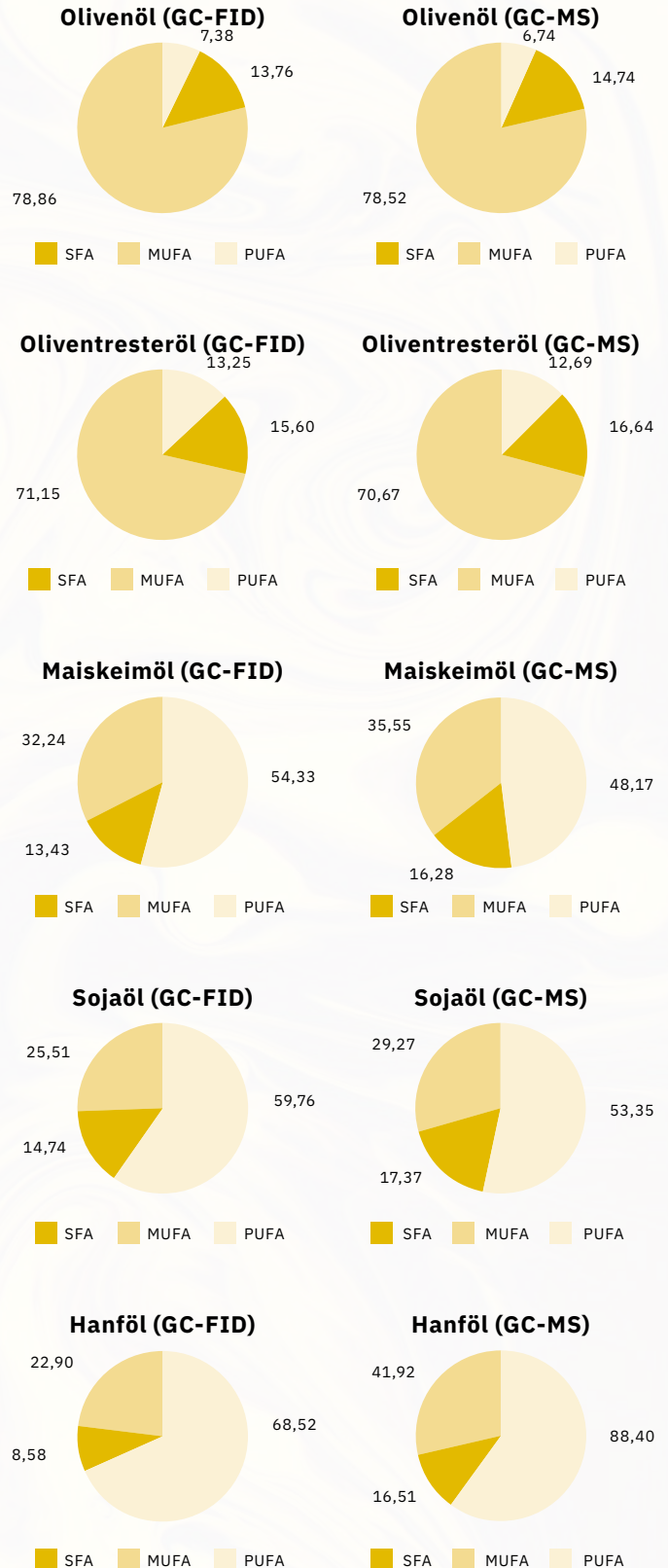
Verhältnis von MUFA zu PUFA

Das Verhältnis von Öl- zu Linolsäure bzw. von Öl- zu Linolensäure wurde in allen fünf Speiseölen untersucht (Tabelle 5). Die beiden Verfahren ergeben signifikant unterschiedliche Ergebnisse für das Verhältnis von MUFA (Ölsäure) zu PUFA (Linol- und Linolensäure). Die Abweichungen bei der Peakfläche spiegeln sich auch in den Verhältnissen der Fettsäuren wider. Grund dafür ist, dass der Gehalt der PUFA (Linol-, Linolensäure), der im Nenner der entsprechenden Bruchrechnung steht, bei der GC-MS-Analyse unterschätzt wird. →

SPEISE-ÖLE	Ölsäure/ Linolsäure		Ölsäure/ Linolensäure	
	GC-Verhältnis	GC-MS-Verhältnis	GC-Verhältnis	GC-MS-Verhältnis
Olivenöl	11,95	12,79	101,30	130,09
Oliven-tresteröl	5,69	5,89	94,75	99,89
Maiskeimöl	0,60	0,75	31,65	38,09
Sojaöl	0,47	0,61	4,26	5,33
Hanföl	0,45	0,57	1,28	1,61

Tabelle 5: Verhältnis von Öl- zu Linolsäure bzw. Öl- zu Linolensäure in Speiseölen

- Abbildung 1: Gehalt (%) von SFA, MUFA, PUFA in Olivenöl und Oliventresteröl
- Abbildung 2: Gehalt (%) von SFA, MUFA, PUFA in Soja- und Hanföl



SFA – MUFA – PUFA

Der Anteil an SFA, MUFA und PUFA in den fünf Speiseölen wurde miteinander verglichen. Für die Gruppe der SFA wurden Peaks von Palmitin- und Stearinsäure, für die Gruppe der MUFA ein Peak von Ölsäure und für die Gruppe der PUFA die Summe der Peakflächen von Linol- und Linolensäure gewählt.

Die Werte für den MUFA-Gehalt in Olivenöl und Oliventresoreröl waren beim GC-FID- und beim GC-MS-Verfahren identisch. Der hohe Anteil an Ölsäure in diesen Proben (> 65 %) eliminierte die Abweichungen bei den SFA- und den PUFA-Werten. Dies war ein Unterschied zu den restlichen Proben, wo die Prozentwerte signifikante Abweichungen aufwiesen. Mit dem GC-MS-Verfahren wurde ein deutlich höherer SFA-Gehalt (Palmitin- und Stearinsäure) gemessen.



Abbildung 3: GC-2030

Die Auswertung der Ergebnisse

In dieser Studie wurden fünf Speiseölproben sowohl mittels GC-FID als auch mittels GC-MS analysiert. Der Vergleich der quantitativen Ergebnisse beider Verfahren ergab, dass GC-FID trotz der Entwicklung neuer Messgeräte weiterhin das Referenzverfahren für die quantitative Analyse von Fettsäuren ist.

Dennoch hat sich das GC-MS-Verfahren für die Analyse von Speiseölen eindeutig als nützlich erwiesen. Insbesondere durch die Kombination der hohen Leistung des GC-2030 bei der Zielanalyse mit der hohen Empfindlichkeit des GCMS-QP2020NX zur Erfassung von Strukturinformationen für eine große Anzahl von Verbindungen in jeder Probe konnten die Forscher zeigen, wie viel mehr Daten sich erfassen ließen.

Zusammenfassend lässt sich sagen: Mittels GC-FID lassen sich die Mengen bei bekannten Peaks eindeutig bestimmen, während die hohe Empfindlichkeit der GC-MS die Detektion weiterer Verbindungen für unbekannte Peaks und somit ein gründlicheres Screening der Proben ermöglicht.



Abbildung 4: GCMS-QP2020NX

Der Mehrwert des GC-MS-Verfahrens

Um diese Schlussfolgerung zu belegen, nutzten die Forscher GC-MS-Daten zur Identifizierung von Squalen in drei Proben. Squalen ist ein natürlich vorkommendes Triterpen und dient als biochemischer Vorläufer von Sterinen.

Das Massenspektrum von Squalen wurde im Masse-zu-Ladung-Verhältnis von 40–500 m/z gemessen. Nach der Identifikation der am häufigsten vorkommenden und typischsten Ionen unter Scan-Bedingungen wurde die Technik des Selected Ion Monitoring (SIM) angewendet.

In drei der untersuchten Speiseöle (Olivenöl, Oliventresteröl, Maiskeimöl) konnte Squalen in unterschiedlicher Konzentration festgestellt werden. Die Bestimmung von Squalen mittels GC-MS erfolgte über die Retentionszeit; zur Bestätigung der Strukturformel wurden die Datenbanken NIST-20 und Wiley-7 herangezogen. Die Datenbanksuche nach dieser Zielverbindung ergab einen Ähnlichkeitsindex von 90 %. Auch das Vorhandensein von $m/z:69$ als Ziel-Ion und von $m/z:81$, $m/z:41$ als Referenzen zur selben Retentionszeit bestätigte den Nachweis von Squalen.

Durch Ergänzung von GC-FID mit GC-MS konnte neben der Bestimmung von Fettsäuren auch bestätigt werden, dass Olivenöl die wichtigste Squalenquelle unter den Speiseölen ist. Oliventresteröl wies einen geringeren Gehalt auf; dieser fiel in Maiskeimöl noch niedriger aus. In Hanf- und Sojaöl wurde gar kein Squalen festgestellt.



Genauere Ergebnisse durch kombinierte Verfahren

In dieser Studie konnten die Forscher nachweisen, dass GC-FID für die Analyse von Fettsäuren in Speiseölen am besten geeignet ist. Die Integration von Total Ion Chromatograms (TIC) lieferte hingegen keine zuverlässigen Ergebnisse. Obwohl GC-FID eine sehr hohe Leistung bei der quantitativen Analyse erzielt, lässt sich damit lediglich eine sehr kleine Gruppe von Verbindungen feststellen. Im Rahmen dieser Studie konnte deshalb auch nachgewiesen werden, dass sich durch die ergänzende Anwendung von GC-MS ein breiteres Spektrum an Verbindungen detektieren lässt.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.

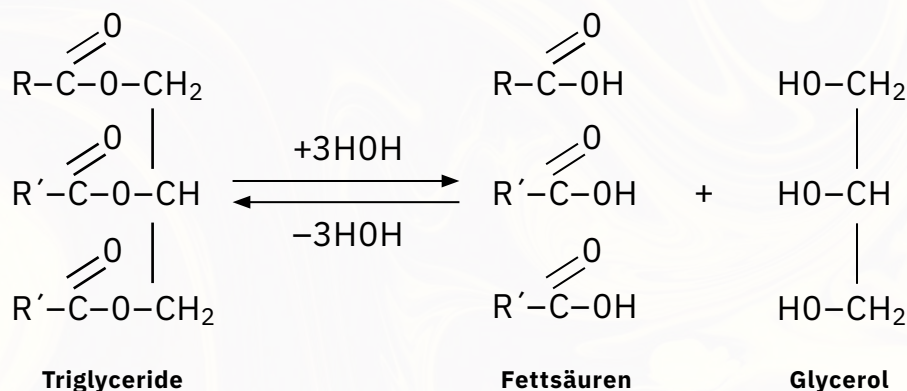


Abbildung 5: Durch Hydrolyse in Fettsäuren und Glycerol gesplattene Triglyceride

**AAIC**

Amsterdam, Niederlande
16.–20.07.2023

**TIAFT**

Rom, Italien
27.–31.08.2023

**Dioxin**

Maastricht, Niederlande
10.–14.09.2023

**ISEO**

Messina, Italien
13.–16.09.2023

**IATDMCT**

Oslo, Norwegen
24.–27.09.2023

**VLB**

Berlin, Deutschland
09.–10.10.2023

secrets of science
magazine

Kundenzeitschrift der
Shimadzu Europa GmbH,
Duisburg

Herausgeber

Shimadzu Europa GmbH
Albert-Hahn-Str. 6–10
D-47269 Duisburg
Tel.: +49(0)203 7687-0
shimadzu@shimadzu.eu
www.shimadzu.eu

Redaktion

Uta Steeger,
Sonja Wischnewsky,
Andrea Wagner-Neumann,
Christopher Brünn

Gestaltung

Bartenbach AG
Kaufmannshof 1
D-55120 Mainz

Auflage

Deutsch: 4.750
Englisch: 4.185

©Copyright

Shimadzu Europa GmbH,
Duisburg, Juni 2023.
Nachdruck, auch auszugs-
weise, nur mit Geneh-
migung der Redaktion.



Noch mehr Einblicke

Sie wollen noch tiefer in die Themen des „Secrets of Science“ Magazins abtauchen? Die digitale Version bietet zu jedem Artikel noch mehr Insights, wie zusätzliche Chromatogramme, Tabellen und inhaltliche Details. Gehen Sie also den Geheimnissen der Wissenschaft auf den Grund.



Digitale Version
shimadzu-webapp.eu

