

NEWS

*Solutions for Science
since 1875*

GCMS-QP2010 *Ultra*
GAS CHROMATOGRAPH MASS SPECTROMETER
 SHIMADZU

Neu: GCMS-QP2010
Ultra: Der Taktgeber

AA-7000G:
Quecksilber in der
Nahrungskette!

UHPLC LC-30A
Nexera: Der praktische
Einsatz

Eine neue Ära:
LC-20AP – Präparative
HPLC Pumpe

APPLIKATION

- Ein Weltenbummler** – Spektroskopische Techniken für die Analyse von Kunststoffverpackungen »5
- Quecksilber in der Nahrungskette** – Quecksilberbestimmung mit Graphitofen »8
- Wie gesund ist Olivenöl?** – Bestimmung von PAKs in Lebensmitteln nach EFSA »10
- Der Schein kann trügen** – HPLC-Analyse von Mykotoxinen »12
- Umfassende Duftstoffanalytik** – Einfache und präzise Bestimmung der Zusammensetzung und Geruchsintensität »14
- Schwermetalle in Kunststoffverpackungen** – Bestimmung mit ICP-OES »16
- Definierte lineare und zyklische Oligomere mittels Recycling-GPC** »20

PRODUKTE

- Der Taktgeber** – Hochgeschwindigkeitsanalyse mit ASSP – Das neue GCMS-QP2010 Ultra und SE mit der ChromSquare-Software »2
- UHPLC im praktischen Einsatz** – LC-30A Nexera »23
- Die neue Ära** – Präparative HPLC Pumpe LC-20AP vorgestellt »26
- Der Zeit voraus** – Zugprüfregelung mit Köpfchen »28

FUER SIE GELESEN

- TOC-Analytik an Reinwasser und Reinstwasser** »18



Takt angehend – das neue GCMS-QP2010 Ultra



Der Taktgeber

Hochgeschwindigkeitsanalyse mit ASSP – Das neue GCMS-QP2010 Ultra und SE mit der ChromSquare-Software

IMPRESSUM

Shimadzu NEWS, Kundenzeitschrift der Shimadzu Europa GmbH, Duisburg

Herausgeber:
Shimadzu Europa GmbH
Albert-Hahn-Str. 6-10 · 47269 Duisburg
Telefon: (02 03) 76 87-0
Telefax: (02 03) 76 66 25
shimadzu@shimadzu.eu
www.shimadzu.eu

Redaktion:
Uta Steeger · Telefon: (02 03) 76 87-410
Ralf Weber, Tobias Ohme

Gestaltung und Produktion:
m/e brand communication GmbH GWA
Düsseldorf

Auflage: Deutsch: 7.900 · Englisch: 22.860

©Copyright:
Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Juli 2010. Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit Genehmigung der Redaktion gestattet.

Windows ist Warenzeichen der Microsoft Corporation.

Extrem starke Leistung für höchste Ansprüche: Dies erfüllt das neue GCMS-QP2010 Ultra. Es erreicht Scangeschwindigkeiten, mit denen kein anderes Quadrupol GCMS konkurrieren kann. Mit einem Maximalwert von 20.000 amu/s konnte die Geschwindigkeit verdoppelt werden verglichen mit einem GCMS der vorherigen Generation. Diese außerordentliche Leistungsfähigkeit wird durch das patentierte Advanced Scanning Speed Protocol (ASSP) erreicht. Durch Einsatz dieser einzigartigen Technologie wurde ein Durchbruch hinsichtlich Nachweisempfindlichkeit erreicht, und dies auch in der Routineanalytik (SE Modell). Verglichen mit

Daten, die ohne ASSP erhoben wurden, konnte die Nachweisempfindlichkeit für Verbindungen mit großer Molmasse um den Faktor 5 gesteigert werden (Abbildung 1 und Tabelle 1). Die Daten bei hoher Scangeschwindigkeit zeigen eine exzellente Linearität für HCB in der Spurenanalytik (5 pg) bis hin zu hohen Konzentrationen (20 ng).

Die Comprehensive GC ist ein Anwendungsgebiet mit höchster Bedeutung hinsichtlich Geschwindigkeit des massenspektrometrischen Detektors. Auch wenn der Vorgänger des Ultra das GCMS-QP2010 Plus, schon ausgezeichnete Ergebnisse lieferte übertrifft das Ultra diese Lei-

stungsfähigkeit deutlich. Das führt zu einer noch höheren Auflösung der Peaks (Abbildung 2a) und 2b) und einem besseren Identifikationsvermögen.

Von Analytikern für Analytiker – die neue ChromSquare-Software

Um einen Vorteil aus den neuen Konstruktionsmerkmalen zu ziehen, wurde mit der ChromSquare-Software eine neue Analyse-Software für die Comprehensive Chromatographie eingeführt. Im Labor von Prof. Luigi Mondello an der Universität von Messina von Analytikern für Analytiker entwickelt, bietet ChromSquare alle Möglichkeiten

Follow us on:
www.twitter.com/ShimadzuEurope

für quantitative und qualitative Analysen. Darüber hinaus macht die Software auch die Datenbearbeitung sehr leicht. Ein simpler Klick startet eine Bibliotheksrecherche für ein Signal im Kontourplot. ChromSquare nutzt bis zu fünf Bibliotheken gleichzeitig, eingeschlossen derjenigen des Anwenders. Dank gleichzeitiger Anzeige der Rohdaten eines Chromatogramms und des Konturplots in einem Fenster haben die Anwender jederzeit einen Überblick über ihre Daten (Abbildung 3).

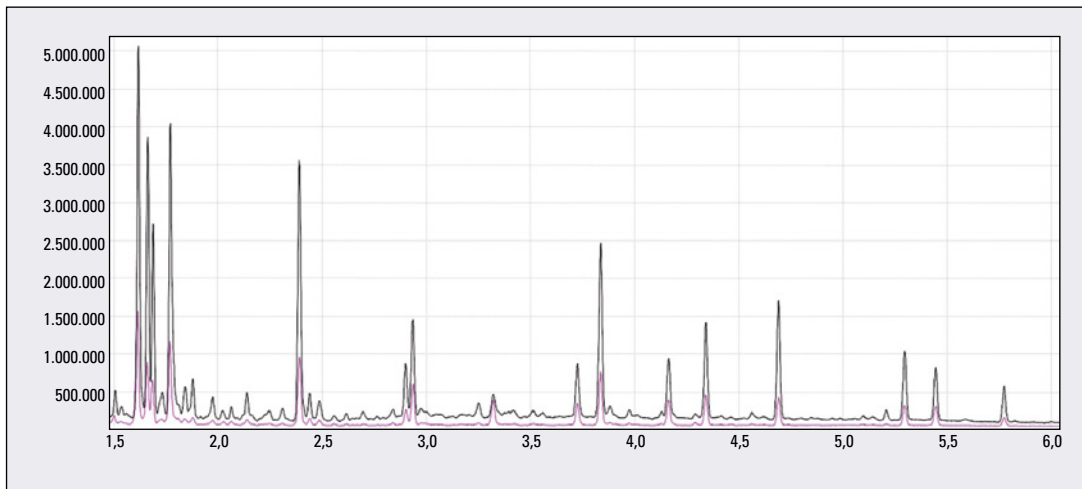


Abbildung 1: Chromatogramm von Pharmaka mit ASSP aus- (rosa) und eingeschaltetem (schwarz) ASSP. (Hochgeschwindigkeits-GCMS-Analyse).

SIM/Scan in einem Lauf mit unerreichter Datenqualität

Bei der GCMS-Analyse führen SIM- und Scan-Messungen nach einem Lauf im Comprehensive-Modus zu Ergebnissen von bisher nicht erreichter Qualität. Beispielsweise wurde die minimale Verweildauer für SIM auf 1 ms reduziert. Nun ist es mit der Comprehensive GC(qMS) möglich, Zielsubstanzen noch präziser zu quantifizieren und gleichzeitig andere in der Probe vorhandene Verbindungen zu identifizieren. Alle diese Daten lassen sich leicht unter Einsatz der ChromSquare-Software bearbeiten (Abb. 4).

Verbindung (med. Chemikalien)	Q-Ion (m/z)	ASSP ein (SN-Wert)	ASSP aus (SN-Wert)	Faktor
Valproinsäure-TMS	201	482,49	42,91	11,2
Uracil-2TMS	241	1040,24	158,03	6,6
Quetiapin-TMS	245	156,91	21,93	7,2
Nicotinamid-TMS	179	522,1	178,58	2,9
Cotinin	176	174,14	35,03	5,0
Lidocain-TMS	220	656,87	82	8,0
Coffein	194	411,36	80,48	5,1
Lidocain	86	69,5	66,54	1,0
Theophyllin-TMS	237	496,22	80,12	6,2
3-Isobutyl-1-methyloxanthin-TMS	194	377,87	54,66	6,9
Atropin-TMS	124	756,41	203,38	3,7
Promethazin	180	28,37	4,94	5,7
Clomipramin	268	67,45	4,22	16,0
Quetiapin	210	5,52	0,96	5,8
Trazodon	205	2,99	1,08	2,8

Tabelle 1: Quantitative Drogenanalyse mit ASSP ein/aus

Zahlreiche Funktionen für eine verbesserte Produktivität im Labor

Ein Teil des neuen GCMS-QP2010 Ultra-Systems ist der

GC-2010 Plus. Mit Hilfe des „Doppeljet-Kühlsystem“ wird der GC-2010 Plus-Ofen schnell gekühlt, zum Beispiel in 2,7 Minuten von 350 °C auf 50 °C

(Abbildung 5). Dies vermindert die Analysedauer erheblich, insbesondere in Anwendungsbereichen, bei denen VOCs analysiert werden (volatile organic com-

pounds = flüchtige organische Verbindungen). Im Falle einer VOC-Analyse sind mitunter sehr geringe Starttemperaturen im Ofen erforderlich. ▽

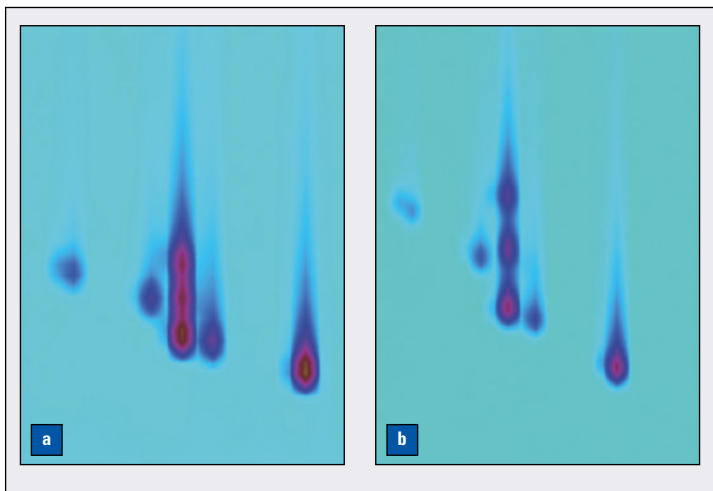


Abbildung 2: Kontour-Plot der Comprehensive-Daten: a) Erfassungsrate mit 10.000 amu/s, b) Erfassung mit 20.000 amu/s

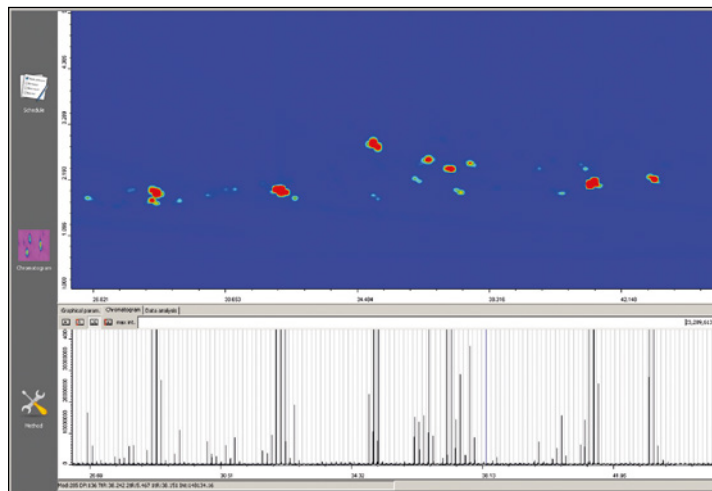


Abbildung 3: ChromSquare-Software für die Comprehensive-Datenanalyse: zeitliche Anzeige von Rohdaten und Kontour-Plot

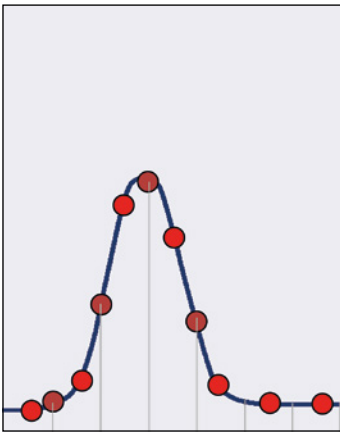


Abbildung 4: Hochfrequent alternierende SIM- und Scan-Messungen (hellrot: SIM, dunkelrot: Scan)

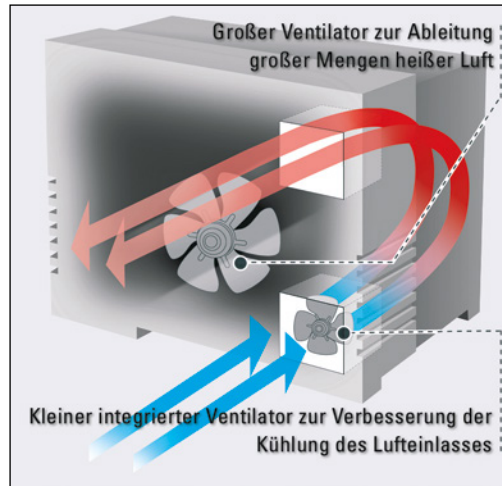


Abbildung 5: „Double jet cooling system“ des GC-2010 Plus

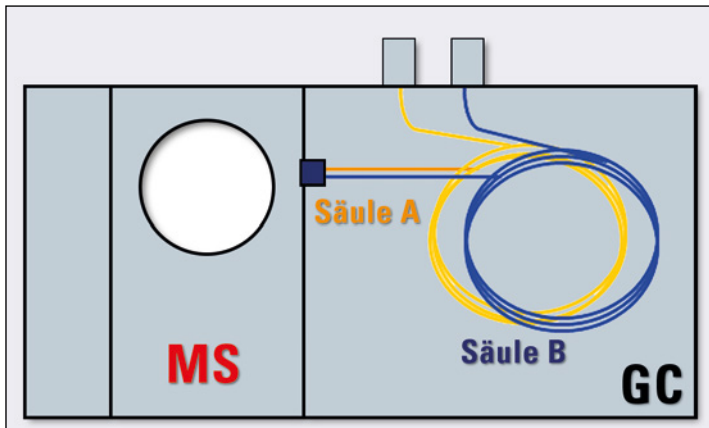
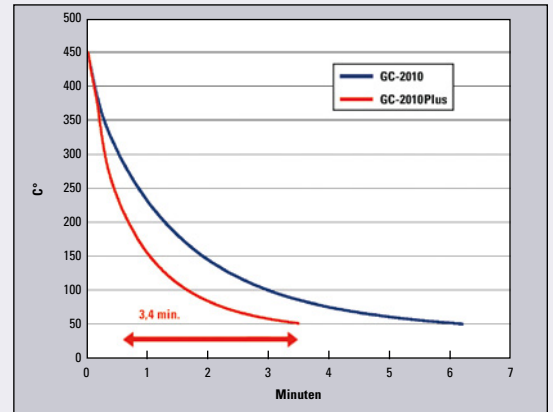


Abbildung 6: Die Twin-Line-Konfiguration des GCMS-QP2010 Ultra

Bei älteren Systemen kann es einige Zeit dauern, bis diese Starttemperatur erneut erreicht ist. Ein neues Twin Line MS-System:

Durch Anflanschen von zwei unterschiedlichen Säulen an das MS-System ist es möglich, problemlos Analysedaten mit unterschiedlichen Säulen zu aufzunehmen, ohne Manipulationen an den Säulen oder das MS zu Belüften (Abbildung 6).

Mit dem Quick-Changer-System Easy sTop von Shimadzu lassen sich sogar Septum und Liner austauschen, ohne das Vakuum zu brechen, wodurch wertvolle Zeit gespart wird (Abbildung 7).

Der Autosampler AOC-20 erlaubt die Programmierung einer zweistufigen Derivatisierungstechnik, wodurch die mühsame

Derivatisierungsarbeit im Labor überflüssig wird.

GCMSolution Version 2.6 ist jetzt noch einfacher zu bedienen

Bei der Analyse von Substanzdaten im Ultra-Spurenbereich ist es wichtig, die unteren Nachweisgrenzen zu kennen und den Einfluss wechselwirkender Verbindungen einzubeziehen. Um eine genauere Datenanalyse zu liefern, lassen sich daher solche Daten nun verarbeiten, indem die laufende Analyse mit Referenzdaten in der Nähe der unteren Nachweisgrenze oder mit Probenanalysen verglichen werden, denen Substanzen zugegeben wurden.

Die Daten lassen sich auch mit externen Signalen vergleichen wie beispielsweise von einem ECD, FPD, einem anderen GC-Detek-

tor oder einer Schnüffelsonde erhoben, um einen breiteren Bereich von Datenverarbeitungsanwendungen zu ermöglichen.

Das erste umweltfreundliche GCMS

Das GCMS-QP2010 Ultra ist nicht nur das schnellste und empfindlichste GCMS-System, sondern es ist auch umweltfreundlich. Alle Bauteile stimmen mit den RoHS-Vorschriften der Europäischen Union überein. Im Ecology-Modus spart das GCMS auch Energie. Im Standby-Modus wird der Energieverbrauch im Vergleich zu früheren GCMS-Systemen um 36 % reduziert.

Ist der Ecology-Modus eingeschaltet, wird ein unnötiger Energieverbrauch des GC, MS und PC automatisch vermieden. Der Trägergasverbrauch ist ebenfalls um 60 % vermindert. Der Ecology-Modus lässt sich im Anschluss an eine Analysenserie automatisch starten, zum Beispiel nach Abschluss einer über Nacht ausgeführten Analyse. Auf diese Weise kann ein GCMS-QP2010 Ultra bis zu 1,1 Tonnen CO₂ im Jahr sparen.

Wir schicken Ihnen weitere Informationen gerne zu. Bitte notieren Sie hierfür die entsprechende Kennziffer auf der Antwortkarte. **Info 376**



Abbildung 7: Das Easy sTop-System für schnellen Liner-Austausch

Ein Weltenbummler

Spektroskopische Techniken für die Analyse von Kunststoffverpackungen

Der Apfel ist die populärste kultivierte Baumfrucht. 64 Mio. Tonnen Äpfel wurden 2008 weltweit angebaut. China produzierte mit 27,5 Mio. Tonnen über 40 % der Gesamtmenge. Mit etwa 7 % der Weltproduktion belegen die USA den zweiten Platz im Apfelanbau.

Die Forschung weist darauf hin, dass Äpfel das Risiko von Dickdarm, Prostata und Lungenkrebs vermindern könnten. Sie sind eine reichhaltige Quelle von antioxidanten Verbindungen. Darüber hinaus könnten sie auch helfen, Herzerkrankungen zu bekämpfen.

Äpfel werden weltweit angebaut und konsumiert. Sie sind Weltenbummler. Um sie in einem guten Zustand und in bester Beschaffenheit für Markt und Konsumenten bereit zu stellen, müssen sie gut behandelt werden, um nach ihrer Reise wohlbehalten anzukommen.

Transportvorbereitung und Verpackungsprozesse sind im Apfelanbau automatisiert. Moderne Anlagen sortieren die Früchte nach Größe und Qualität und packen sie in einen Karton. Wichtige Verpackungskriterien sind:

1. Der Inhalt muss ein einheitliches Erscheinungsbild haben – die Äpfel müssen die gleiche Größe und Farbe besitzen.
2. Die Verpackung muss die Äpfel vor mechanischer Einwirkung schützen.
3. Die Verpackung muss neu, sauber und mit aufgedruckten Bezeichnungen und Informationen versehen sein.

Kartons gelten als das beste Transportmittel für Äpfel. Eine speziell konstruierte Einlage schützt die Früchte und verhindert ihr Verrutschen. Die in Abbildung 1 gezeigte Einlage hat zwei Bereiche: einen faserverstärkten, der die Früchte einfasst (Abbildung 2), und einen weichen und glatten Bereich (Abbildung 3). Im Folgenden wird eine Kunststoff-Einlage für eine Kartonverpackung analysiert.

Die Anwendung zeigt, wie FTIR, EDX und ICP-Techniken einander ergänzen. Während FTIR und EDX die Proben nicht zerstören, benötigt ICP eine Probenaufbereitung, ermöglicht aber bessere Nachweiskgrenzen bezüglich der Elemente in der Probe.

Moderne Analysetechniken

Das Material wurde mit Molekül-Spektroskopie, repräsentiert durch FTIR, analysiert sowie mit der Elementanalytik durch die EDX und ICP-Technik. Der Vorteil von FTIR und EDX besteht darin, dass sie die Probe während der Analyse nicht zerstören. Ein Vorteil der ICP liegt in der Multielement Analytik mit einer einzigen Messung, weitgehend unabhängig von der Konzentration der interessierenden Elemente.

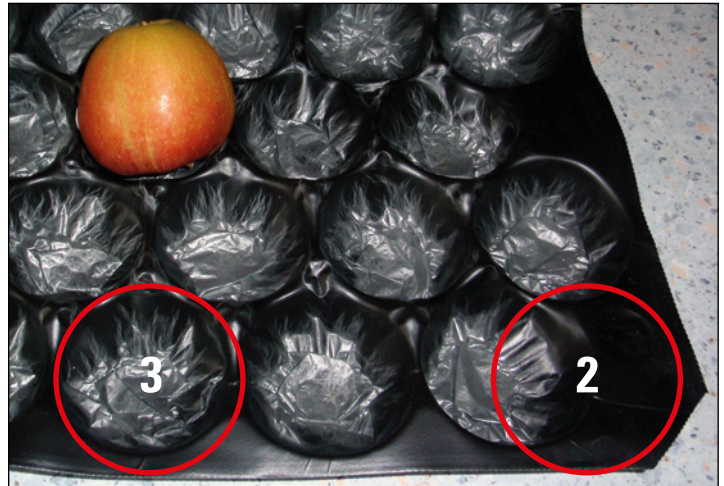


Abbildung 1: Ein Apfel in der Kunststoffolie/einlage mit spezifischen Abmessungen für den Transport der Früchte. Die roten Kreise umgrenzen die beiden Analysebereiche, die in Abbildung 2 und 3 dargestellt sind.



Abbildung 2: Oberfläche des schwarz gefärbten Folienteils, ein raues und festes Polymer. Es stammt vom Rand der Einlage wie in Abbildung 1 gezeigt.

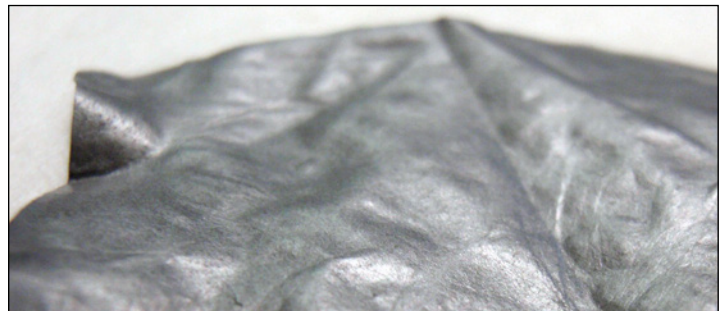


Abbildung 3: Oberfläche des silbergrau gefärbten, sehr dünnen weichen Folienteils

Analyse mit FTIR IRAffinity-1

Eine Probe der Einlage wurde ohne chemische Vorbehandlung analysiert. Da das Material in Abbildung 3 sehr dünn war, konnte eine Messung im Transmissionsmodus durchgeführt werden. In Abbildung 4 sind die Ergebnisse dargestellt. Das Infrarotspektrum zeigt ein Polypropylen-Spektrum, was aufgrund der auf der Einlage aufgedruckten Bezeichnung „PP“ zu erwarten war. Interesse weckt ein Blick auf die Basislinie dieser Messung, die eine starke Flanke zeigt. Die Steigung in der Basislinie der Einlage ist vergleichbar dem Christiansen-Effekt von Partikeln in einem KBr-Pressling (Kaliumbromid), welcher für Transmissionsmessungen bekannt ist. Aufgrund dieser Kenntnis ist zu erwarten, dass einige Festpartikel Teil der Folienstruktur sind.

Ein „Silver Gate“ Single-Reflection-System, ausgestattet mit einem ZnSe-Kristall (Zinkselenid), wurde für die Oberflächenmessungen im Bereich 2 in Abbildung 1 eingesetzt. Das Material ist zu dick für eine

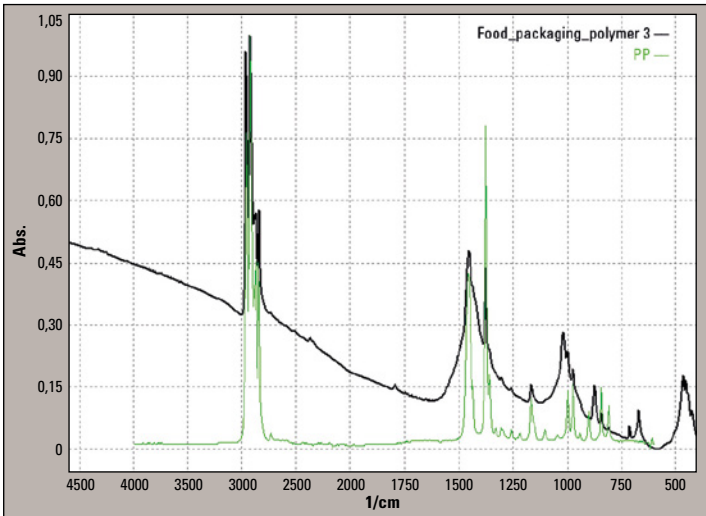


Abbildung 4: Über den Transmissionsmodus erhaltenes Spektrum vom Probenbereich 3 der Einlage (schwarze Kurve, grün ist ein typischer Polypropylen-Peak aus der Spektrenbibliothek)

Analyse im Transmissionsmodus. Diese Messtechnik erlaubt ein Eindringen des Strahls um 2 µm in die Probenoberfläche. Ein Spektrum ist in Abbildung 5 dargestellt. Zur Analyse der unbekanntes Spektren wurden Shimadzu und kommerzielle Bibliotheken wie Sadtler herangezogen, um die Infrarotspektren zu identifizieren.

Anhand dieser Bibliotheken wurde als Grundmaterial Polypropylen (PP) gefunden. Die nächsten Hauptabweichungen wurden einem Supraplast-Material und einem Polysilikat (Verstärkungsadditiv aus silberweißen Fasern mit schwarzen Einlagerungen) zugeordnet, die in der Sadtler-Hummel-Bibliothek gefunden werden konnten. Die Gegenwart dieses Additivs erscheint zutreffend, da das enthaltene Silikat die Ursache für den immensen Abfall der Basislinie im Transmissionsmodus sein kann. Die Silikateilchen erzeugen Streulichtphänomene.

Messgeräteausrüstung:

- Gerät: IRAffinity-1, Shimadzu
- Zubehör: Silver Gate, ZnSe-Kristall, Specac
- Bibliotheken: Shimadzu, Sadtler – BioRad Devision

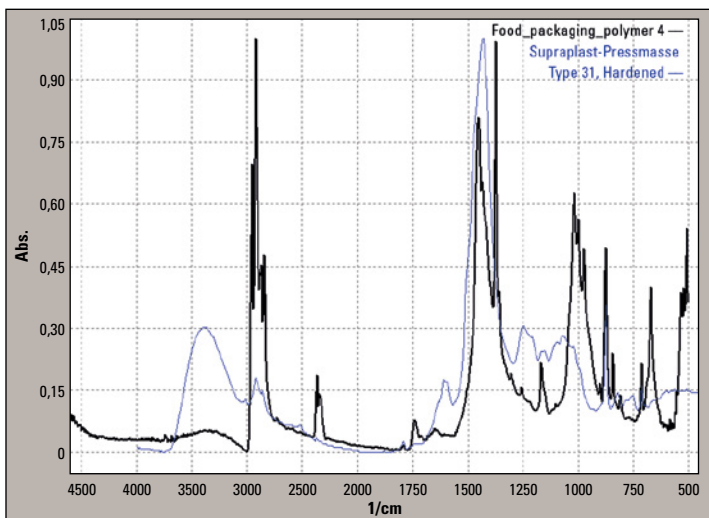


Abbildung 6: Suchergebnis für Signale, die sich von PP unterscheiden, Hummel/Sadtler Polymere, SUPRAPLAST-PRESSMASSE TYP 31, GEHÄRTET (blaue Kurve)

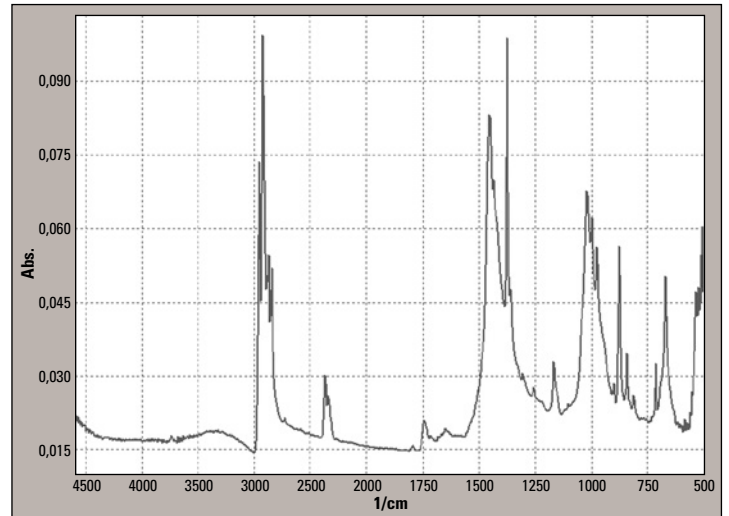


Abbildung 5: Über den Reflexionsmodus erhaltenes Spektrum von dem Teil der Einlageoberfläche, der in Abbildung 1 mit der Ziffer 2 bezeichnet ist und hauptsächlich aus Polypropylen besteht.

Analyse mit dem EDX-720

Da einige Polysilikate und Additive gefunden worden waren, war es von Interesse, nach dem für die Folie verwendeten Additivtyp zu forschen. Aufgrund der Übereinstimmung deutet die Bibliothek als erstes auf ein asbesthaltiges Mineral hin basierend auf Magnesium (Mg), Eisen (Fe) und Silizium (Si). Allerdings basieren Additive nicht auf diesen Materialien. Als Screeningmethode konnte EDX innerhalb kürzester Zeit die Hauptelemente nachweisen, aus denen das Mineral/Additiv besteht. Ein Standard-EDX-720 fand die folgenden Elemente: Calcium (Ca), Silizium (Si) und Eisen (Fe) in hohen Konzentrationen. Das Ca-Signal war außerordentlich hoch. Die leichten Elemente wurden nicht analysiert.

Analyse mit dem ICP-9000

Die Existenz von Silizium in den Proben wurde mit FTIR und EDX gefunden. Also wurden die Proben mit einer Lösung aus 5 ml HF und 10 ml HNO₃ für die ICP-Analyse aufgeschlossen.

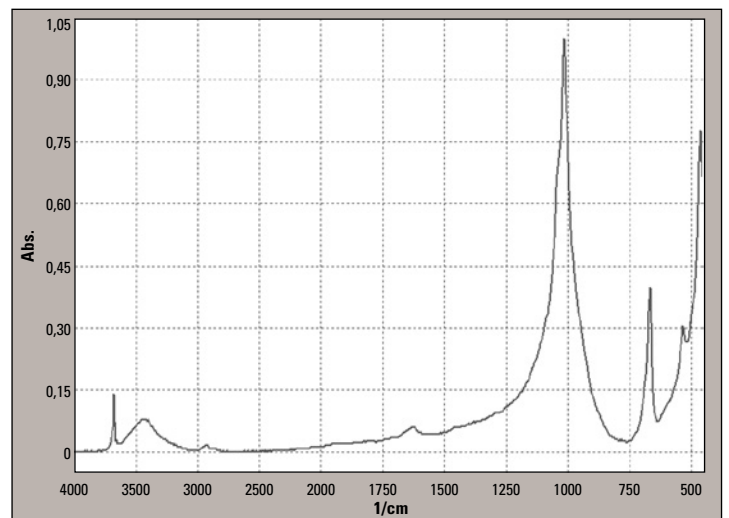


Abbildung 7: Die Suche des letzten Signals in der anorganischen Bibliothek ergab folgendes: SILBER-WEISSE FASERN MIT SCHWARZEN EINSCHLÜSSEN, Chemische Beschreibung = POLYSILIKATE, Kommentar Verwendung: VERSTÄRKUNGADDITIV

Probenname	Ca	Cd	Fe	K	Mg	Na	Ni	Pb	Si	Zn
Blindwert 1	4,71	0,050	1,35	1,75	1,35	2,12	0,135	0,134	30,1	0,450
Blindwert 2	6,01	0,030	1,17	0,535	0,25	1,46	0,235	0,145	11,9	0,257
p1a	14.760	2,63	359	62,3	3.650	44,3	12,1	27,0	6.190	14,9
p1b	14.580	2,35	350	62,2	3.620	40,2	10,7	21,0	6.400	14,3
p2a	14.750	2,93	589	98,3	5.840	103	6,20	39,9	2.300	18,6
p2b	14.600	2,83	534	98,7	5.680	105	7,50	34,9	2.400	18,3
Kontrolle 10 ppm	9,94	10,3	10,4	9,89	10,2	10,2	10,3	10,1	9,97	10,2
Alle Daten in mg/l										

Tabelle 1: Messergebnisse der Polypropylenproben nach Mikrowellenaufschluss (alle Daten in mg/l)

Durch Einsatz dieses Aufschlussmediums wurde das Silizium vollständig gelöst. Die Probe wurde mit einem Shimadzu ICPE-9000 gemessen. Das Ergebnis gibt die folgende Tabelle wieder. Eine Doppelmessung jeder Probe wurde durchgeführt ebenso wie eine Blindprobe und ein Kontrollstandard, um die Richtigkeit der Methode zu prüfen.

Sand, Calciumcarbonat und Hematit. Die Analysendauer mit allen drei Messgeräten betrug weniger als 15 Minuten.

Talkum: $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$ · Sand/Quartz: SiO_2 · Feldspat: $KAlSi_3O_8$
 Calciumcarbonat: $CaCO_3$ · Hematit: Fe_2O_3

Fazit

Die Kunststofffolie enthält andere Materialkomponenten als Polypropylen. Basierend auf den charakteristischen Materialeigenschaften und der Zielverwendung wurde das PP mit einigen Additiven behandelt. Diese bestehen zumeist aus kostengünstigen Mineralien wie Talkum,

Wir schicken Ihnen weitere Informationen gerne zu. Bitte notieren Sie hierfür die entsprechende Kennziffer auf der Antwortkarte. **Info 377**

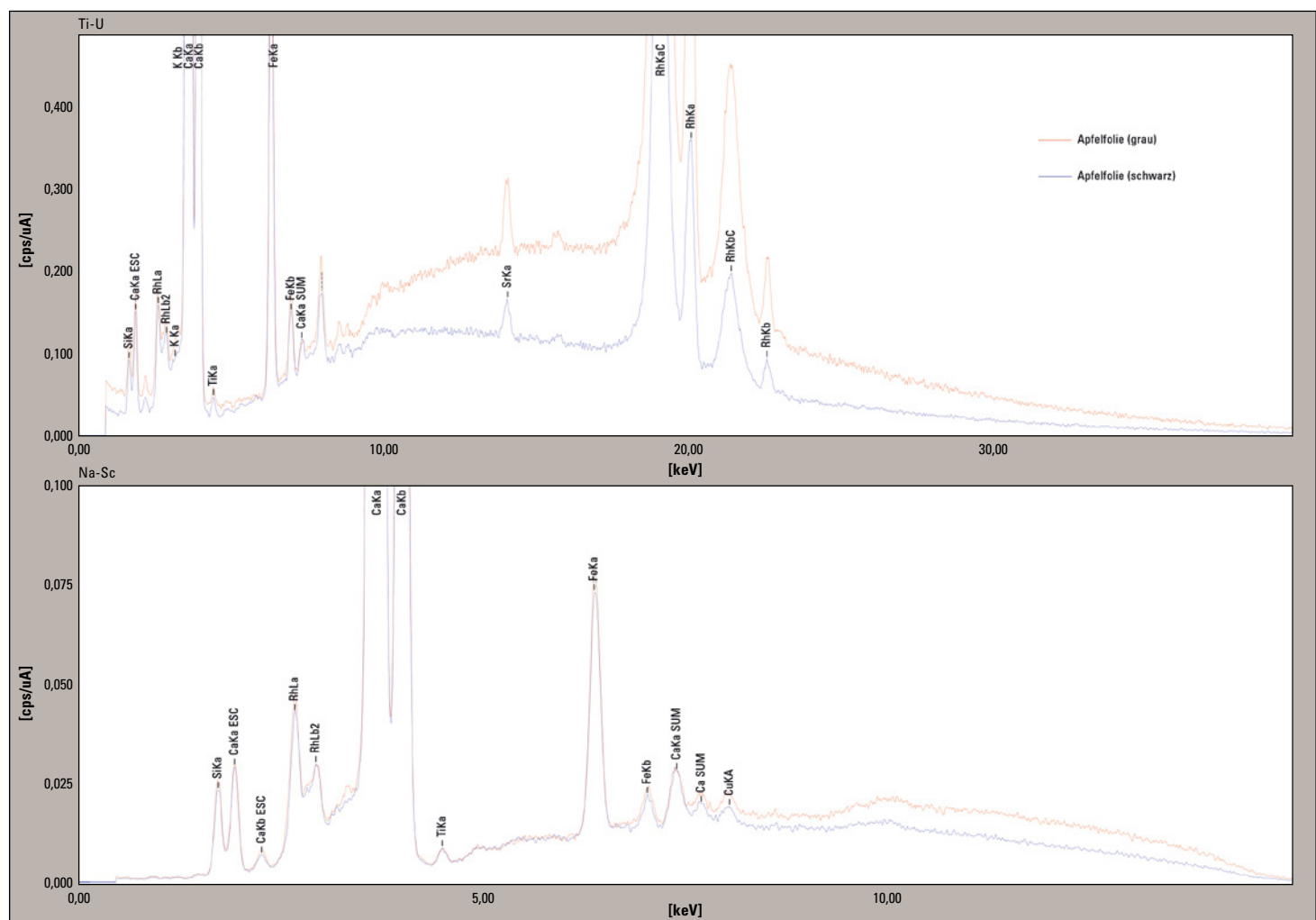


Abbildung 8: EDX-Analyse zweier Polymerproben (Apfelfolie grau und Apfelfolie schwarz), dargestellt der Messbereich von 0 bis 40 keV und 0 bis 15 keV, deutlich sind die dominanten Peaks von Calcium (Ca) und Silizium (Si) zu erkennen sowie Peaks von Eisen (Fe) und Kalium (K)

Quecksilber in der Nahr

Quecksilberbestimmung mit Graphitofen



Abbildung 1: AA-7000G Atomabsorptions-Spektrometer für die elektrothermische Atomisierung

Quecksilber und seine Verbindungen sind hochgiftig für Mensch und Umwelt. Über verschiedene Wege gelangt es in die Nahrungskette. Das Metall wird bei der Chlorherstellung und der Produktion von Elektroartikeln und Messgeräten verwendet. Es gelangt hauptsächlich durch Müllverbrennungsanlagen in die Luft und über ungereinigte Abwässer in Natur und Lebensmittel. Eine weitere Belastungsquelle ist die Düngung mit kontaminiertem Klärschlamm. Auch Quecksilber in Amalgamfüllungen spielt für die menschliche Belastung eine Rolle.

Alarmierend ist die Überschreitung der zulässigen Grenzwerte bei Seefischen, wie Thunfisch, Schwertfisch und Hai auf dem europäischen Markt, wie das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit im

Lebensmittel-Monitoring festgestellt hat.

Aus diesem Grunde versucht die internationale Staatengemeinschaft ein Abkommen zur Eindämmung der Quecksilber Produktion und Emission zu erwirken. Die Umweltminister der Vereinten Nationen haben auf der UNEP-Jahresversammlung (United Nations Environment Programme) 2009 in Nairobi beschlossen, alle Details der Quecksilberreduktion bis zum Jahr 2013 festzulegen. Bereits die Richtlinie des Europäischen Par-

laments und des Rates vom 15. Februar 2006 (betreffend die Verschmutzung infolge der Ableitung bestimmter gefährlicher Stoffe in die Gewässer) beinhaltet Quecksilber und Quecksilberverbindungen. Aktuell wird aber weiterhin Quecksilber über Müllverbrennung, Leuchtstoffröhren, Akkumulatoren, Amalgam, Thermometer und elektronische Bauteile in die Umwelt eingebracht.

Der Grenzwert der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für Quecksilber im Trinkwasser liegt bei 1 µg/l, genau wie auch in der Europäischen Trinkwasserverordnung.

Zwei Verfahren zur Bestimmung von Quecksilber

In diesem Konzentrationsbereich wird die Quecksilberbestimmung typischerweise mittels Atomabsorptionsspektrometrie und der Kaltdampftechnik in Anlehnung an die DIN EN 1483:2007-07 „Wasserbeschaffenheit – Bestimmung von Quecksilber – Verfahren mittels Atomabsorptionsspektrometrie“ durchgeführt. Die Systemkonfiguration besteht aus einem AA-7000 Atomabsorptionsspektrometer mit Hydridgenerator HVG-1.

Die Kaltdampftechnik ist eine Unterform der Hydridtechnik, bei der mit Hilfe eines Reduktionsmittels allerdings kein Hydrid, sondern atomares Queck-

Element	Hg
Wellenlänge [nm]	253,7
Spaltbreite [nm]	0,7
Atomisierung	Graphitofen
Lampenstrom D ₂ BGC*[mA]	4
Atomisierungstemperatur [°C]	950
Matrixmodifikation	Ir-Modifizier

Tabelle 1: Instrumentelle Parameter für die Bestimmung von Quecksilber

ungskette

silber generiert wird. Diese Europäische Norm legt zwei Verfahren zur Bestimmung von Quecksilber fest. Als Reduktionsmittel wird Zinn(II) Chlorid oder Natriumtetrahydroborat eingesetzt. Die Wahl des Verfahrens richtet sich nach der zur Verfügung stehenden Ausrüstung und der Matrix. Beide Verfahren eignen sich zur Bestimmung von Quecksilber in Wässern, beispielsweise in Grund-, Oberflächen- und Abwässern im Konzentrationsbereich von 0,1 µg/l bis 10 µg/l. Höhere Konzentrationen lassen sich nach entsprechender Verdünnung der Wasserprobe bestimmen. Niedrigere Konzentrationen im Bereich 0,01 µg/l bis 1 µg/l können bestimmt werden, wenn spezielle Quecksilber-Analysatoren mit optimierten Instrumenten eingesetzt werden.

Elektrothermische Atomisierung für die quantitative Bestimmung

Neben der Kaltdampftechnik ist auch die elektrothermische Atomisierung mit einem Graphitrohrföfen ein geeignetes Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Quecksilber. Dazu wurden experimentelle Untersuchungen im Konzentrationsbereich von 10 bis 100 µg/l mit einem Shimadzu Atomabsorptions-Spektrometer AA-7000G (Abbildung 1) durchgeführt, das standardmäßig mit Deuterium- und Hochstrompuls-technik ausgestattet ist. Für die elektrothermische Atomisierung wurde der hochempfindliche Graphitrohrföfen GFA-7000 mit digitaler Steuerung eingesetzt. Im vollautomatischen Betrieb wurde die Kalibrierung aus einer Stamm-lösung mit der Probenvorbereitungstation ASC-7000 durchgeführt. Die Systemparameter sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Um das leichtflüchtige Quecksilber zuverlässig im Graphitofen zu bestimmen, ist eine Stabilisierung mittels Iridium-Modifizier erforderlich. Dazu wird vor der Injektion des Probenvolumens jeweils 20 µl der Iridium-Lösung in das Graphitrohr eingebracht und vorgetrocknet. Erst danach werden 20 µl Probenlösung injiziert und das Heizprogramm gestartet.

Für die Quecksilberanalytik ist eine Optimierung des Heizprogramms notwendig. Die WizAArd Software erlaubt die Optimierung der Veraschungsphase und auch der Atomisierungsphase. Dabei sollte die Veraschungstemperatur so hoch wie möglich gewählt werden, um die Matrix weitestgehend zu zerstören und dennoch das leichtflüchtige Quecksilber bis zur Atomisierung im Rohr zu erhalten.

Gute Wiederfindungsraten

Die Kalibrierung erfolgte mit einer Standardlösung der Maximalkonzentration von 100 µg/l Quecksilber im Graphitofenbetrieb bei einem Injektionsvolumen von 20 µl. Die Kalibrationskurve im Konzentrationsbereich von 10 bis 100 µg/l ist in Abbildung 3 dargestellt. Die Wiederfindungsraten liegen bei 95 % und sind in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Kaltdampftechnik. Die Graphitofentechnik ist damit eine ausgezeichnete Alternativ-Methode zur Quecksilberbestimmung in der Routine.

Quelle:

http://www.bvl.bund.de/clin_027/nn_520288/DE/01_Lebensmittel/00_doks_dowload

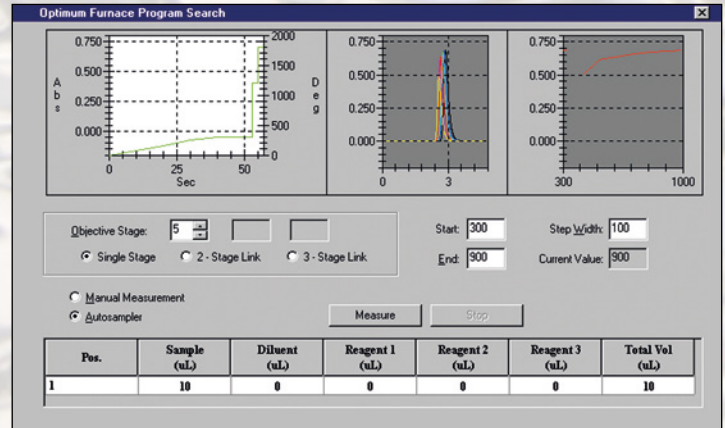


Abbildung 2: Optimierung der Veraschungs- und Atomisierungstemperaturen

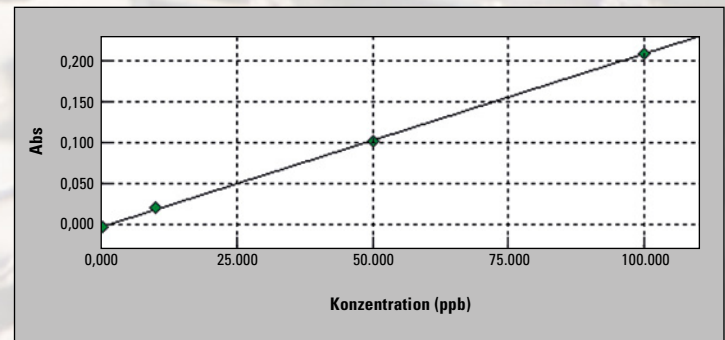


Abbildung 3: Quecksilber-Kalibrationskurve

Wir schicken Ihnen weitere Informationen gerne zu. Bitte notieren Sie hierfür die entsprechende Kennziffer auf der Antwortkarte. **Info 378**

Wie gesund ist Olivenöl?

Bestimmung von PAKs in Lebensmitteln nach EFSA



GCMS-QP2010 Plus

Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) sind gefährliche Umweltschadstoffe. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat daher eine Liste von 16 PAKs vorgelegt, um ihre Gefährlichkeit in der Nahrung besser als bisher zu bewerten. Mit der GCMS als robustes und empfindliches Verfahren lassen sich PAKs quantitativ sicher bestimmen.

Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe umfassen eine große Klasse organischer Komponenten, die aus zwei oder mehreren kondensierten aromatischen Ringen bestehen. Sie entstehen

vornehmlich bei der unvollständigen Verbrennung beziehungsweise Pyrolyse organischer Verbindungen und bei zahlreichen industriellen Prozessen. Man findet sie in Auto- und Industrieabgasen, in Gemüse, Getreide, Grillprodukten, sie werden beim Rauchen gebildet oder beim Rösten von Kaffee.

PAKs treten normalerweise in komplexen Gemischen auf, die aus mehreren hundert Komponenten bestehen können. Wegen ihrer Eigenschaft, über lange Zeit unverändert in der Umwelt zu verbleiben (Persistenz), ihrer Toxizität und ubiquitären Verbreitung haben PAKs eine große Bedeutung als Schadstoffe in der Umwelt.

Zur Bestimmung der PAK-Belastung in der Umwelt werden üblicherweise 16 PAKs nach EPA (Environmental Protection Agency) bestimmt. Diese so genannten EPA-PAKs werden jedoch für die Analyse von Nahrungsmitteln als nicht ausreichend angesehen.

Um die toxikologische Relevanz in der Nahrung besser bewerten zu können, hat die EFSA (European Food Safety Authority) daher eine eigene Liste von 16 PAKs vorgeschlagen (vergleiche Tabelle 1).

Auf dem Weg zur Norm

In den Verordnungen der Europäischen Union 208/2005 und 1881/2006 wurden die Grenzwerte für Benzo(a)pyren in verschiedenen Lebensmitteln festgelegt. Diese liegen zwischen 1 µg/kg für Babynahrung und 10 µg/kg für Muscheln.

Die EFSA stellte 2008 in einer umfassenden Untersuchungsreihe fest, dass in einigen Lebensmitteln Benzo(a)pyren nicht nachgewiesen werden konnte, diese aber krebserregende PAKs enthielten, weshalb Benzo(a)pyren als Marker für die PAK-Belastung in Lebensmitteln als nicht ausreichend erachtet wird.

Die EU-Empfehlung 2005/108/EC listet 15 PAKs, die nachweislich kanzerogene Wirkung haben und die zukünftig näher in Lebensmitteln untersucht werden sollen. Das 2005 durch die JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) vorgeschlagene Benzo(c)fluoren wurde in die Empfehlung der EFSA ebenfalls aufgenommen, so dass die Liste der zu untersuchenden PAKs nach EFSA insgesamt 16 Komponenten umfasst (siehe Tabelle 1).

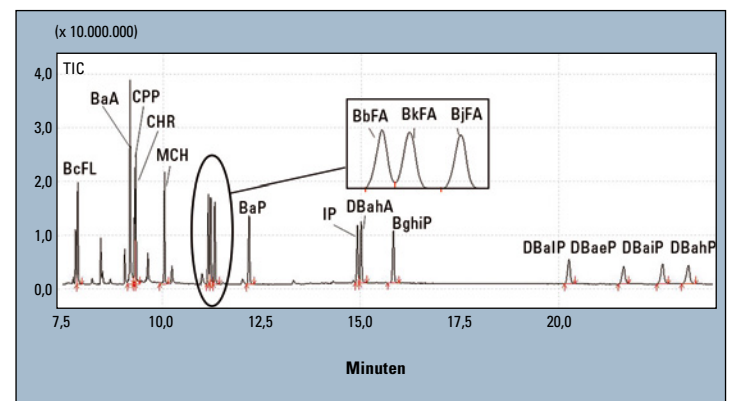


Abbildung 1: GCMS-Chromatogramm der 16 PAKs nach EFSA, aufgenommen im full scan. Die Abkürzungen sind in Tabelle 1 erläutert. Die Konzentration des Standards betrug 1 mg/l.

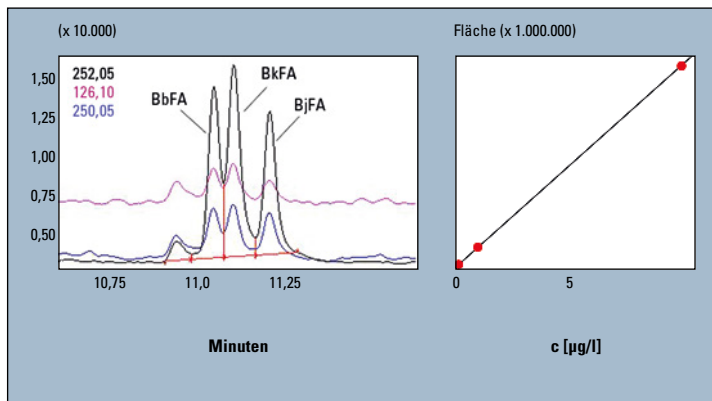


Abbildung 2: Ausschnitt aus dem Chromatogramm der Olivenölprobe, aufgenommen im SIM-Modus; gezeigt ist die Trennung der Fluoranthene sowie die Kalibrationskurve des BbFA. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,99997.

Physiologische Wirkung

Die Aufnahme von PAKs erfolgt durch die Nahrung, über die Haut und/oder durch das Einatmen belasteter Luft. Für Nichtraucher wird mittlerweile die Nahrung als größte Belastungsquelle angesehen.

Die zu analysierenden PAKs nach EFSA zeigen mutagene beziehungsweise genotoxische Wirkung auf somatische Zellen im Tierversuch und ein kanzerogenes Potential.

Analytik der PAKs

Die quantitative Bestimmung von PAKs erfolgt in den meisten Fällen mittels GCMS oder HPLC mit UV- beziehungsweise Fluoreszenzdetektion.

Bei der HPLC-Methode ist darauf zu achten, dass speziell Cyclopenta[c,d]pyren extrem lichtempfindlich ist, weshalb die Kopplung von UV- und Fluoreszenzdetektion zu Problemen bei der Quantifizierung führen kann.

Für die Gas-Chromatographie stellt insbesondere die Trennung der Fluoranthene (BbFA, BkFA, BjFA) eine Herausforderung dar, ist aber bei der Verwendung von Stationären GC-Mischphasen aus Diphenyl und Dimethylpolysiloxanen möglich. Es empfiehlt sich die Verwendung einer Trennsäule mit geringer Filmdicke, damit die Elution der höhersiedenden PAKs ohne nennenswerten Verlust an

chromatographischer Auflösung gelingt.

Probenvorbereitung und analytische Bedingungen

Die Proben wurden mittels GCMS vermessen und quantifiziert. Dabei kam ein GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu) mit einer Rxi-17 Säule von Restek zum Einsatz (L 20 m / ID 0,18 mm / FD 0,1 µm). Abbildung 1 zeigt das Chromatogramm einer Standardlösung. Vermessen wurde ein Standard mit einer Konzentration von 1 mg/l. Die Zeit für die Trennung beträgt 24 Minuten. Der Bereich der Fluoranthene wurde vergrößert dargestellt, die chromatographische Auflösung ist dabei > 1.

Kalibriert wurde ein Messbereich von 0,1 µg/l bis 100 µg/l. Bei dem Standard mit der Konzentration von 0,1 µg/l war das Signal-zu-Rausch-Verhältnis des zuletzt-eluierenden Peaks (DBahP) > 20 (RMS).

Bei den vermessenen Proben handelt es sich um Aufarbeitungen von Olivenöl. Dieses wurde durch Festphasenextraktion über HR-P-Säulen (Macherey & Nagel) gereinigt (gewaschen mit Hexan, eluiert mit Toluol). Anschließend wurde die Lösung mit den in Tabelle 1 genannten PAKs gespiked, so dass eine Konzentration von 2,5 µg/l erreicht wurde. Das entspricht etwa der für belastete Realproben zu erwartenden PAK-Konzentration. Abbildung 2

stellt einen Ausschnitt aus dem dazugehörigen Chromatogramm der Olivenölprobe dar.

Ausblick

Die Bestimmung von PAKs in Lebensmitteln nach EFSA wird in nächster Zukunft zur analytischen Routine werden. Mit der GCMS-Methode existiert bereits ein Verfahren, das zugleich robust und empfindlich ist. Voraussetzung ist eine gute chromatographische Trennung und eine geeignete Probenaufreinigung.

Quellen

- <http://de.wikipedia.org/wiki/PAK>
- EFSA Journal (2008) 724, 1-114
- <http://eur-lex.europa.eu/en/index.htm>

Nr.	Komponente	Abkürzung	Mw	CAS
1	Benzo[c]fluoren	BcFL	216,3	205-12-9
2	Benzo[a]anthracen	BaA	228,3	56-55-3
3	Cyclopenta[c,d]pyren	CPP	226,3	27208-37-3
4	Chrysen	CHR	228,3	218-01-9
5	5-Methylchrysen	MCH	242,3	3697-24-3
6	Benzo[b]fluoranthen	BbFA	252,3	205-99-2
7	Benzo[k]fluoranthen	BkFA	252,3	207-08-9
8	Benzo[j]fluoranthen	BjFA	252,3	205-82-3
9	Benzo[a]pyrene	BaP	252,3	50-32-8
10	Indeno[1,2,3-cd]pyren	IP	276,3	193-39-5
11	Dibenz[a,h]anthracen	DBahA	278,3	53-70-3
12	Benzo[g,h,i]perylen	BghiP	276,3	191-24-2
13	Dibenzo[a,i]pyren	DBaiP	302,3	191-30-0
14	Dibenzo[a,e]pyren	DBaeP	302,3	192-65-4
15	Dibenzo[a,i]pyren	DBaiP	302,3	189-55-9
16	Dibenzo[a,h]pyren	DBahP	302,3	189-64-0

Tabelle 1: Die 16 PAKs nach EFSA in der Reihenfolge der Elution auf einer Rxi-17-Säule, die verwendeten Abkürzungen, das Molekulargewicht und die CAS-Nummern.

Wir schicken Ihnen weitere Informationen gerne zu. Bitte notieren Sie hierfür die entsprechende Kennziffer auf der Antwortkarte. **Info 379**

Der Schein kann trügen

HPLC-Analyse von Mykotoxinen

Mykotoxine sind sekundäre Stoffwechselprodukte verschiedener Pilzarten. Die Untersuchung dieser Toxine ist bedeutend, weil viele von ihnen Lebensmittel verunreinigen und in einigen Ländern die Gesundheit von Menschen und Tieren gefährden. Das wachsende Gefahrenbewusstsein hat dazu geführt, dass zahlreiche Verfahren für ihre Aufreinigung und Analyse entwickelt wurden. Im Allgemeinen handelt es sich bei Mykotoxinen um Verbindungen mit relativ hohem Molekulargewicht, die einen oder mehrere oxigenierte alicyclische Ringe enthalten.

Die Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (FAO) schätzt, dass etwa 25 % der Welt-Nahrungsproduktion Mykotoxine enthalten. Auch können sie von Nutztieren aufgenommen werden und über deren Produkte (Milch, Eier) in die Nahrungskette gelangen. Der Schein vermeintlich einwandfreier Lebensmittel kann also trügen.

Die HPLC hat sich zu der am schnellsten wachsenden Technik entwickelt. Ein isokratisches System mit C18-Säulen, Wasser, Methanol und Acetonitril als mobile Phase sowie mit Fluoreszenz und/oder UV-Detektion ist die typische Ausrüstung, um zahlreiche Toxine (Aflatoxine, Ochratoxin, Zearalenon, Fumonisine, T-2 und HT-2, etc.) in unterschiedlichen Trägersubstanzen (Wein, Bier, Weizen, Kaffeebohnen, Hafer, Mais etc.) zu erkennen.

Das Experiment

Geräte:

Die chromatographische Ausrüstung bestand aus LC-20AD UFLC-Pumpe, SIL-20AHT UFLC-Autoinjektor, CTO-20A Säulenofen, RF-20AXS Fluoreszenzdetektor, CBM-20A, LCSolution Chromatographiesoftware, Supelco Discovery C18-Säule 150 mm x 4,6 mm Innendurchmesser, 5 µm mit Temperatureinstellung von 30 °C, als Nachsäulenreaktor eine Kobra-Zelle (nur für Aflatoxine).

Reagenzien:

Wasser, Methanol, Acetonitril, Essigsäure, Salpetersäure, Isopropanol, Kaliumbromid, Immunaффinitätssäulen.

Probenaufbereitung:

Die typische Probenaufbereitung bestand aus einigen einfachen Schritten:

- Toxine in einer Probe werden extrahiert, gefiltert, verdünnt und langsam über eine Immunaффinitätssäule gelenkt, wobei sich Antikörper und Toxine binden.
- Anschließend wird die Immunaффinitätssäule gespült, um jegliches ungebundenes Material zu entfernen.
- Dann werden die Toxine mittels Methanol von der Säule abgelöst. Danach ist die Injektion in ein HPLC möglich.

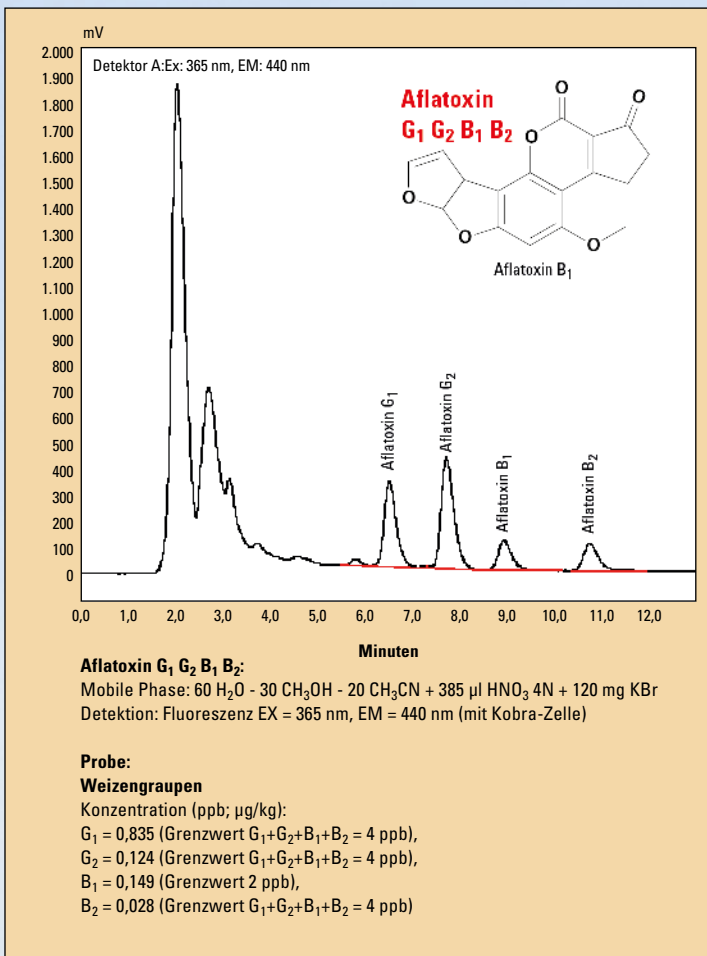
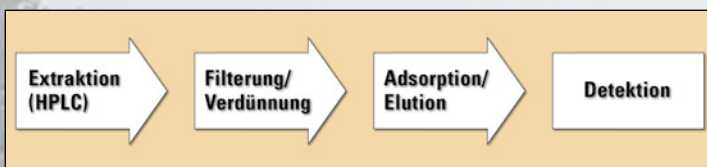


Abbildung 1: Chromatogramm von Aflatoxinen aus Weizenraupen



Allgemeine Vorgehensweise

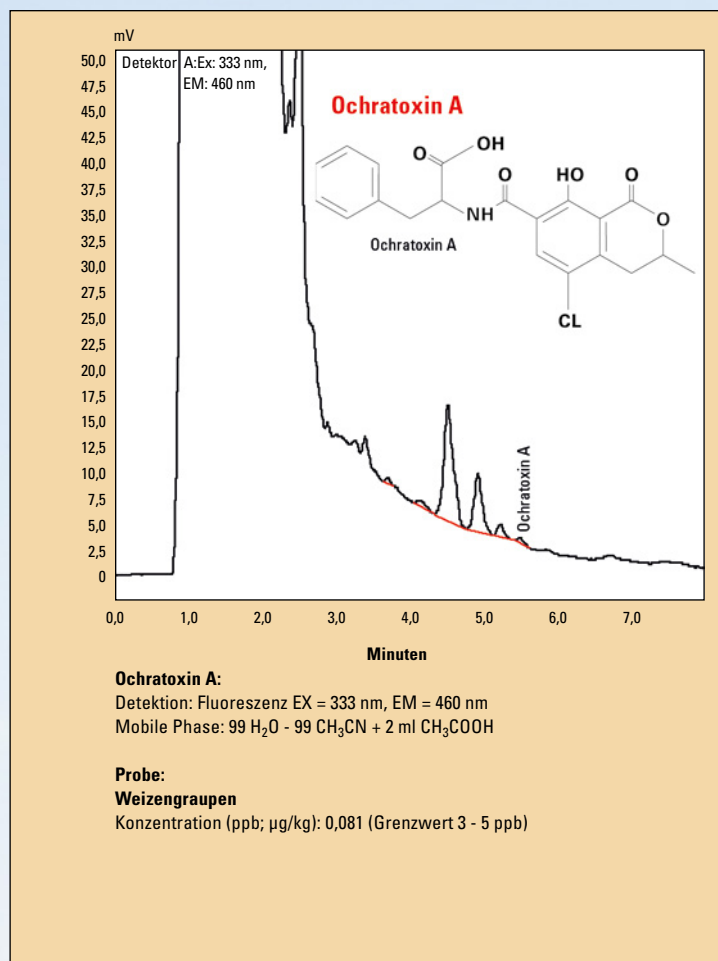


Abbildung 2: Chromatogramm von Ochratoxin A aus Weizengraupen

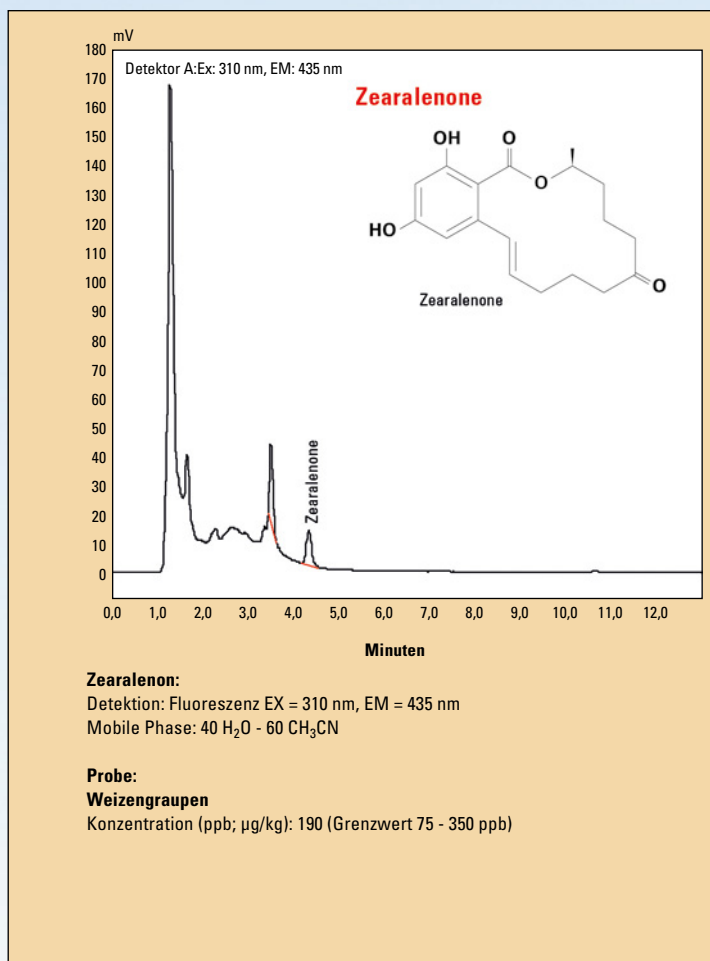


Abbildung 3: Chromatogramm von Zearalenon aus Weizengraupen

Toxin	Trägersubstanz	HPLC Elutions-Modus	Säule	Mobile Phase	Wellenlänge	Sonstiges
Aflatoxine B ₁ - B ₂ , G ₁ - G ₂ , M ₁ - M ₂	Weizengraupen, Mais, Ölsaaten, Erdnüsse, Sojabohnen, Pistazien, Walnüsse, schwarzer Pfeffer, Kokosnuss...	Isokratisch	C 18 150 x 4,6 mm, 3 µm	60 H ₂ O - 30 CH ₃ OH - 20 CH ₃ CN + 385 µl HNO ₃ 4N + 120 mg KBr	EX = 365 nm, Em = 440 nm	Kobra-Zelle (Nachsäulenreaktor) erforderlich
Ochratoxin A	Getreide, Kaffee, Weintrauben...	Isokratisch	C 18 150 x 4,6 mm, 3 µm	99 H ₂ O - 99 CH ₃ CN + 2 ml CH ₃ COOH	EX = 333 nm, Em = 460 nm	*****
Zearalenon	Mais, Gerste, Hafer, Weizen, Reis, Hirse	Isokratisch	C 18 150 x 4,6 mm, 3 µm	40 H ₂ O - 60 CH ₃ CN	EX = 310 nm, Em = 435 nm	*****

Tabelle 1: BU

Fazit

Methoden zur Bestimmung von Toxinen durch HPLC wurden gut ausgearbeitet; eine Toxin-Trennung und -Bestimmung in unterschiedlichen Trägersubstanzen stellt kein Problem mehr dar. Jedes Toxin lässt sich im Routinebetrieb in nahezu jedem gut ausgerüsteten Labor bestimmen.

Die Einführung der Immunaффinitätssäulen-Technologie in der vorausgehenden Reinigungsphase hat beim Einzelnachweis von Toxinen in vielen verschiedenen Trägersubstanzen geholfen.

Wir schicken Ihnen weitere Informationen gerne zu. Bitte notieren Sie hierfür die entsprechende Kennziffer auf der Antwortkarte. **Info 380**

Umfassende Duftstoffanalyse

Einfache und präzise Bestimmung der Zusammensetzung und Geruchsintensität

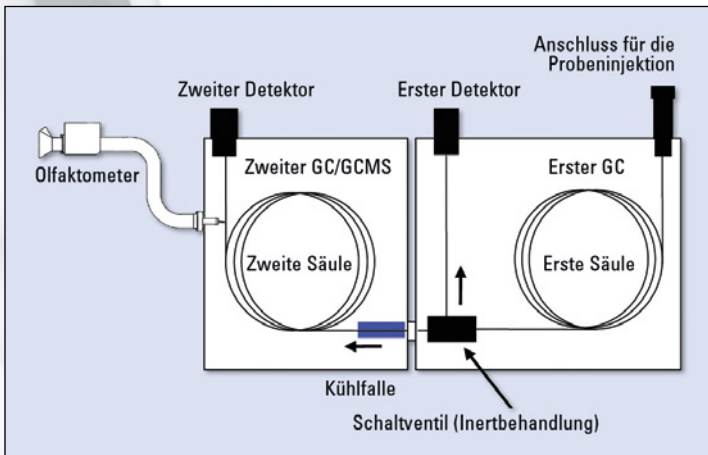


Abbildung 1: MDGC/GCMS-D Konfiguration

Sehr oft geht es in der Duftstoffanalytik um komplexe Gemische, die anspruchsvolle Methoden benötigen, um alle Komponenten chromatographisch zu trennen. Multidimensionale Trennungen, offline und online stehen zur Analyse dieser Proben bereit. Dabei weisen Offline-Vortrennungen oft Nachteile auf, wie lange Analysezeiten, Schwierigkeiten bei der quantitativen Wiederfindungsrate oder Bildung von Artefakten. In den letzten Jahren wurde dagegen mit Hochdruck an automatisierten Vortrennungsmöglichkeiten gearbeitet, die mit dem multidimensionalen System MDGC-2010 von Shimadzu einen neuen Status erreicht. Weitverbreitete Nachteile der multidimensionalen Online-Vortrennung wurden durch die Neuentwicklung des Schaltmechanismus sowie der dazugehörigen Software Steuerung überwunden.

Nur ein Referenzlauf, um nicht-getrennte Bereiche präzise zu transferieren

Das Grundprinzip der multidimensionalen Chromatographie

beruht auf einer Kopplung von zwei analytischen Säulen, wobei die erste Säule als Vorsäule dient, von der gezielt nicht-aufgetrennte Komponenten auf eine zweite Säule geschickt werden können. Dieses „Ausschneiden“, auch als „Heart-Cut“ bezeichnet, erfolgt durch Ausnutzen eines Druckunterschieds zwischen dem Ende der ersten Säule und dem Eingang der zweiten Säule. Dabei wird der Druckunterschied durch ein angesteuertes Ventil mit unterschiedlichen Restriktoren so aufgebaut, dass sich der Ausgangsdruck der ersten Säule nicht verändert. Das hat enorme Vorteile und hebt sich von dem herkömmlichen „Dean-Switch“-Mechanismus ab. Die Retentionszeiten des Chromatogramms der ersten Dimension bleiben unverändert, unabhängig davon wie viele Bereiche auf die Säule der zweiten Dimension gegeben werden. Diese herausragende Retentionszeitstabilität ermöglicht es nach nur einem Referenzlauf (Probe wird nur über Säule 1 geführt) die nicht-getrennten Bereiche zu identifizieren. Mit nur einem nachfolgenden analytischen Lauf können nun mehrere

Bereiche auf die zweite Säule transferiert werden.

Die Säulendimensionen der ersten und zweiten Säule und die Wahl der stationären Phase können gezielt der Trennanforderung angepasst werden. Für die umfassende Analytik eines Mandarinenöls wurde eine 30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm Film polare Säule (Rtx-Stabilwax) für die erste Dimension benutzt und eine 30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm Film unpolare Säule (Rtx-5ms) für die zweite Dimension.

Geruchsbestimmung mittels Olfaktometer

In der Duftstoffanalytik hat neben der Auswertung der physikalischen Detektorsignale auch die Geruchsintensität der Komponenten einen hohen Stellenwert. Die Geruchsbestimmung kann durch ein Olfaktometer als zusätzliche Komponente im MDGC-System ermöglicht werden, in der die menschliche Nase die Wahrnehmung des Geruches übernimmt. Als Olfaktometer wurde der „Phaser“ der Firma Atlas GL verwendet, der sich

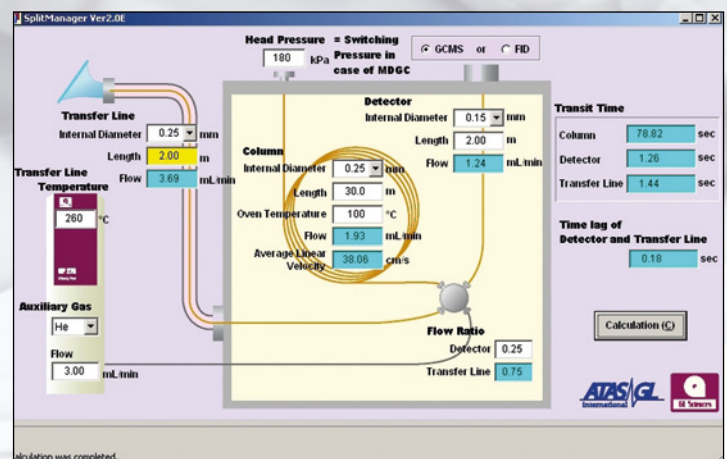


Abbildung 2: SplitManager Software zur Kalkulation der Spliverhältnisse

analytik

durch eine besonders gute Temperaturhomogenität auszeichnet wodurch auch das „Abriechn“ höhersiedender Komponenten möglich ist. Eine entsprechende Software erlaubt die Auswertung der Geruchsstoffe, und ein Über-einanderlegen der TIC- (Totalionenstrom) und Sniffer-Chromatogramme. Das Olfaktometer wurde am Ende der 2. Säule als zweiter Detektor neben dem Massenspektrometer angebracht (siehe Abbildung 1).

Das entsprechende Splitverhältnis zwischen Massenspektrometer und Olfaktometer lässt sich durch die gezielte Wahl der Restriktoren sowie der Drücke einstellen. Eine Software kalkuliert das Splitverhältnis. In dieser Analyse wurde das Splitverhältnis auf 1:3 eingestellt (siehe Abbildung 2).

Eine Kühlfalle am Anfang der Säule 2 kann zur zusätzlichen Aufkonzentrierung, der meist nur in Spuren vorhandenen Duftkomponenten durch Mehrfachinjektionen und gezieltem Transfer auf die zweite Säule dienen. Ein Mandarinöl zeigt in der ersten Dimension unvollständige Trennungen. In Abbildung 3 sind das Referenzchromatogramm (ohne Transfer auf die zweite Säule) und ein Chromatogramm mit einem „Heart-cut“ übereinander gelegt. Dabei wird die Retentionszeitstabilität des Systems nochmals verdeutlicht.

Zusätzliche Komponenten aufgespürt

Als Anfangstemperatur des Ofens der 1. Dimension wurde 60 °C (1 min), eine Heizrampe von 10 °C/min bis auf 250 °C (15 min) gewählt. Die Anfangstemperatur

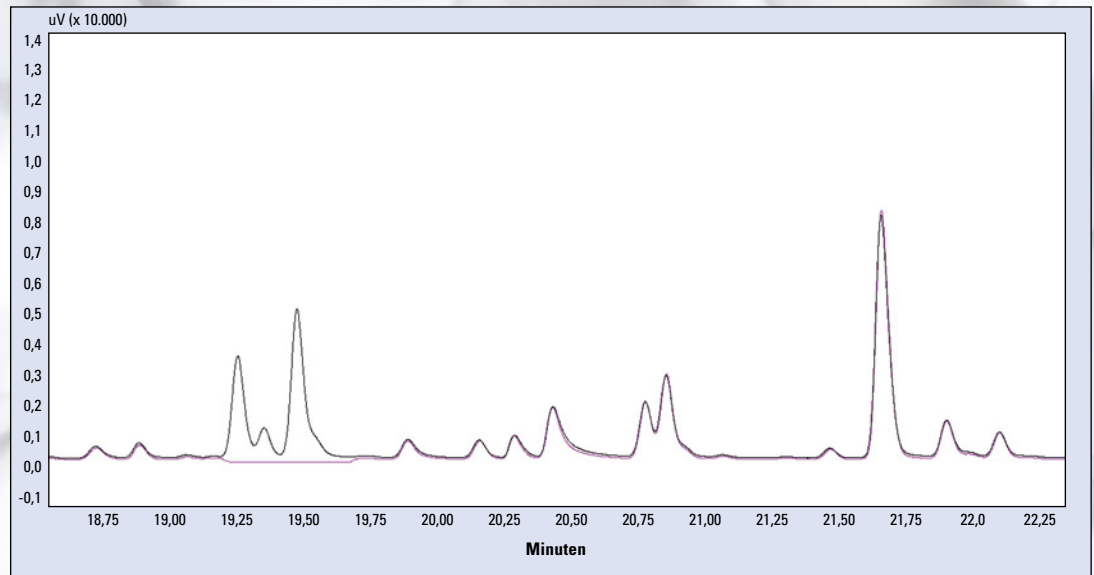


Abbildung 3: Vergleich Mandarinöl Referenzchromatogramm und Chromatogramm mit Heart-Cut

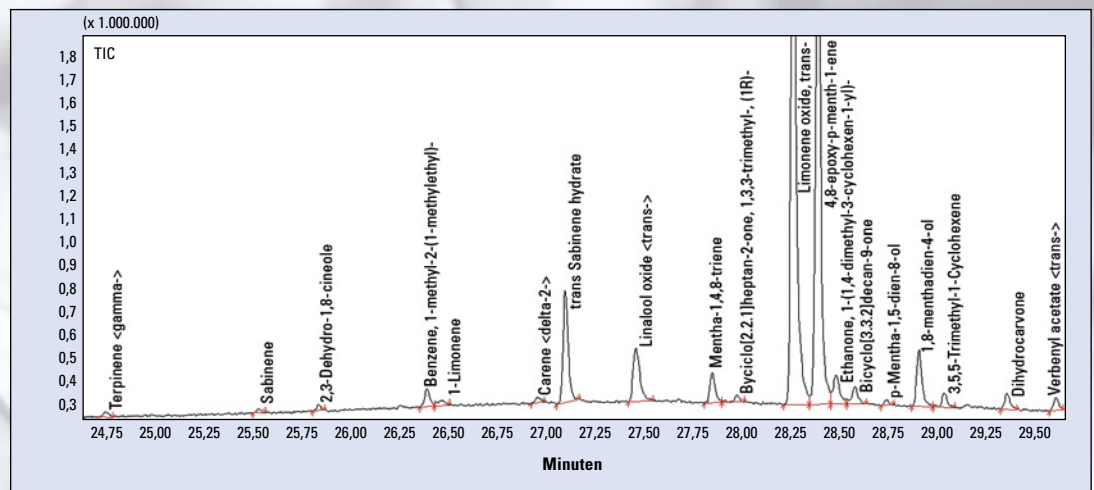


Abbildung 4: Qualitative Auswertung der transferierten Substanzen in der zweiten Dimension

des Ofens der zweiten Dimension wurde auf 50 °C für 6 Minuten sowie eine Heizrate von 10 °C/min bis auf 280 °C gesetzt. Durch Trennung in der zweiten Dimension konnten zehn Komponenten identifiziert und mittels Olfaktometer der Duft und die Intensität dieser Komponenten zu einer umfassenden Information beitragen. Durch die präzise Arbeits-

weise des Multi-Deans Switch können quantitative Auswertungen in beiden Dimensionen erfolgen.

Das multidimensionale System von Shimadzu kombiniert mit dem Olfaktometer und der Cryotrap von Atas GL bietet die Möglichkeit umfassende Informationen zu komplexen Gemischen

zu erhalten. Die Untersuchung von Duftstoffen ist dabei nur ein Beispiel des großen Anwendungsbereichs dieses Systems.

Schwermetalle in Kunst

Bestimmung mit ICP-OES



Die Europäische Verpackungs-Verordnung (VerpackV) strebt danach, die Auswirkungen von Verpackungsabfällen auf die Umwelt zu vermeiden oder zu verringern. Darüber hinaus soll der Anteil ökologischer Einweggetränke- sowie Mehrweggetränkeverpackungen gestärkt werden mit dem Ziel, eine Quote von mindestens 80 % zu erreichen. Aus dem gesamten Europäischen Verpackungsmüll sind bis Dezember 2008 beispielsweise 60 Gewichtsprozent an Glas, Papier und Karton sowie 22,5 Gewichtsprozent an Kunststoffen wiederverwertet worden.

Der Anteil der Schwermetalle Blei, Cadmium, Quecksilber und sechswertiges Chrom in Packmitteln und Packmittelkomponenten darf 100 mg/kg kumulativ nicht übersteigen.

Hersteller von Verpackungsmaterialien garantieren mittlerweile, dass zur Herstellung ihrer Produkte keine Rohstoffe eingesetzt werden, die die genannten Schwermetalle enthalten. Zusätzlich werden an repräsentativen Produkten stichprobenartige Analysen durchgeführt.

Die simultane Bestimmung von Schwermetallen erfolgt mit ICP-

OES-Spektrometern wie dem ICPE-9000 (Abbildung 1), die sich durch hohe Empfindlichkeit, einen weiten dynamischen Bereich und hohen Probendurchsatz auszeichnen. Das ICPE-9000 mit CCD-Detektor (charge coupled device) ist mit einer Vakuum-Optik ausgestattet, die bezüglich Leistung und Geschwindigkeit neue Maßstäbe setzt.

Emissionsspektren aller vorhandenen Elemente

Im ICPE-9000 werden die Kunststoffproben nach einem geeigneten Aufschlussverfahren in der Plasmafackel verdampft und die freigesetzten Atome und Ionen zur Emission von Strahlung angeregt. Die emittierte Strahlung wird im optischen System verarbeitet und mit dem CCD-Detektor gemessen, wobei die Emissionsspektren aller vorhandenen Elemente abgebildet werden. Die quantitative Bestimmung der Elemente erfolgt gegen Kalibrationskurven aus Multielementstandards. Abbildung 2 zeigt die Kalibrationskurven ausgewählter Schwermetalle im Konzentrationsbereich von 0,1 bis 2 mg/l.



Abbildung 1: ICP-OES-Spektrometer ICPE-9000 mit CCD-Detektor

stoffverpackungen

Instrument	ICPE-9000
Generatorleistung [kW]	1,2
Plasmagas [l/min]	10
Trägergas [l/min]	0,8
Beobachtungsrichtung	axial
Plasmafackel	Minitorch

Tabelle 1: Instrumentelle Parameter für die Bestimmung von Schwermetallen mit ICPE-9000

Zwei Methoden des Probenaufschlusses

Für die Probenvorbereitung stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung. Eine weit verbreitete Variante hierbei ist der Mikrowellen-Aufschluss, der in mikrowellendurchlässigen Druckbehältern im Mikrowellenofen durchgeführt wird. Ein Beispiel ist die Behandlung der Proben mit einer Mischung aus konzentrierter Salpetersäure und konzentriertem Wasserstoffperoxid bei erhöhten Druck-Temperaturbedingungen.

Daneben ist aber auch eine Nassveraschung beziehungsweise trockene Veraschung möglich, bei der die organischen Bestandteile einer festen Probe durch Abbrennen in einem Tiegel zerstört werden. Die Polyethylen-Proben wurden mit diesen drei Methoden aufgeschlossen und gemeinsam mit internationalem Referenzmaterial (BCR-680 und BCR-681) auf die gleiche Weise im ICPE-9000 gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammenge-

stellt und zeigen sehr gute Übereinstimmung mit den zertifizierten Werten bei Verwendung des geschlossenen Mikrowellenaufschluss-Systems.

Die hier beschriebene Systemkonfiguration mit ICP-OES gibt einen aktuellen Überblick zum Stand der Technik bei der Bestimmung von Schwermetallen in Kunststoffverpackungen nach der Europäischen Verpackungs-Verordnung. Die aktuellen Konzentrationen der Einzelsubstanzen im homogenen Probenmaterial können stark variieren und sind nach Probenvorbereitung und Verdünnung einfach und schnell mit dem ICPE-9000 zu analysieren.

Wir schicken Ihnen weitere Informationen gerne zu. Bitte notieren Sie hierfür die entsprechende Kennziffer auf der Antwortkarte. **Info 381**

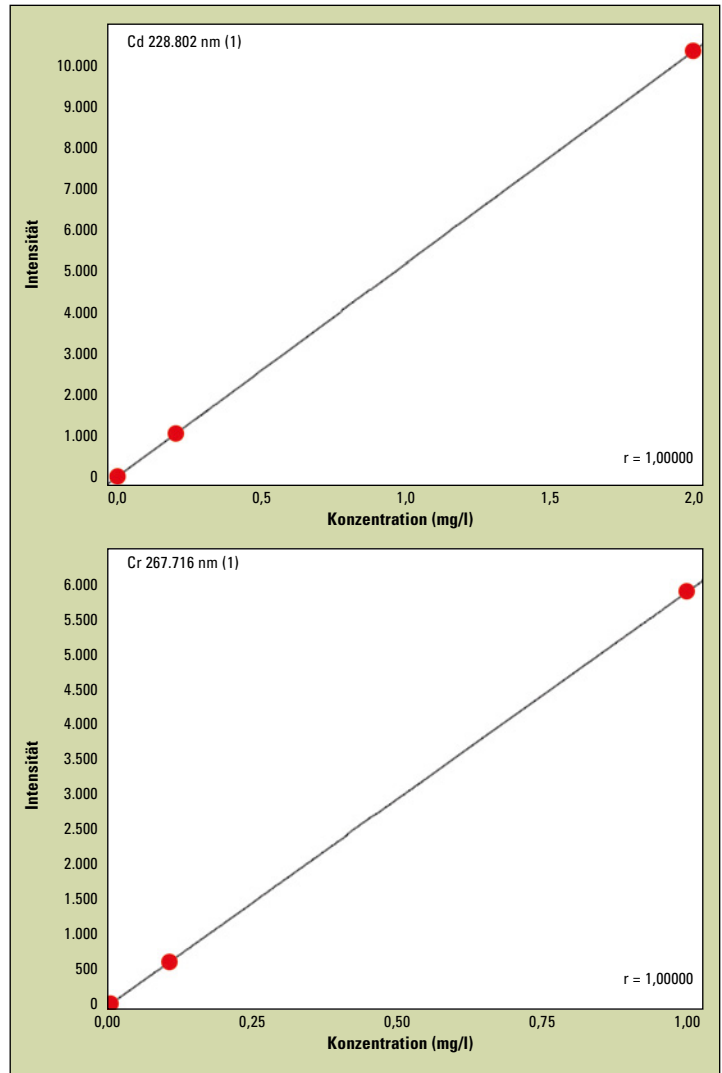


Abbildung 2: Kalibrationskurven ausgewählter Schwermetalle

Probe	BCR-680				BCR-681			
	Trocken	Nass	Mikrowelle	Referenzwert	Trocken	Nass	Mikrowelle	Referenzwert
Element								
Cd	141	140	140	140,8	21	21,4	21,7	21,7
Pb	105	< 0,2	108	107,6	13,1	< 0,2	13,5	13,8
Cr	105	112	112	114,6	16,2	17,2	17,5	17,7
Hg	< 0,2	24	25,6	25,3	< 0,2	4,3	4,6	4,5
As	28	31	30	30,9	4	4	5	3,93

Tabelle 2: Ergebnisse der Polyethylen-Referenzstandards (alle Werte in mg/kg)

TOC-Analytik an Reinwa

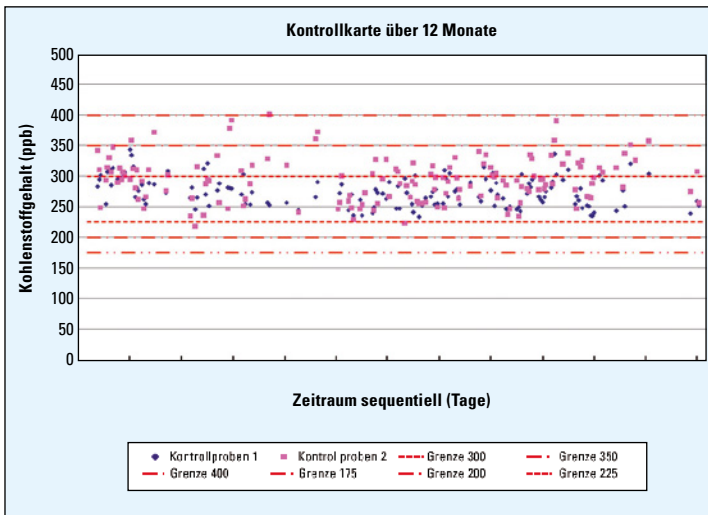


Abbildung 1: Beispiel einer Kontrollkarte, Kontrollproben mit 250 ppb

Anlagen zur Wasseraufbereitung liefern über Vorensalzung, Umkehrosmose, Ionenaustauscher und Destillation Reinwasser und Reinstwasser für den pharmazeutischen Gebrauch. Eine zentrale Kenngröße ist der Gehalt an gesamten organischen Kohlenstoff (TOC – total organic carbon); nach den Vorgaben der Europäischen Pharmacopoeia Abschnitt 2.2.44 sind das maximal 500 ppb TOC. In diesem Beitrag wird die „off-line“-TOC-Bestimmung an Reinwasser mit einem TOC unter 500 ppb für den robusten Routinebetrieb mit praxisrelevanten Hinweisen behandelt.

Die TOC-Analysenergebnisse können nicht „besser sein“, als durch das hergestellte und zu untersuchende Produkt Wasser vorgegeben. Im stabilen Dauerbetrieb ist eine anlagenspezifische Qualität des produzierten Wassers zu erwarten. Aus Sicht dieses Beitrags zählt nicht prioritär, welche Qualität „in der Anlage drin“ ist, sondern was im herzustellenden Produkt über die reguläre Entnahme „ankommt.“ Eine Diskussion, ob eine in-line-, oder eine off-line-TOC-Messung „besser“ ist, soll an dieser Stelle

nicht ausgeweitet werden. Vor der Untersuchung steht die Probenahme als Bindeglied zwischen der Aufbereitungsanlage und der Verwendung, in gleicher Weise für die Verwendung zur Analytik.

Robuste Probenahme

Das System der Probenahme muss zunächst robust sein, die Proben müssen repräsentativ und bis zur Untersuchung unverändert bleiben. Bei der Qualifizierung einer Wasseranlage mit zehn Entnahmestellen mit täglicher Entnahme über vier Wochen fallen ohne Wiederholungen 280 Proben an. Die Probenehmer sind entsprechend zu trainieren; qualifizierte Probengefäße aus inertem Materialien, z.B. Glas, mit geeigneten Verschlüssen müssen bereitstehen. Die Probengefäße sind in der Weise zu „widmen“, dass sie nur für Wasser, Reinstwasser und Reinstwasser verwendet

werden. Zwischenzeitliche Verwendung von kunststoffhaltigen Gefäßen und Verschlüssen für Lösungsmittel wie Methanol, Isopropanol und Ethanol schließt deren weitere Verwendung für Spurenanalysen TOC definitiv aus.

Kritische Einflussgrößen

Üblicherweise wird ein „Vorlauf“ vor der Probenahme festgelegt; von einer Desinfektion der Hähne ist vor der Probenentnahme abzuwenden. Weiterhin ist der Eintrag luftgetragenen Kohlenstoffs zu minimieren, da der Phasenübergang von Organik aus der Luft in das Wasser einen bekannten Kontaminationspfad darstellt. Deswegen sollte der Fluss aus dem Ventil laminar sein, die Probengefäße sind „strichvoll“ zu füllen. Nach vorliegenden Erkenntnissen ist die Standzeit von Proben vor chemischer Analyse unkritisch. Anders als im Fall der mikrobiologischen Prüfungen ist eine Zwischenlagerung im Kühlschrank nicht erforderlich. Die Versandkette, die gesamte Logistik nach erfolgter Probenahme, Zwischenlagerung, Transport zum Labor, und neuerliche Zwischenlagerung vor Analyse, ist in ähnlicher Weise zu prüfen und kurz zu halten.

Analysen mit Nachweisgrenzen von unter 50 ppb stellen hohe Anforderungen an Geräte, Ver-



TOC-VCSH/N

Wasser und Reinstwasser

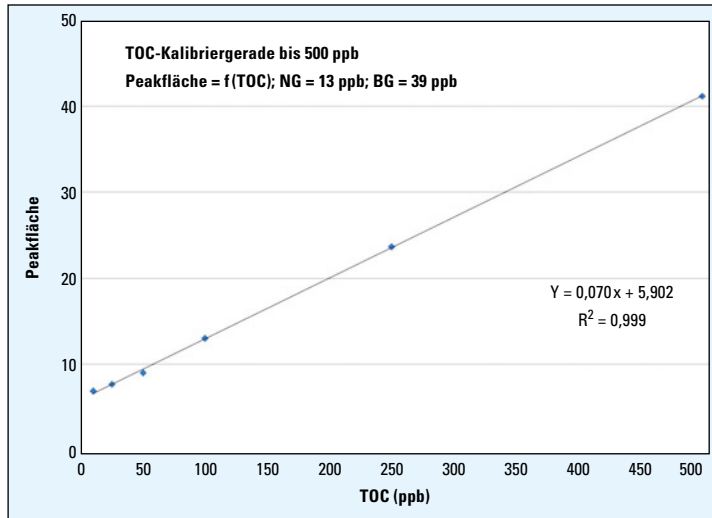


Abbildung 2: Beispiel einer Kalibriergeraden, NG und BG nach ICH(Q)R2

fahren und Bedienpersonal. Im TOC-Labor sollten keine olfaktorisch im ppb- und ppm-Bereich wahrnehmbaren organischen Verbindungen, und insbesondere auch keine organischen Lösungsmittel gehandhabt werden. Auch sollte das Bedienpersonal auf entsprechende Körperpflegemittel verzichten. Die Analyse von belasteten Wässern, zum Beispiel Abwässern, sollte aus Kontaminationsgründen nicht im gleichen Raum und an den gleichen Geräten durchgeführt werden.

Im einfachsten Fall kann die Probe direkt von der Entnahmestelle in das Probengefäß für das Analysengerät (hier als „Messgefäß“ zur Unterscheidung vom „Probengefäß“ für Entnahme und Transport bezeichnet) überführt werden. Dies muss unter minimalem Luftkontakt laminar erfolgen – mit verschlossenen Messgefäßen. Alternativ ist die Probe in gleicher Weise vom Probengefäß in das Messgefäß zu überführen. An die Messgefäße sind mindestens die gleichen Anforderungen wie an die Probengefäße zu stellen. Sollten die Messgefäße wiederverwendet werden, ist das Reinigungsverfahren zu validieren. Die Messgefäße sind vor Einsatz durch Spülen mit Reinst-

wasser zu konditionieren. In der Zusammenfassung sind die „ubiquitäre“ Beaufschlagung der Proben- und Messgefäße und der Eintrag luftgetragener organischer Verbindungen zu minimieren.

Übliche TOC-Bestimmungsverfahren sind UV-Radiolyse und katalytische Verbrennung mit nachfolgender IR-Detektion des gebildeten Kohlendioxids. Die Anzahl der Wiederholungsmessungen bzw. -injektionen bis zur Mittelwertbildung der Ergebnisse sind Geräte- und Programmspezifisch vorzugeben und in jeder Analyse zu bewerten. Zu den weiteren Voraussetzungen gehört, dass die Geräte qualifiziert und kalibriert sind und für die Untersuchung von Pharmawässern den vorgegebenen Systemeignungstest mit den Substanzen Benzochinon und Saccharose erfüllen. Die Arzneibücher beschreiben Vorgehensweisen und Grenzwerte, ohne dabei Vorgaben zur technischen Durchführung und insbesondere zur Oxidation und Detektion zu machen:

- Ein Systemeignungstest auf dem Niveau 500 ppb TOC ist vorgegeben
- Limit of Detection (LOD) ist $\leq 0,050$ ppm (≤ 50 ppb)

- „Reagent“ Water mit einem TOC-Gehalt $\leq 0,100$ ppm (100 ppb) ist gefordert
- „Reagent“ Water mit einer Leitfähigkeit $< 1,0$ $\mu\text{S}/\text{cm}$ bei 25 °C ist gefordert
- Anorganischer und organischer Kohlenstoff sind zu unterscheiden.

Die Gerätekalibration

Für das Gerät muss eine gültige Kalibrierung mit bekannten und nach ICH(Q)R2 berechneten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen vorliegen. Die Qualität von TOC-Messungen im Spurenbereich ist auch vom Aufbau der Messsequenz abhängig. Bewährt hat sich ein Verfahren, in dem mit Start der Sequenz zunächst zwei Proben Reinstwasser gemessen werden, um die Flusslinie zu konditionieren und zu äquilibrieren. Über die Standzeit des Geräts bis zur nächsten Messung können aus Leitungen und Ventilen Substanzen migrieren, die über diese beiden ersten Messungen ausgewaschen werden. Danach sollte eine Kontrollprobe mit zum Beispiel 250 ppb TOC, und dann eine Kontrollprobe Reinstwasser gemessen werden. Dann können alle Proben sequentiell gemessen werden.

Die Sequenz sollte von einer Kontrollprobe mit 250 ppb und einer Reinstwassermessung abgeschlossen werden; alle Ergebnisse sind in Kontrollkarten zu überführen. Die beiden Kontrollproben 250 ppb am Anfang und am Ende, nach diesem Vorschlag mitig im interessierenden Bereich bis zum Grenzwert 500 ppb TOC angelegt, sind als bracketing zu werten. Es kann so belegt werden, dass das Gerät über die vorgenommene Qualifizierung, die Kalibrierung und über den durchgeführten Systemeignungstest hinausgehend zum Zeitpunkt der Messung über die gesamte Sequenz hinweg richtig gearbeitet hat. Mit Hinweisen

zum Beispiel auf einen fälligen Katalysatorwechsel ist dies ein Beitrag zur Validierung der TOC-Spurenanalytik.

Fazit

Die geschilderten Vorgehensweisen erlauben es, Nachweisgrenzen um 15 ppb und Bestimmungsgrenzen um 50 ppb z.B. mit dem Shimadzu TOC V_{CPH} im robusten Routinebetrieb zu erreichen. Der TOC V_{CPH} arbeitet mit katalytischer Verbrennung mit anschließender NDIR-Detektion. Für den niedrigen Messbereich wird ein hochsensitiver Katalysator eingesetzt, der Injektionsvolumina von bis zu 2 ml erlaubt und diese niedrige Nachweisgrenze ermöglicht. Für viele Wasseruntersuchungen ist dies hinsichtlich Zeit und Kosten eine praktikable Lösung, wobei hier Proben aus der Reinigungsvalidierung, die praktisch durchweg höher belastet sind als Reinstwasser, ausdrücklich mit eingeschlossen sind.

Im Fall der Reinigungsvalidierung ist durch das Prinzip Verbrennung auch der Aufschluss suspendierter, partikulärer Kontaminanten gewährleistet. Dabei ist es nachrangig, dass für Wässer in der Pharmaindustrie üblicherweise insgesamt höhere Nachweisgrenzen vorgegeben sind als zum Beispiel in der Halbleiterindustrie. Es geht ja zunächst darum, einen hohen Bedarf ökonomisch abzudecken. Höhere Anforderungen bedingen dann höhere Aufwendungen nach prinzipiell gleichem Schema.

Gelesen in: GIT Labor-Fachzeitschrift
3/2010, Seite 186 bis 188

Dr. Wolfgang Woiwode
TECHPharm GmbH
Draisstraße 14 · 76646 Bruchsal
Deutschland

Definierte lineare und zyklische Oligomere mittels Recycling-GPC



π -konjugierte Oligomere definierter Länge haben in den letzten Jahren in einem immer stärker zunehmenden Maß an Aufmerksamkeit gewonnen. Sie sind nicht nur Modelle für die entsprechenden Polymere, sondern stellen selbst auch interessante Materialien dar, zum Beispiel für elektrooptische Anwendungen. [1] Oligomere sind im Prinzip defektfrei und mittels chromatographischer Techniken in sehr guten Reinheiten darstellbar. Gerade Letzteres ist nicht nur für die direkte Anwendung, sondern auch für das Verständnis der komplexen Vorgänge in elektronischen Bauelementen von fundamentaler Bedeutung. [2]

Ein Zugang zu definierten Oligomeren ist deren gezielte Synthese. Dabei wird das Oligomer mittels

geeigneter Schutzgruppentechnik und Kupplungsreaktionen schrittweise aus den entsprechenden Monomeren aufgebaut. Verlaufen die Reaktionen glatt, sind auf diese Weise präparativ nutzbare Mengen darstellbar, die in anschließenden Reaktionen weiter umgesetzt werden können.

Polymerisation – ein einziger Reaktionsschritt

Die gezielte Synthese wurde und wird für eine Vielzahl von konjugierten Systemen besprochen, jedoch leidet sie an dem teilweise beträchtlichen Synthesaufwand, der sehr zeit- und kostenintensiv sein kann. Eine Alternative dazu ist die (im Umsatz begrenzte) Polymerisation mit anschließender Auftrennung des gebildeten Oligomer- und Polymergemisches.

Die so zugänglichen Mengen eines bestimmten Oligomers sind begrenzt und die Möglichkeiten mehrstufiger Folgereaktionen ein-

geschränkt. Der Charme dieses Vorgehens liegt jedoch darin, dass in einem einzigen, einfach durchzuführenden Reaktionsschritt eine ganze Oligomerenserie zugänglich ist, mit der sich die Antworten auf bestimmte Fragestellungen (optische Eigenschaften, thermisches Verhalten, Elutionsvolumina, etc.) ermitteln lassen. Auch kann aus den Struktur-Eigenschafts-Beziehungen polymerhomologer Reihen eine Extrapolation auf das Verhalten des reinen, defektfreien Polymers vorgenommen werden. Die Trennung der Oligomere einer Polymerisationsreaktion ist prinzipiell mittels Gelpermeations-Chromatographie (GPC) möglich.

Da jedoch die Oligomerenpeaks oft auch dann noch nicht basisliniengetreunt sind, wenn mehrere Chromatographiesäulen in Reihe verwendet werden, geht das Schneiden der Fraktionen mit einem erheblichen Substanzverlust einher. Da mit jeder zusätzlichen Säule der Vordruck vor der

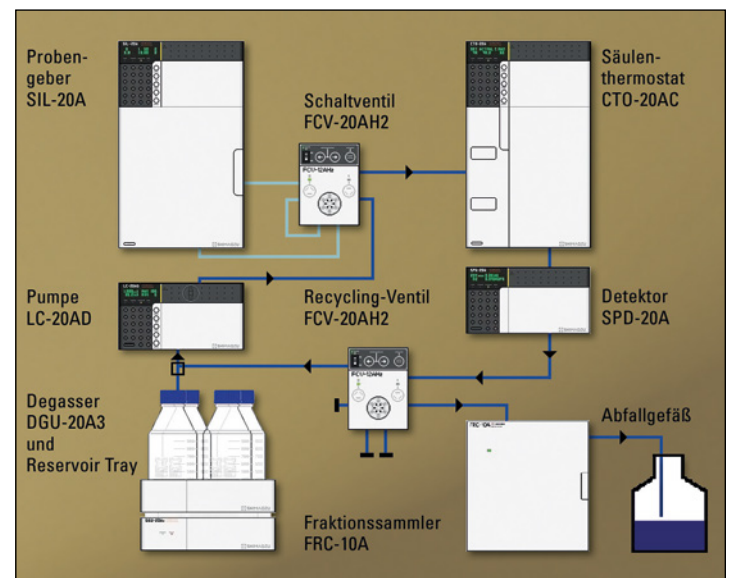


Abbildung 1: Shimadzu recGPC

klische Oligomere

ersten Säule ansteigt, sind der Verlängerung der Trennstrecke Grenzen gesetzt (der Vordruck nimmt etwa linear mit der Säulenlänge zu, die Auflösung dagegen nur mit der Wurzel der Säulenlänge).

recGPC – ein einfaches Prinzip

Eine einfache und elegante Lösung zu diesem Dilemma stellt die so genannte Recycling-GPC (recGPC) dar. Bei dieser Methode passiert die Probe mehrmals dieselbe Säulenkombination, womit sich die effektive Säulenlänge bei konstantem Arbeitsdruck verlängert. [3, 4] Trotz der Einfachheit dieses Prinzips und der Tatsache, dass mit dieser Methode in den letzten Jahren große Erfolge erzielt wurden, ist sie – besonders im deutschen Raum – nur wenig verbreitet.

Hier werden kurz zwei Anwendungen vorgestellt, bei denen der Einsatz der Recycling-GPC die Arbeit deutlich erleichtert bzw. erst ermöglicht hat. Dabei kommt die in Abbildung 1 aufgezeigte Gerätekonfiguration zum Einsatz.

Getrennt wurde an einem Satz von drei präparativen GPC-Säulen (10^3 \AA , 5μ , $20 \text{ mm} \times 300 \text{ mm}$, PSS, Mainz) mit THF (Tetrahydrofuran) als Eluent. Pro Injektion wurde in den hier vorgestellten Arbeiten zwischen 10 und 25 mg Substanzgemisch aufgetragen. Die getrennten Fraktionen wurden einrotiert und die Produkte durch Zugabe von Methanol ausgefällt. Nochmaliges Umfällen dient der Beseitigung letzter Reste des im THF enthaltenen Stabilisators. Die Analyse der Reaktionsrohprodukte sowie der

reinen Fraktionen erfolgte je nach Fragestellung mittels analytischer Methoden wie GPC (PS-Eichung), NMR-Spektroskopie, Massenspektrometrie sowie UV/VIS- und Fluoreszenzspektroskopie.

Ergebnisse

Phenylen-Butadiinylen-Oligomere **1** wurden durch oxidative Glaser-Kupplung der entsprechenden Bisacetylene erhalten. Die Abbildung 2 zeigt die Struktur der Oligomere und das Elutionsdiagramm des bei der Polymerisation erhaltenen Oligomerengemisches. Da die GPC eine Relativmethode zur Molmassenbestimmung darstellt, ist eine direkte Aussage über den tatsächlichen Polymerisationsgrad nicht möglich. Die Zuordnung der im Elutogramm aufgelösten Peaks erfolgte daher durch den Vergleich des Elutionsvolumens mit einem gezielt mehrstufig hergestellten Tetramer ($n = 4$).

Abbildung 3 zeigt, wie sich die Elutogramme der einzelnen Läufe im Recycling-Verfahren entwickeln. Nach jedem Durchlauf konnten zwei Oligomere abgetrennt werden und nach etwas mehr als drei Stunden standen die einzelnen getrennten Oligomere bis zum 17-mer rein zur Verfügung. Die bei dieser Trennung erhaltenen Mengen sind zwar gering, erlaubten aber die Eichung der analytischen GPC und sogar eine Extrapolation der Molekulargewichtsüberschätzung der PS-Eichung zu hohen Molmassen. Auf diese Weise konnten nun die tatsächlichen Molmassen und Polydispersitäten für diese Polymere bestimmt werden. Ebenso konnten Aussagen über die Entwicklung der optischen

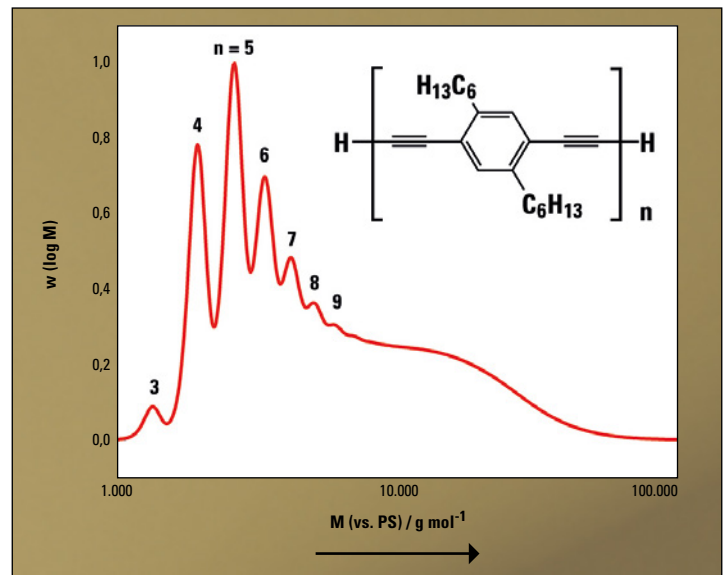


Abbildung 2: Struktur der Oligomere **1** und Molmassenverteilung des Oligomerisierungsansatzes (analytische GPC, PS-Eichung)

Eigenschaften mit steigender Molmasse gemacht werden. [5]

recGPC und rigide organische Strukturen

Die recGPC eignet sich aber auch hervorragend dazu, präparative Mengen zu reinigen. Seit geraumer Zeit beschäftigen wir uns mit der Synthese und Untersuchung zweidimensionaler rigider organischer Strukturen mit lateralen Abmessungen von mehr als 5 nm. Derartige Verbindungen sind nicht nur von Bedeutung für die Grundlagenforschung, sondern sie können auch helfen, Kompositmaterialien besser zu verstehen.

Bei der intramolekularen Zyklisierung eines offenen Vorläufermoleküls zum molekularen Speichenrad **2** konnte auch unter optimierten Reaktionsbedingungen die Bildung geringer Anteile an Dimeren und Oligomeren nicht verhindert werden. [6] Zwar sollte in diesem Fall ▶

Wir schicken Ihnen weitere Informationen gerne zu. Bitte notieren Sie hierfür die entsprechende Kennziffer auf der Antwortkarte. **Info 382**

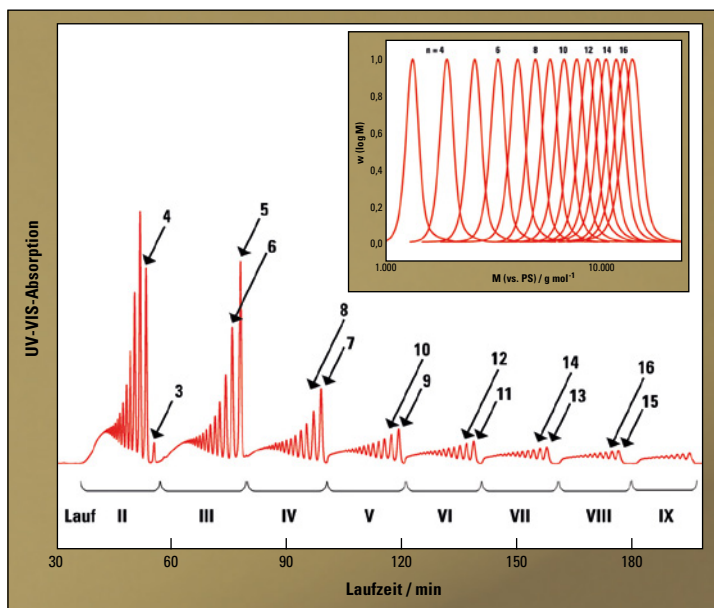


Abbildung 3: Elugramme acht aufeinander folgender Durchläufe. Bei jedem Durchlauf wurden die jeweils ersten beiden Oligomere abgetrennt. Rechte obere Ecke: Molmasenverteilungen der getrennten Oligomere (n = 3 bis 17) aus analytischer GPC.

auch eine Trennung mittels gewöhnlicher GPC möglich sein, doch der mit dem Schneiden der nicht basisliniengetreten Peaks einhergehende Substanzverlust wäre in Anbetracht der mehrstufigen Vorläufersynthese nicht akzeptabel. Mittels recGPC konnten dagegen in einem Trennungslauf (sechs Zyklen) 25 mg des nanoskaligen Speichenrads rein erhalten werden, so dass genügend große Mengen für anschließende Untersuchungen an diesen Verbindungen zur Verfügung standen.

Fazit

Die recGPC ist eine äußerst wertvolle Methode, um Substanzen aus schwer trennbaren Reaktionsgemischen in reiner Form zu isolieren, wobei sowohl analytische als auch präparative Trennungen möglich sind. Damit wer-

den Synthesen durchführbar, die früher aufgrund erwarteter Trennprobleme gar nicht ins Auge gefasst wurden. Darüber hinaus ist die recGPC auch als ergänzende Methode der Reinheitsbestimmung von großem Nutzen, da manche Verunreinigungen mehrere Durchläufe benötigen, um sich deutlich vom Hauptprodukt abzusetzen. Diese Technik ist nicht nur auf die GPC beschränkt, sie kann auch auf andere flüssigchromatographische Trenntechniken (zum Beispiel Reversed Phase) angewandt werden.

Sigurd Höger*, **Dennis Mössinger**
 *Kekulé-Institut für Organische Chemie und Biochemie, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Gerhard-Domagk-Str. 1, 53121 Bonn, Deutschland
Dennis Mössinger, Neue Adresse: CORDENKA GmbH, Industrie Center

Vorankündigung: Workshop „Präparative Recycling-LC“

Am 29.09.2010 findet am Kekulé-Institut der Universität Bonn ein Workshop statt, welcher die Anwendung, Konfiguration und Optimierung von LC-Recycling-Methoden zum Thema hat. Die Teilnahme ist kostenlos.

Weitere Informationen und die Möglichkeit zur Online-Anmeldung finden sie auf unserer Website.

<http://www.shimadzu.de/termine/seminare/Recyc-HPLC.asp>

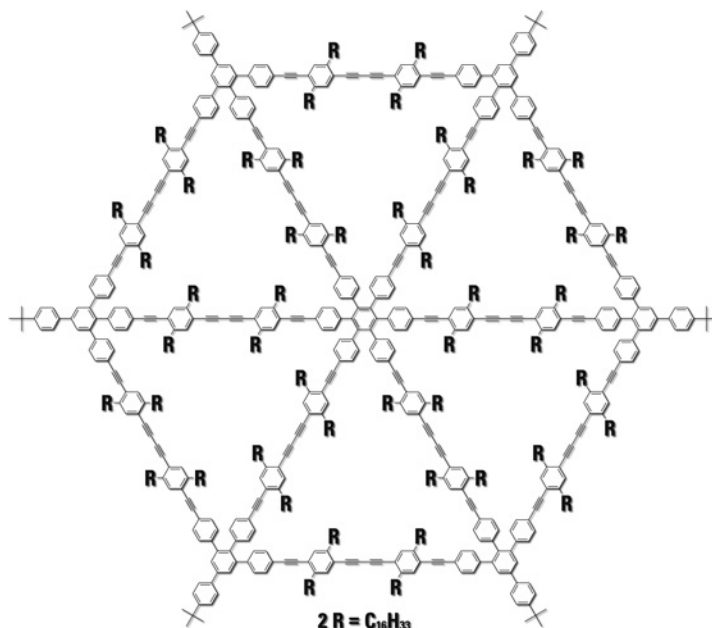


Abbildung 4: Strukturformel des molekularen Speichenrads **2** (Ø = 8 nm). **2** konnte im letzten Schritt mit präparativer recGPC aufgereinigt werden (Abbildung 5).

Obernburg, 63784 Obernburg, Deutschland

Biophys., Supp. 1, 1962, 152.

- [4] A. M. Striegel, W. W. Yau, J. J. Kirkland, D. D. Bly, Modern Size-Exclusion Liquid Chromatography, 2nd Ed.; J. Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2009.
- [5] D. Mössinger, S.-S. Jester, E. Sigmond, U. Müller, S. Höger, Macromolecules 2009, 42, 7974.
- [6] D. Mössinger, D. Chaudhuri, T. Kudernac, S. Lei, S. De Feyter, J. M. Lupton, S. Höger, J. Am. Chem. Soc. 2010, 132, 1410.

Literatur

- [1] K. Müllen, G. Wegner, Electronic Materials: The Oligomer Approach, Wiley-VCH, Weinheim, 1998.
- [2] M. Wolfs, P. A. Korevaar, P. Jonkheijm, O. Henze, W. J. Feast, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, Chem. Commun. 2008, 4613.
- [3] J. Porath, H. Bennich, Arch. Biochem.

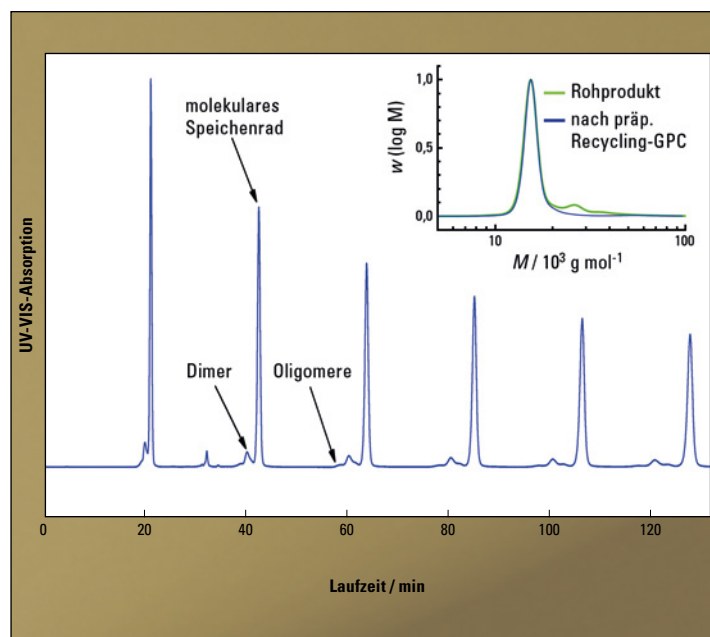


Abbildung 5: Elugramme sechs aufeinander folgender Zyklen. Der basisliniengetrennte Hauptpeak des molekularen Speichenrads **2** wurde anschließend abgetrennt.

UHPLC im praktischen Einsatz

LC-30A Nexera

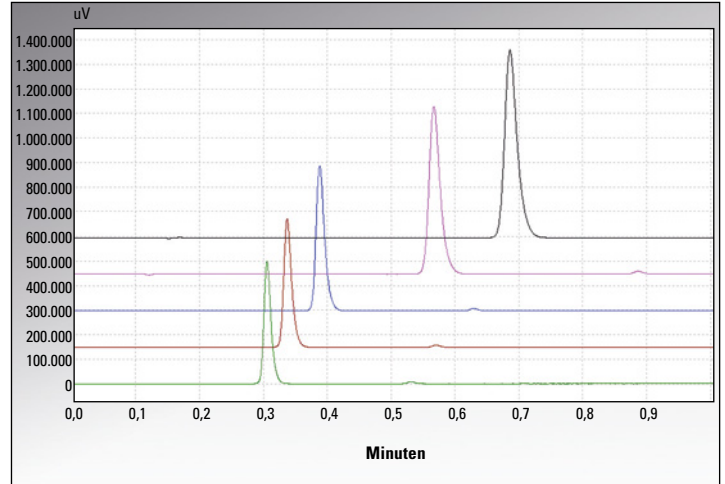


Abbildung 1: Substanzgemisch bei verschiedenen Flussraten (schwarz: 0.8 ml/min; pink: 1.0 ml/min; blau: 1.5 ml/min; braun: 1.8 ml/min; grün: 2.0 ml/min)

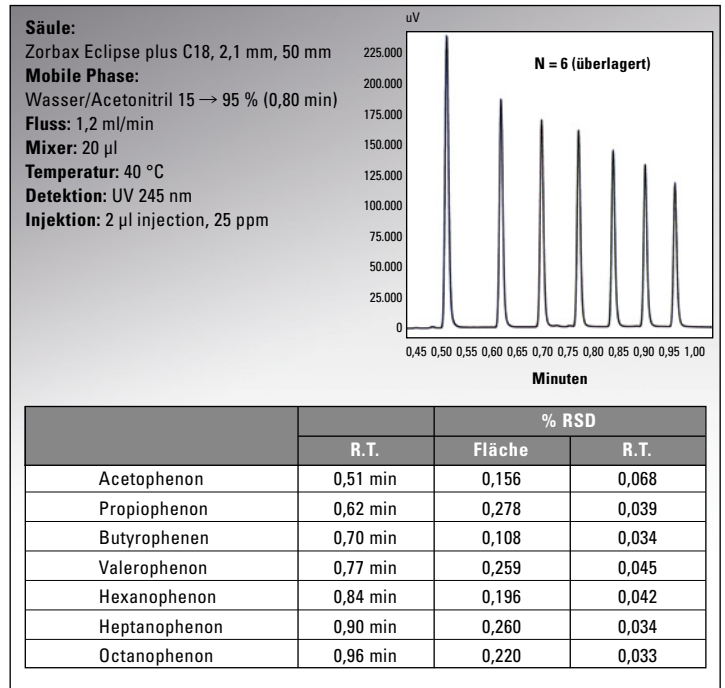


Abbildung 2: Überlagerung von sechs Chromatogrammen

Menschen sind Fluchttiere. Allein schon aus genetischen Gründen stehen sie Neuerungen erst mal distanziert gegenüber. Nicht anders bei der UHPLC.

„UHPLC ist nichts Neues“, „alle UHPLC-Systeme sind gleich“, sind einige der vorgefassten Meinungen und Aussagen. Warum wird aber dennoch jede neue UHPLC wieder und wieder auf Herz und Nieren geprüft? Und warum sind die Nutzer zumeist überrascht, dass eben doch nicht alles so ist, wie es scheint oder dass es doch besser geht?

Was also muss Nexera über sich ergehen lassen, was wird getestet und mit welchem Ergebnis?

Jeder Test ist anders, das Hauptaugenmerk ist dabei wesentlich von den Einsatzzielen bestimmt. Teilweise werden bestehende Standardarbeitsvorschriften angewandt, teilweise sind bestimmte Abteilungen und Arbeitsgruppen angehalten, einen umfassenden Test durchzuführen. Dabei stehen zumeist praktische Aspekte im Vordergrund (das heißt reale Trennbeispiele und chromatographische Bedingungen wie sie in der Alltagsroutine vorkommen), da sich gezeigt hat, dass das Testen von speziellen Gradientenprofilen für den späteren Einsatz in der Routine nur bedingt aussagekräftig ist.

Eine Verallgemeinerung über das, was getestet wurde und wird

und über das Wie ist relativ schwierig. Die folgende Gliederung erscheint für eine Übersicht am besten:

Fluss- und Druckbereich

Ein häufiger Test ist das Vervielfachen der Flussrate und die Kontrolle, ob die Chromatographie im gleichen Verhältnis die Retentionszeiten verkürzt. Dieser Ansatz ist für eine Fast-LC nicht unbedingt die Methode der Wahl – die entscheidende Frage dürfte wohl sein: Wie sehr lässt sich die Flussrate erhöhen bis das Drucklimit erreicht wird? Im Umkehrschluss kann man daraus ableiten, dass eine Verdopplung beziehungsweise eine Verdreifachung der Trennstrecke bei Beibehaltung des Säulenmaterials möglich ist, was die Anzahl der möglichen Trennstufen und damit die chromatographische Auflösung erheblich vergrößert. Das Beispiel der Abbildung 1 zeigt die Trennung eines Stoffgemischs bei unterschiedlichen Flussraten.

Mischverhalten

Da gerade bei UHPLC-Applikationen das Systemvolumen eine wichtige Rolle spielt, sind kleine Mischvolumen mit bestmöglicher Durchmischung der Bestandteile der mobilen Phase ein erster Schritt. Berücksichtigt werden muss allerdings, dass komplexe Gemische oder Zugabe von Ionenpaar-Reagenzien durchaus ein größeres Mischvolumen erfordern.

Gradienten

Ein weiterer Test betrifft die Gradientengenauigkeit und -reproduzierbarkeit. Hierfür werden oft lange und flache Gradienten verwendet, bei gleichzeitiger Trennung komplexer Gemische wie zum Beispiel der tryptische Verdau eines Proteins.

Ein nachfolgendes Übereinanderlegen der Chromatogramme von Retentionszeiten und (oder) Peakflächen zeigt dann, was ein UHPLC-System leisten kann.

Vielerorts werden solche Tests auch gern mit Standardgemischen vorgenommen, da sie neben den Ergebnissen für ein spezielles Gerät auch einen Vergleich zwischen unterschiedlichen Geräten gestattet.

Probenaufgabe, Linearität und Verschleppung (Carry Over)

Im Falle der *Nexera* steht der Autosampler im Mittelpunkt von Aufmerksamkeit und intensivem Test. Verschleppung, Geschwindigkeit und Linearität sind Spezifikationen, die entscheidend die Resultate des UHPLC-Systems beeinflussen – und oft als ‚die Killerkriterien‘ gelten. So ist es nicht verwunderlich, dass Verschleppungstests unter erschwerten Bedingungen durchgeführt werden.

Abbildung 3 zeigt die Resultate eines Carry-Over-Tests für zwei trizyklische Antidepressiva (Amitriptylin und Desipramin) mit LCMS-2020 als Detektor, wobei neben der Standard-Spülprozedur die weiteren Spüloptionen schrittweise hinzugezogen werden. Das Beispiel zeigt, dass bei Einsatz bereits eines Teils der umfangreichen Spüloptionen die

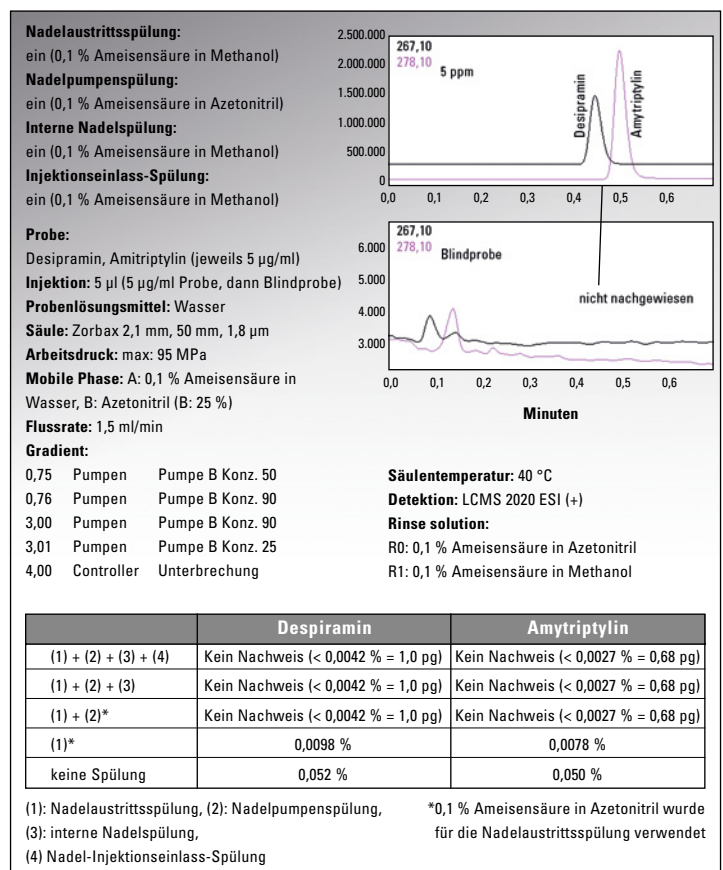


Abbildung 3: Carry-Over-Test und Resultate

Verschleppungen mit MS nicht mehr detektierbar sind.

Schnelle Injektion ist vor allem bei Ultrafast-Trennungen und

höchster Probenkapazität bedeutend. Neben der Geschwindigkeit der Injektion ist die Zykluszeit entscheidend, meist gemessen vom Start-Befehl des chromatographischen Systems bis zum Ende des Zyklus.

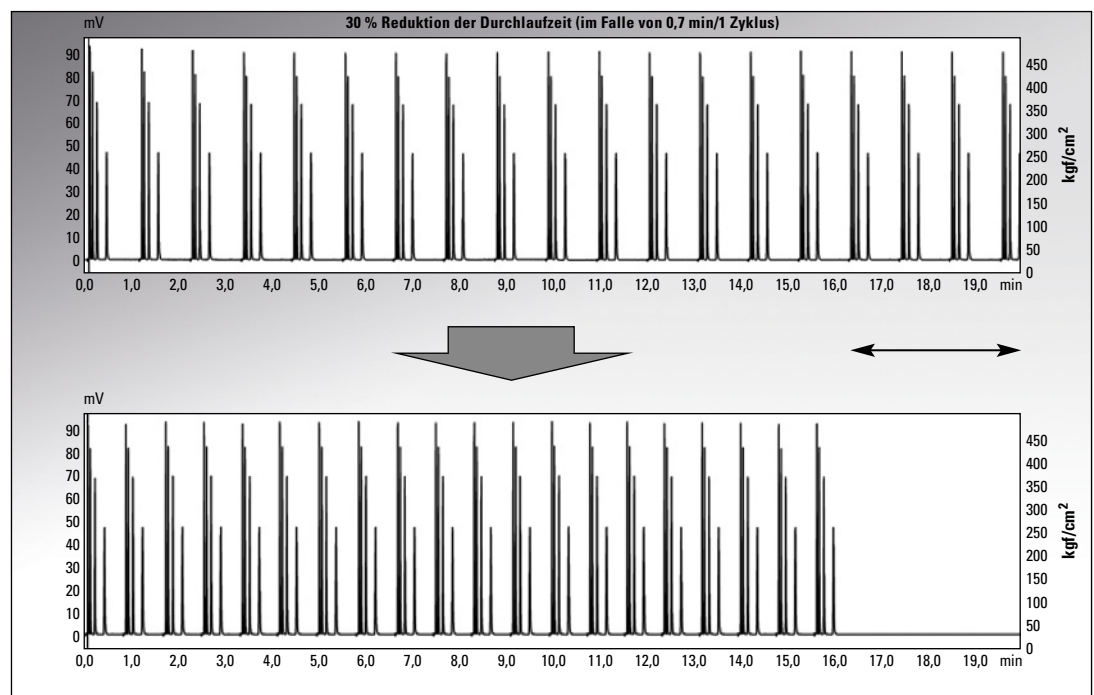


Abbildung 4: Beispiel – überlappende Injektion und Auswirkung auf die Gesamtanalysenzeit

graphischen Run bis zur nächsten Injektion, da diese nicht nur die absolute Injektionsgeschwindigkeit, sondern auch nachfolgende Spülschritte und damit verbundene Ventilschaltungen und Nadelbewegungen umfasst. Neu implementierte Funktionen wie zum Beispiel die überlappende Injektion verkürzt die Zeit pro Analyzenzyklus, so dass teilweise erhebliche Zeiteinsparungen möglich sind.

In solchen Beispielen werden neben der Qualität des Injektors auch die Stabilität der Trennsäule und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse dargestellt. Abbildung 5 zeigt Ultra-Fast-Trennungen – als Ausschnitte sind die Chromatogramme der ersten und der fünfzigsten Injektion dargestellt. Die Tabelle der Peak-Parameter zeigt, dass keine wesentliche Änderung an Auflösung und Retentionszeit erfolgt ist.

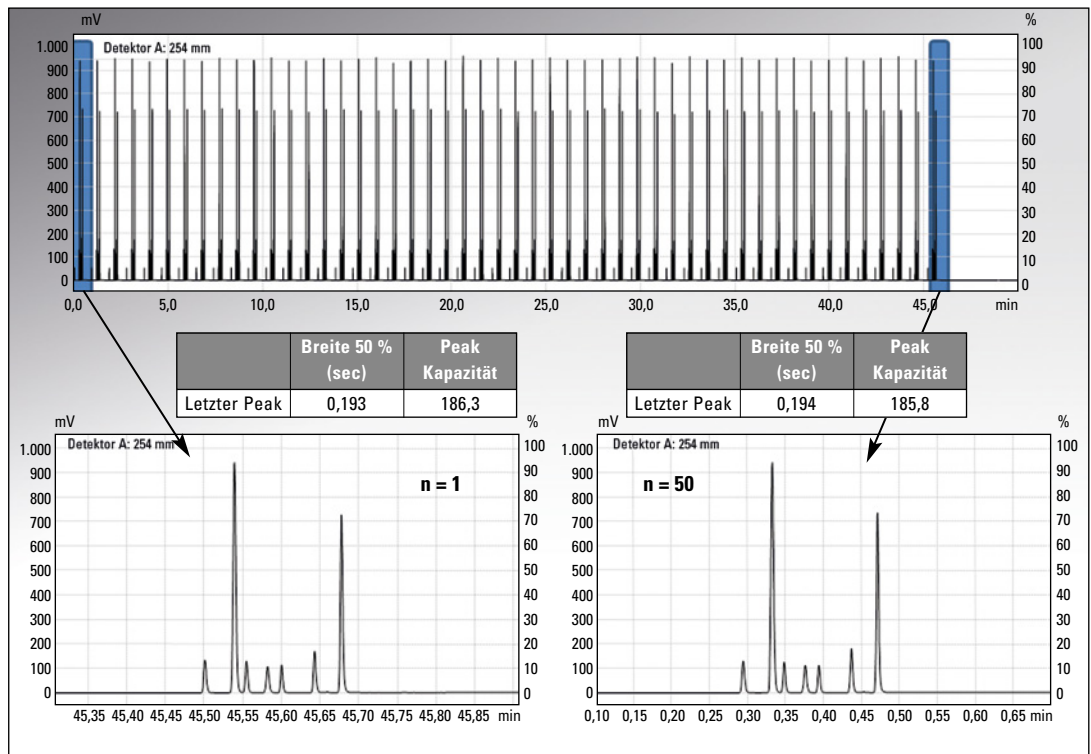


Abbildung 5: Fast Injection – Stabilität der Trennungen am Beispiel der ersten und der letzten Trennung

Detektion

Alle durchgeführten Tests erfordern neben stabilem Druck, effizienter Mischung und schneller, präziser und verschleppungsfreier Injektion eine hochempfindliche Detektion. Um dies zu gewährleisten, sind eine Datenaufnahme von bis zu 100 Hz für Standard-Detektoren (UV, PDA und Fluoreszenz) und eine temperierte Flusszelle für geringes Rauschen wesentliche Parameter. Das LCMS-2020 erweist sich hier als hochempfindlicher und UHPLC geeigneter Massendetektor, wie das Trennbeispiel in Abbildung 6 zeigt.

Selbstverständlich kann hier nur ein Überblick über einzelne Tests gegeben werden, die nicht alle Einzelheiten enthalten, und ganz gewiss werden noch viele Fragen unbeantwortet bleiben. Aber UHPLC ist eben mehr als nur eine ‚high end‘ HPLC – auch wenn es zuallererst dies immer wieder zu beweisen gilt.

Wir schicken Ihnen weitere Informationen gerne zu. Bitte notieren Sie hierfür die entsprechende Kennziffer auf der Antwortkarte. **Info 383**

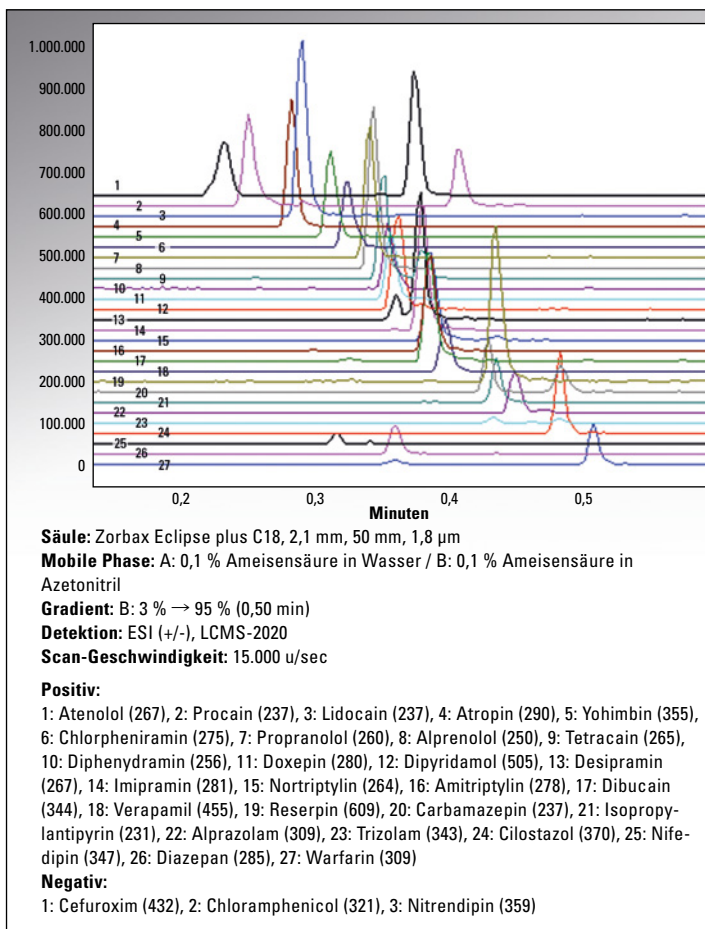


Abbildung 6: Analyse von 30 pharmazeutisch relevanten Wirkstoffen in einer Trennung mit schnellem Umschalten der Messung für positive und negative Ionen und Ausnutzen des schnellen Scan (15.000 u/sec)

Die ab sofort erhältliche präparative HPLC-Pumpe LC-20AP tritt die Nachfolge der erfolgreichen, LC-8A an. Bei der Entwicklung der LC-20AP wurde ein starkes Augenmerk auf die Anforderungen an moderne präparative HPLC-Pumpen gelegt.



Abbildung 1: LC-20AP präparative HPLC-Pumpe

Neben den im Folgenden näher ausgeführten Hauptmerkmalen wurde zum Beispiel auch die Leistungsaufnahme um 40 % gesenkt – durch den neuen Antriebsmotor und die neue Leistungselektronik.

Der Flussratenbereich der Pumpe erstreckt sich vom analytischen bis ins präparative Feld. Die hohe Auflösung und exzellente Reproduzierbarkeit erlauben ein „Scale-up“ vom analytischen bis zum präparativen Bereich auf ein und demselben System – man kann also von einer neuen Ära präparativer HPLC-Pumpen sprechen.

Aufgrund der Konstruktion und der gut durchdachten Materialauswahl ist es möglich, mit der LC-20AP bei einem maximalen Gegendruck von 42 MPa mit einer Flussrate bis zu 100 ml/min (35 MPa bei 150 ml/min) zu arbeiten.

Exzellente Präzision

Bei präparativen HPLC-Pumpen ist eine gute Flussratenpräzision extrem wichtig, um auf Zeitfenstern basierende Fraktionierungen zuverlässig durchzuführen. Sogar ohne Lösungsmittelentgasung ist die LC-20AP in der Lage, exzellente Reproduzierbarkeit zu liefern.

Die neue Ära

Präparative HPLC Pumpe LC-20AP vorgestellt

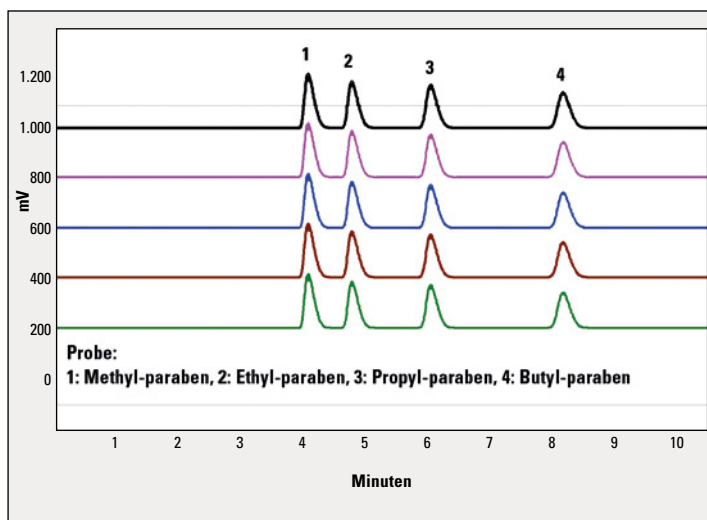


Abbildung 2: Chromatogramm Overlay

Das folgende Beispiel zeigt die Wiederholung von sechs Injektionen unter analytischen Bedingungen, was für präparative HPLC-Pumpen eine Herausforderung ist.

Im Ergebnis sieht man für jede Komponente eine Retentionszeitenreproduzierbarkeit von weniger als 0,2 % RSD (Relative Standardabweichung). So ein Ergebnis ist mit konventionellen prä-

parativen HPLC-Pumpen nicht zu erreichen.

Analytische Bedingungen

- Säule: Shim-Pack VP-ODS 4,6 mm i.d._250 mm L, 5 µm
- Mobile Phase: 0,05% Ameisensäure / Methanol = 3 / 7 (v/v)
- Flussrate: 1,0 ml/min
- Temperatur: 40 °C
- Detektion: Absorption 260 nm
- Injektionsvolumen: 10 µl

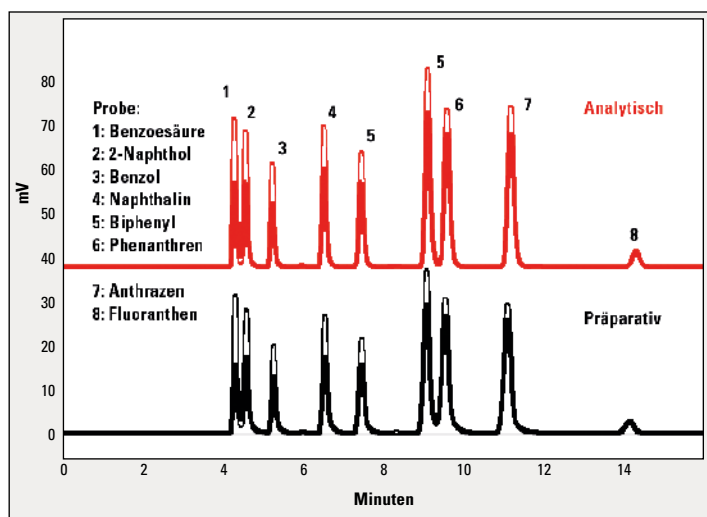


Abbildung 3: Vergleich analytische Trennung und präparative Trennung

Analytische und präparative Trennungen auf ein und demselben System

Die hohe Systempräzision erlaubt es, analytische Läufe sowie ein „präparatives Scale-up“ mit höchster Zuverlässigkeit durchzuführen. Die Spezifikation für die Flussratenpräzision (0,1 % RSD oder 0,02 min SD) wird normalerweise nur mit analytischen HPLC-Pumpen erreicht.

Im folgendem Beispiel sieht man den Vergleich einer analytischen Trennung mit einer präparativen Trennung unter Verwendung von gepaarten Säulen (gleiches Packungsmaterial bei unterschiedlichen Säulen Dimensionen für analytische und präparative Säule). Das Volumenverhältnis zwischen präparativer und analytischer Säule liegt bei ca. 19.

Wird dieses Verhältnis als „Scale-up-Faktor“ für eine analytische Trennung bei einer Flussrate von 0,8 ml/min verwendet, kommt man auf eine präparative Flussrate von 15 ml/min. Wie der Chromatogramm-Vergleich zeigt, sind die beiden Chromatogramme nahezu identisch. Dadurch ist es möglich, ein „Scale-up“ sowie die Einstellung der Parameter für die Fraktionierung mit großer Zuverlässigkeit durchzuführen. Damit ist es nicht mehr notwendig, kostbare Substanzen zu opfern, um präparative Methoden zu optimieren.

Analytische Bedingungen

- Säulen: Shim-Pack PREP-ODS(H) Kit
- Analytische Säule: 4,6 mm i.d._250 mm, 5 µm
- Präparative Säule: 20 mm i.d._250 mm, 5 µm
- Mobile Phase: 0,1 % Ameisensäure/Methanol = 1/9 (v/v)
- Flussrate: A) 0,8 ml/min, B) 15 ml/min
- Detektion: Absorption 254 nm

Zuverlässigkeit

Hinsichtlich Betriebskosten und Zuverlässigkeit ist die LC-20AP

erste Wahl, da durch Materialien und Konstruktion der Verschleiß von Verbrauchsteilen extrem minimiert wurde. Bei der LC-20AP wurden völlig neue Kolben, Kolbendichtungen und Ventile verwendet. Die neue Konstruktion der Ventile erlaubt aufgrund der minimalen Kontakt-



Abbildung 4: Lösungsmittelauswahlventil

oberflächen ein zuverlässiges Fördern der Lösungsmittel, da die neuen Ventile auch bei Verschmutzung nur schwer verkleben.

Flexibilität und Erweiterbarkeit

In Kombination mit den *prominence* HPLC-Modulen erhält man eine nahezu unlimitierte Systemflexibilität, die alle Wünsche an die präparative Flüssigkeitschromatographie erfüllen. Die folgenden Beispiele zeigen nur einige der vielen Möglichkeiten.

a) Lösungsmittelförderung und Lösungsmittelauswahl:

Jede Pumpe kann mit einem mehrfachen Lösungsmittelauswahlventil (FCV-230AL) bestückt werden, was eine Auswahl der mobilen Phase sowie der Spülflüssigkeit erlaubt. Mit den Pumpen lassen sich binäre und auch ternäre Hochdruckgradienten realisieren.

b) Hochdruckschaltventile:

Das System kann mit bis zu sechs Hochdruckschaltventilen für unterschiedliche Zwecke (zum Beispiel Probenaufreinigung mittels Trap-Säule) ausgestattet werden. Das folgende Beispiel zeigt ein präparativ/analytisches System, bei dem mit einem Hochdruckschalt-

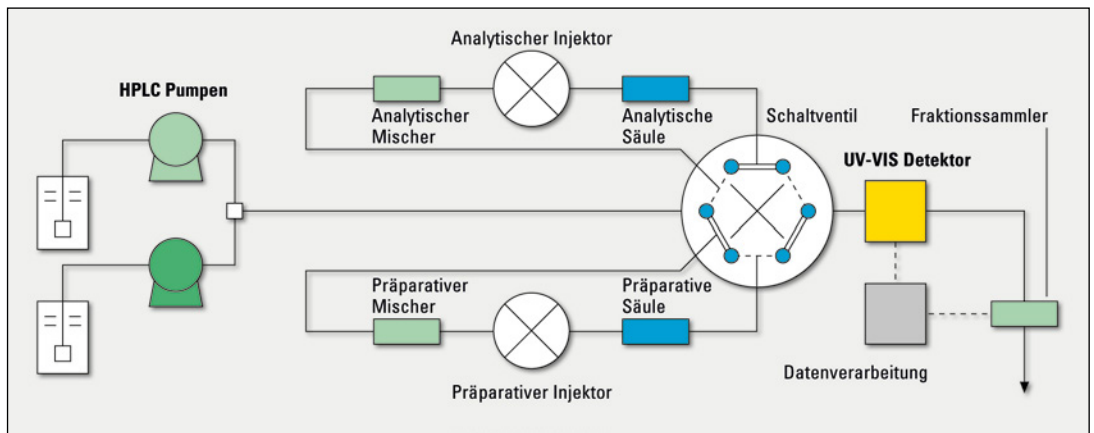


Abbildung 5: Beispiel eines präparativ/analytischen Systems mit Hochdruckschaltventil

	Methyl-paraben	Ethyl-paraben	Propyl-paraben	Butyl-paraben
Retention 1	4,132	4,832	6,094	8,217
Retention 2	4,133	4,833	6,095	8,219
Retention 3	4,134	4,833	6,095	8,219
Retention 4	4,133	4,832	6,094	8,218
Retention 5	4,133	4,833	6,095	8,219
Retention 6	4,133	4,833	6,095	8,218
Mittelwert	4,133	4,833	6,095	8,219
S.D.	0,0006325	0,0005164	0,0005164	0,0008367
% RSD	0,015	0,011	0,008	0,010

Tabelle 1: Ergebnisse zu Abbildung 2 (Wiederholung von sechs Injektionen unter analytischen Bedingungen)

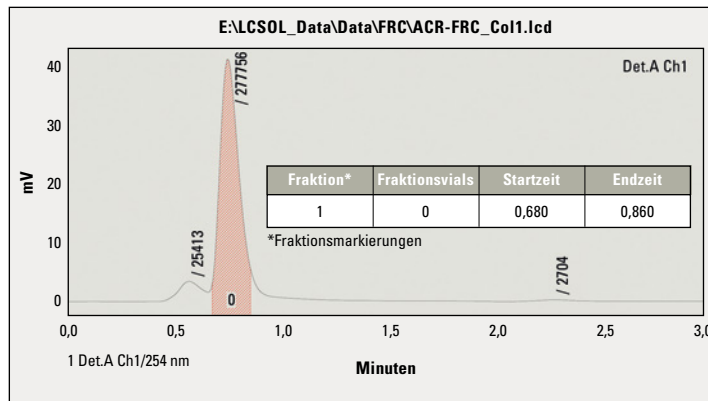


Abbildung 6: Beispiel: Ausschnitt aus einen Fraktionsreport

ventil die Kombinationen „analytischer Mischer/analytische Säule“ und P „präparativer Mischer/präparative Säule“ nach Bedarf geschaltet werden.

c) Verschiedene Injektionsmodi (Injektoren, Ventilinjektionen):

Shimadzu bietet unterschiedliche Autoinjektoren sowie manuelle Injektoren an. Fast alle analytischen Injektoren lassen sich durch Installation größerer Probenschleifen auf den präparativen Einsatzbereich erweitern. Zusätzlich

steht der SIL-10AP, ein präparativer Autoinjektor, zur Verfügung, der Injektionsvolumina bis 5 ml erlaubt. Für den Large-Scale-Bereich bietet sich noch die Möglichkeit, die Probe über Schaltventile zu injizieren.

d) Der Fraktionssammler FRC-10A:

Kombiniert mit dem FRC-10A lässt sich ein vollautomatisches präparatives HPLC-System konfigurieren. Die Fraktionierung kann nach unterschiedlichen Kriterien erfolgen, wie

zum Beispiel Fraktionierung gemäß „Basislinien-Slope“ und/oder „Signallevel“ sowie Fraktionierung gemäß fester Zeitfenster und auch deren Kombination. Eine Simulationsfunktion erlaubt die gewünschten Parameter und Zeitfunktionseinstellung anhand zuvor gespeicherter Chromatogramme.

Informationen wie Fraktionsmarkierungen und Fraktionsvials gehören zum Datenfile und stehen zur Ansicht bei der Nachbearbeitung oder als Report zur Verfügung.

Entsprechend der Benutzeranforderung können verschiedene Sammelgefäße sowie „User-Racks“ und auch ein „Large Scale Kit“ für das Sammeln in Flaschen verwendet werden.

Der Zeit voraus

Zugprüfregelung mit Köpfchen



Abbildung 1: AG-X 50kN, Extensometer SSG 50-10H, TrapeziumX Software.

Die Neuregelung der ISO 6892 zur Zugprüfung von Metallen erfordert vor allem präzise Sensoren und eine flexible Software.

Zugversuche, um die maximale Bruchkraft zu bestimmen sowie das elastische Verhalten, sind die essentiellen Voraussetzungen zur Ermittlung der Eigenschaften eines Materials. Dies gilt in gleichem Maße für metallische wie auch für plastische oder keramische Werkstoffe. Durch die häufige Verwendung von Metallen in der Konstruktion von komplexen Gebilden wie Brücken, Hochhäusern, Autos und Schiffen, aber auch einfacherer Produkte wie Trageile oder Hochspannungsleitungen, bedarf es hier einer stark vereinheitlichten Messbestimmung, die sich wesentlich in den Normen ISO 6892 und EN 10002 wieder findet.

Allerdings konnte in der Vergangenheit gezeigt werden, dass abhängig von den verwendeten

Prüfsystemen, die Vergleichbarkeit nicht mehr gegeben war, da die Norm lediglich eine kraftgesteuerte Regelung erforderte. Unterschiedlich träge oder unpräzise Prüfmaschinen liefern hier unterschiedliche Ergebnisse, insbesondere bei den Streckgrenzen R_e sowie den Dehngrenzen R_p . Dieser Umstand machte eine Neuregelung der Norm erforderlich.

Seit Dezember 2009 ist die neue ISO 6892-1 publiziert, die die alte ISO 6892 sowie die EN 10002 ablöst und nun eine spannungs- oder dehnungsgeregelte Zugprüfung erfordert. Für viele Geräte bedeutet das eine sehr kostspielige Um- beziehungsweise Nachrüstung, nicht aber für die elektro-mechanischen und hydraulischen Zugprüfmaschinen der AG- und UH-Serie von Shimadzu. Denn hier wurde dank dem Zusammenspiel von modernsten Kraft- und Weglängensensoren sowie einem ultraschnellen Kontroller als gemeinsame Schnittstelle vorgesorgt, dass auch künftige Normen



Abbildung 3: Typischer Versuchsaufbau: Stahlzugprobe nach DIN 50125 mit manuellem Keilspannzeug und handaufgesetztem Dehnungsaufnehmer

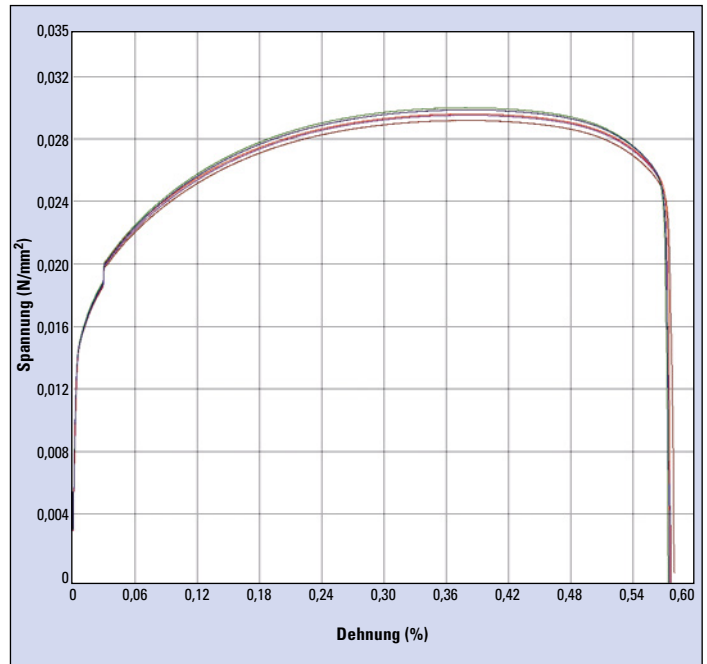


Abbildung 2: Dehnungsgeregeltes Spannung (Stress) – Dehnung (Strain) Diagramm von Stahlproben. Im Spannung (Stress) – Dehnung (Strain) Diagramm werden die Kurvenverläufe gezeigt, nach der Umschaltung der Geschwindigkeiten. Zur besseren Ansicht, wurden die Kurven etwas verschoben.

spielend leicht in der Realität angewendet werden können.

Unterstützt wird dies durch die flexible Trapezium-X-Software, die derartige Regeländerungen als Messmöglichkeit bereits integriert hat. Somit lassen sich neue Messmethoden wie im Falle der neuen ISO 6892-1 mit wenigen Mausklicks spielend umsetzen. Als Resultat erhält man die erforderlichen sehr präzisen Spannungs-Dehnung-Diagramme (Abbildung 2).

Ganz aktuell

Die Revision der ISO 6892-2 zur Zugprüfung von Metallen bei höheren Temperaturen ist übrigens auch gerade in der Überarbeitung. Shimadzu kann sie bereits ...

Kostenlose Beratung und Vorführung:
Einfach Termin vereinbaren unter www.shimadzu.eu oder shimadzu@shimadzu.eu

Wir schicken Ihnen weitere Informationen gerne zu. Bitte notieren Sie hierfür die entsprechende Kennziffer auf der Antwortkarte. **Info 384**