

NEWS

*Solutions for Science
since 1875*



Ein guter Kommunikator:
Der neue Online-TOC
TOC-4200

Von gut zu besser:
Kai-zen – unser Streben
nach Verbesserung

Sicherer durch Glas
auf der Straße?
Partikelmessung von
Glaskügelchen

Fast allgegenwärtig:
Bisphenol A in Plastik-
verpackungen

Ein guter Komm

APPLIKATION

- Kaviar und Zigaretten** – FTIR-ATR-Analyse von Alginat auf Zigarettenpapier »4
- Auf der Suche nach neuen antibiotisch-wirksamen Substanzen** – LC-IT-TOF-MS von alkylierten Neomycin-Antibiotika »6
- Kai-zen für maximale Leistung** – Nexera in der kontinuierlichen Verbesserung »8
- SQTs – vorbeugend gegen Virusinfektionen und Krebs?** – Biologische Wirkungen ausgewählter Sesquiterpene und Terpenoide sowie von Naturprodukten die diese enthalten »10
- Heiße Spitzentechnologie** – Graphitrohre für elektrothermische Atomisierung »14
- Ersatzleber für die Simulation einer Schlüssellochoperation** »16
- Weiche Stoffe in harten Getränken** – Eintrag endokriner Disruptoren in Lebensmittel »18
- Glas auf der Straße erhöht die Fahrsicherheit** – Partikelmessung von Glaskügelchen »20
- Fast allgegenwärtig** – Bestimmung von Bisphenol A in Plastikverpackungen »22
- Kontaminationen von Pflanzenöl mit Mineralöl** – Bestimmung von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen in Pflanzenölen mit GC »26

PRODUKTE

- Ein guter Kommunikator** – Der neue TOC-4200 »2
- Argusaugen** – Neue Klasse von UV-VIS Zweistrahlenspektrophotometern »24

TIPPS & TRICKS

- Leicht ist schwierig** – Tipps für die Bestimmung leichter Elemente »13



Die neue Online-Generation: TOC-4200

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 86 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: 7.670 · Englisch: 21.850

© Copyright:
Shimadzu Europa GmbH, Duisburg,
März 2012. Nachdruck, auch auszugsweise,
nur mit Genehmigung der Redaktion gestattet.

Windows ist Warenzeichen der Microsoft Corporation. ©2012 Apple Inc. Alle Rechte vorbehalten. Apple, das Apple Logo, Mac, Mac OS und Macintosh sind Warenzeichen von Apple.



Abbildung 1: TOC-4200

TOC-Werte einfach und schnell zu bestimmen, ermöglicht der Einsatz von TOC-Prozessanalysatoren. Sie überwachen kontinuierlich die organische Kohlenstoffbelastung in den verschiedensten Applikationen. Bei einem Prozessanalysator ist es wichtig, dass er wartungsarm und relativ autark arbeitet. Diese Anforderungen sind im neuen TOC-4200 umgesetzt.

Wartungsarmer Analysator

Der TOC-4200 ist ein leistungsfähiger Analysator, der mit einer katalytischen Verbrennung bei

680 °C arbeitet. Die Temperatur liegt damit unterhalb des Schmelzpunkts von Natriumchlorid. Damit wird verhindert, dass eine Schmelze die aktiven Zentren des Katalysators deaktiviert.

Der Einsatz des Platinkatalysators sichert die vollständige Umsetzung der organischen Kohlenstoffverbindung zu CO₂. Der hochsensible NDIR-Detektor erlaubt kleine Injektionsvolumen (typischerweise 20 - 50 µl), die den absoluten Probeneintrag von Salzen auf den Katalysator gering halten. Eine weitere Reduktion kann mit der integrierten Verdünnungsfunktion erreicht werden. Hiermit wird die Lebenszeit des Katalysators und der damit verbundenen Wartungsintervalle erheblich verlängert. Die integrierte Verdünnungsfunktion ermöglicht nicht nur einen Messbereich bis 20.000 mg/l, sondern hilft auch bei der Erstellung von Mehrpunkt-Kalibration (max. fünf Kalibrierpunkte).

Standardmäßig wird der TOC mittels der NPOC-Methode

(Austreiben des anorganischen Kohlenstoffs vor der Injektion) bestimmt. Je nach Applikation können die Nutzer aber auch mit der Differenzmethode (TOC = TC - IC) oder der Additionsmethode (TOC = NPOC + POC) arbeiten.

Neues Design und Software vereinfachen die Bedienung

Das neue Design beinhaltet die räumliche Trennung von elektronischen Bauteilen, Mess-System und Flüssigkeiten. Zum Auffüllen

unikator

Der neue TOC-4200

von Standardlösung und Salzsäure kann das Hauptgerät nun geschlossen bleiben. Die Bedienung erfolgt über einen farbigen Touchscreen. Die klare Menüführung vereinfacht, Kalibrierkurven und Messmethoden zu erstellen. Eine Kalenderfunktion hilft, die automatische Bestimmung von Kontrollproben oder Kalibrierkurven zu planen. Das Messen von Offline-Proben ist möglich, ohne das Gerät dafür zu stoppen. Die Online-Messung wird nur solange unterbrochen, solange die Messung der Offline-Probe dauert. Nach deren Fertigstellung wird die online-Messung automatisch fortgesetzt.

Neue Kommunikationsmöglichkeiten

In einem Chemiapark können die Wege zu den Prozessanalytoren lang sein, daher ist es wichtig, dass sich die Geräte von einer Messwerte aus kontrollieren lassen. Vielfältige Alarm- und Status-Signale erleichtern die Erkennung von Grenzwertüberschreitungen oder Wartungsbedarf. Die Remote-Funktion ermöglicht, Messung oder Kalibrierung zu starten und einen

bestimmten Mess-Stroms zu wählen. Bisher war für jede einzelne Steuer- oder Überwachungsfunktion ein eigener Schaltkreis nötig. Durch den Einsatz von bidirektionaler, serieller Kommunikation können alle diese Funktionen nun über einen Zweidrahtbus realisiert werden. Standardmäßig beherrscht das Gerät das Modbus-Protokoll, es können aber optional weitere Protokolle programmiert werden. Zudem ist die Abfrage von Messwerten und des Gerätestatus über ein Webinterface möglich.

Probenaufbereitung

Ein Analysensystem ist immer nur so gut wie die Probenaufbereitung. Zu der Serie TOC-4200 gehören verschiedene Probenaufbereitungssysteme, die optimal auf den Anwendungsbereich abgestimmt werden können.

In der Einstrom-Option mit Homogenisation gelangt die Probe über einen Siebfilter in die Probenkammer. Ein rotierendes Messer homogenisiert sie dort, bevor sie dem Gerät zur Analyse zugeleitet wird. Dadurch lassen sich selbst stark partikelhaltige

Proben problemlos vermessen. Nach der Probenentnahme werden Kammer und Siebfilter mit Spülwasser gereinigt. Je nach Applikation kann das Spülwasser mit Säure versetzt werden, um Algenwachstum zu verhindern.

Sollen mehrere Probenströme mit einem Gerät vermessen werden, kommt der Probenstromwechsler (Abbildung 3) zum Einsatz. Auch hier wird die Messprobe vor der Analyse homogenisiert. Die Spülfunktion verhindert Carry-over-Effekte beim Wechsel der Probenströme. Das Messprogramm ist für jeden Probenstrom individuell zu wählen, auch die Reihenfolge der Messung der Probenströme kann der Nutzer frei bestimmen.

Verschiedene Optionen erweitern den Einsatzbereich

Die TN-Option ermöglicht die simultane Bestimmung von TOC und TN_B (Gesamtstickstoff) in wenigen Minuten. Dazu wird die Messprobe bei 720 °C auf den Katalysator injiziert. Dabei wandeln sich die Kohlenstoffverbindungen in CO₂ und die Stickstoffverbindungen zu NO. Das Trägergas mit beiden Komponenten erreicht nach der Trocknung zuerst den NDIR-Detektor (wo das Kohlendioxid detektiert wird) und dann den Chemilumineszenz-Detektor. Mit Hilfe von Ozon findet eine Chemilumineszenz-Reaktion statt, die dann gemessen wird. Die Peaks beider Komponenten werden unabhängig integriert und die Konzentrationen errechnet.

Für die kontinuierliche TOC-Bestimmung mit sehr hohen Salzfrachten (> 10 g/l) hat Shimadzu ein Salz-Kit entwickelt. Das Verbrennungsrohr hat eine spezielle Form und es wird mit zwei verschiedenen Katalysatorkugeln gearbeitet. Diese Kombination

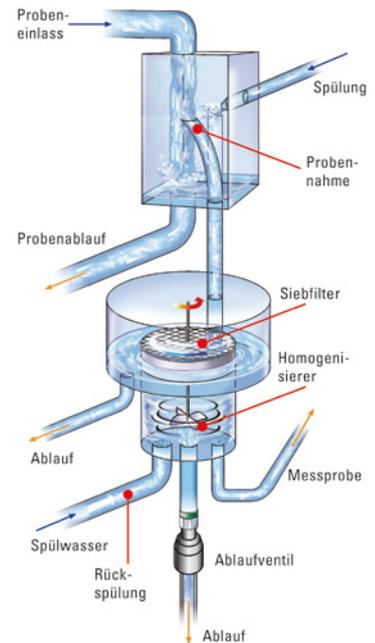


Abbildung 3: Bild des Probenstromwechslers mit Homogenisation

verlängert signifikant die Wartungsintervalle. In einer Seewasserapplikation konnte mit Hilfe dieses Kit die Standzeit des Katalysators und Verbrennungsrohrs verzehnfacht werden.

In der Überwachung von Kühlwasser- oder Kondensatsystem sind die TOC-Gehalte in der Regel viel geringer. Hier hilft das Kit zur Messung von TOC-Konzentration unter 1 mg/l.

Prototyp hat Betriebsbewährung bestanden

Ein Prototyp des TOC-4200 wurde in einem dreimonatigen Trial in einem deutschen Chemiapark unter realen Bedingungen getestet. Bei der Probe handelte es sich um ein stark salzhaltiges Abwasser. Dank des besonderen Verbrennungsrohres und Katalysatorfüllung des Salzkits brauchte der TOC-4200 keinen Wartungseinsatz. Außerdem hat er seine gute Performance und einfache Handhabung unter Beweis gestellt.



Abbildung 2: Einfache Bedienung über den Touchscreen

Kaviar und Ziga

FTIR-ATR-Analyse von Alginat auf Z



Abbildung 1: Auf Alginat basierender, mit Fluorescein versehener Kaviar, der mit der Analysewellenlänge von 460 nm in einem Shimadzu Fluoreszenz-Spektrophotometer RF-5301PC angeregt wird: es ergibt fluoreszierenden, in eine 1 cm Quarzküvette eingefüllten Kaviar



Wir schicken Ihnen weitere Informationen gerne zu. Bitte notieren Sie hierfür die entsprechende Kennziffer auf der Antwortkarte oder bestellen Sie über die News App beziehungsweise News WebApp.
Info 401

Nach Schätzungen (European Commission standardization mandate, M/425) verursachen unbeaufsichtigte Zigaretten, allein in der EU etwa 14.000 Brände mit 7.000 Todesopfern, 2.500 Verletzten und etwa 50 Millionen Euro Sachschaden. Kann vielleicht nicht die Feuerwehr, sondern die Molekulargastronomie die Zahl dieser Unfälle vermindern?

Sphärisierung ist eine von vielen Anwendungen der Molekulargastronomie, die unkonventionelle Oberflächenstrukturen und Aromen kombinieren. Hier handelt es sich um einen Überföhrungsprozess eines Safts in flüssigkeitsgefüllte Perlen. Um diese Perlen herzustellen, wird einfach etwas Alginat – eine aus Algen

gewonnene Substanz – in einem Saft gelöst. Tröpfchen des Saftes werden dann in ein Wasserbad mit Calcium gegeben. Das Calcium reagiert sofort mit dem Alginat im Saft und formt einen Film um das Tröpfchen. So werden Saftkugeln erzeugt, die wie Kaviar aussehen (Abbildung 1). In welcher Beziehung steht dieser gefälschte Kaviar zu Zigaretten?

Gefälschter Kaviar und seine Beziehung zu Zigaretten

Als eine Hitzequelle stellen Zigaretten ein Brandrisiko dar. Sie können Materialien wie Möbel oder Textilien entzünden. Sich selbst löschende Zigaretten können die Anzahl der Unfälle mit unbeaufsichtigten Zigaretten reduzieren. Solche Zigaretten wer-

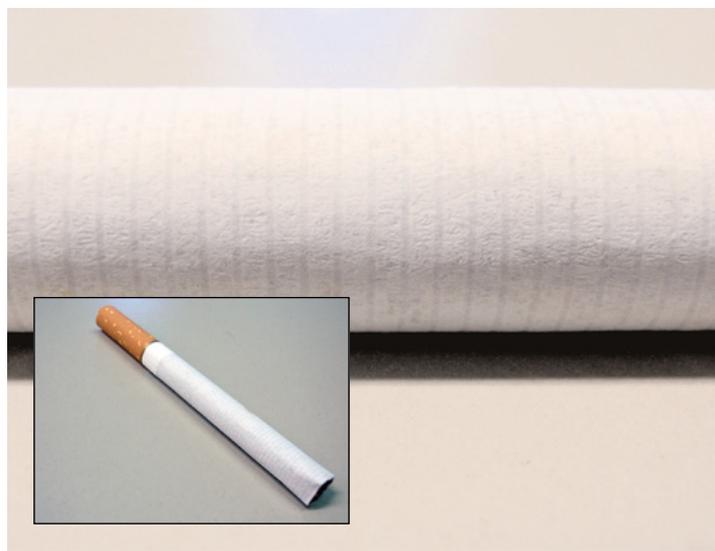


Abbildung 2: Ansicht einer Zigarette und Zoom auf eine Sorte von Zigarettenpapier. In diesem Falle sind Ringe sichtbar, die für einen kontinuierlichen Abbrand der Zigarette sorgen.

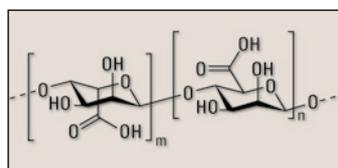


Abbildung 3: Alginsäurestruktur als Basis des Natriumalginats

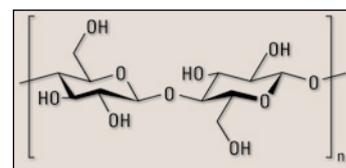


Abbildung 4: Struktur eines gewöhnlichen Zellulosemoleküls

retten

igarettenpapier

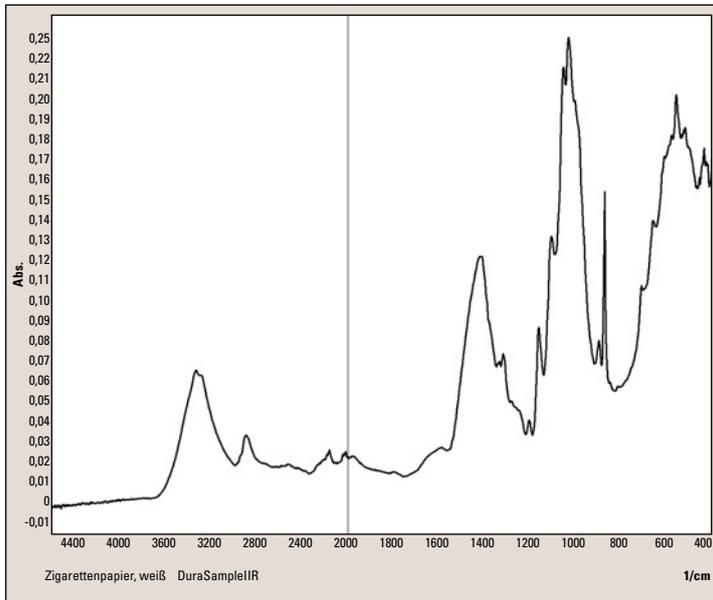


Abbildung 5: Infrarotspektrum von weißem Zigarettenpapier, wie es mit der Einfach-Reflexionsmethode gemessen wird

den produziert, indem in der Herstellung zwei spezielle Flammschutzbereiche in das Zigarettenpapier eingearbeitet werden. Diese Banden wirken wie Straßenschwellen, indem sie den Zustrom von Sauerstoff durch das Papier zum verbrennenden Tabak mindern. Wenn das Glutende die Stelle passiert und nicht mehr an der Zigarette gezogen wird, erlischt sie von alleine. Diese „Geschwindigkeitsschwellen“ bestehen aus einer Alginatschicht auf dem Zigarettenpapier – dem gleichen Alginat, das bei molekularem Kaviar zum Einsatz kommt.

Der einfache Einsatz eines FTIR-Spektrophotometers in Verbindung mit einer einfachen Reflexionseinheit zeigt die Materialunterschiede. Die einzelnen Materialspektren und das Spektrum der endgültigen Papierschicht werden Zug um Zug gezeigt. Alle wichtigen Komponenten wie die Papierzellulose, Natriumcarbonat und Alginat besitzen breite Signale im Infrarotspektrum. Allen gemeinsam ist die Polysaccharid-

Charakteristik einer Sechsring-Struktur in Verbindung mit -C-O-C- und -OH-Gruppen.

Das Spektrum des Papiers zeigt signifikante Signale für den Aufheller Natriumcarbonat. Es handelt sich um scharfe Signale bei 700 und bei 900 sowie ein breites bei 1400 cm^{-1} . Dies ist verständlich, basieren sie doch auf der Substruktur der Carbonatgruppe, die zwei $-\text{CO}^-$ und eine $-\text{C}=\text{O}$ Bindung und auch eine Elektronenverteilung über diesem Bindungssystem generiert. Daraus resultiert ein breites Signal bei 1400 cm^{-1} . In der Literatur wird die symmetrische Valenzschwingung $\delta_{\text{sy}}(-\text{COO}^-)$ mit $1440 - 1360\text{ cm}^{-1}$ angegeben.

Das Spektrum des Alginats auf dem Papier zeigt eine Mischung aus Alginat und Papier. Zwischen beiden Spektren zu unterscheiden, ist möglich. Wenn auch beide Materialien auf einem Polysaccharid beruhen, besitzen sie Unterschiede bezüglich ihrer Molekularstruktur, die im Infrarotspek-

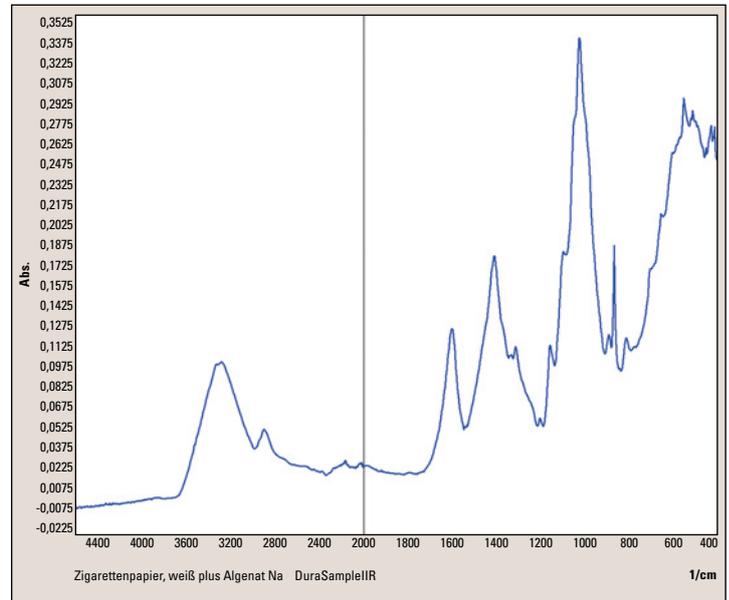


Abbildung 6: Infrarotspektrum von Zigarettenpapier mit einer dünnen Natriumalginatschicht, Oberflächenanalyse mit der Einfach-Reflexionsmethode

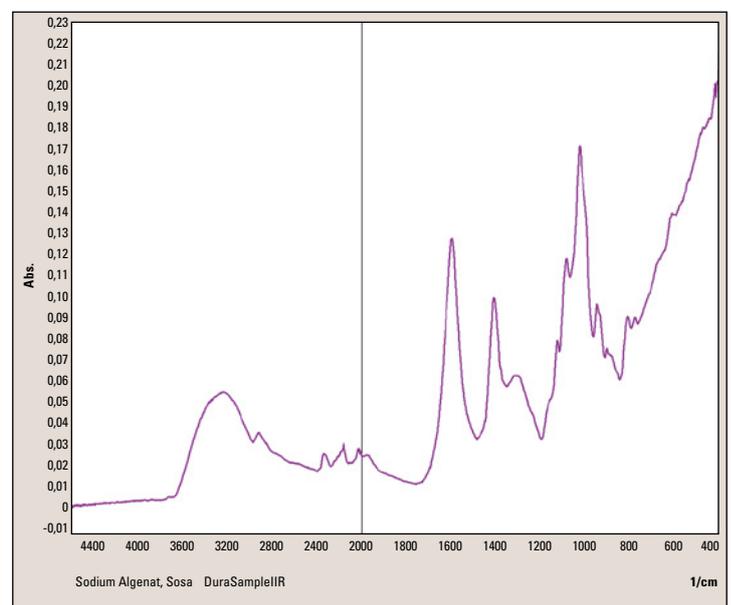


Abbildung 7: Infrarotspektrum von Natriumalginatpulver, wie es mit der Einfach-Reflexionsmethode gemessen wird

trum sichtbar sind. Das Signal bei 1600 cm^{-1} entspricht der -OH-Bindung innerhalb des riesigen Moleküls. Wenn man die Struktur der Polysaccharide vergleicht, erzeugt die unterschiedliche Positionierung an den Ringsystemen

das zusätzliche Signal im Vergleich zur Zellulose.

Auf der Suche nach neuen antibi

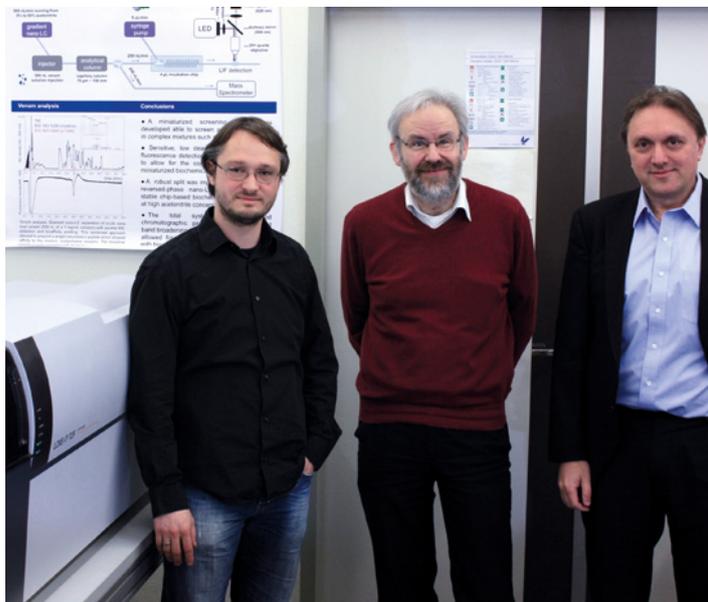
LC-IT-TOF-MS von alkylierten Neomycin-Antibiotika

Dr. Martin Giera und Prof. Dr. Wilfried M.A. Niessen VU University Amsterdam, Faculty of Sciences, BioMolecular Analysis Group, De Boelelaan 1083, 1081 HV Amsterdam, Niederlande

Die Strukturaufklärung kleiner Moleküle ist ein zentraler Bestandteil zahlreicher naturwissenschaftlicher Fragestellungen. Obwohl die NMR-Spektroskopie zweifelsfrei die wichtigste Rolle bei der strukturellen Aufklärung zu analysierender Komponenten spielt, ist die Massenspektrometrie (MS), wo immer es möglich ist, zu einem weit verbreiteten Werkzeug bei der Strukturbestimmung geworden. Der Erfolg auf MS basierender Strukturaufklärungen lässt sich auf verschiedene Tatsachen zurückführen:

- im Vergleich zur NMR werden nur kleine Analysemengen benötigt
- die Methode lässt sich bequem online mit Chromatographie-basierten Trennverfahren (LC oder GC) verbinden
- mehr und mehr Kenntnisse wurden in der letzten Dekade zu Fragmentationsmechanismen bestimmter Analyt-Klassen gewonnen, z.B. Zucker, Peptide oder DNA/RNA-Moleküle. Insbesondere die Möglichkeit, MS/MS oder MSⁿ-Experimente in Kombination mit hochauflösenden MS-Geräten durchzuführen, war für diese Entwicklung entscheidend.

Das folgende Beispiel zeigt, welche Möglichkeiten die Kopplung einer Ionenfalle mit einem Flugzeitmassenspektrometer (TOF Analysator) bietet. Die Ionenfalle zeichnet sich darin durch ihre MSⁿ Fragmentierungsmöglichkeit aus, bei der selektierte Molekül-



Von l. n. r.: Dr. Martin Giera, Prof. Dr. Wilfried M.A. Niessen, Prof. Dr. Hubertus Irth

ionen mehrfach fragmentiert werden können, um so detaillierte Strukturinformationen zu gewinnen. Der TOF-Analysator ist in der Lage hochaufgelöste Spektren zu erzeugen und Signale mit hoher Massengenauigkeit zu generieren, die zur Bestimmung der elementaren Zusammensetzung des Moleküls und dessen Fragmente herangezogen werden. Diese Verknüpfung beider Technologien ist im LCMS-IT-TOF Hybrid-Massenspektrometer von Shimadzu vereint.

Fallstudie

Die Suche nach antibiotisch-wirksamen Substanzen ist eine wichtige Herausforderung, da Mikroorganismen immer resistenter gegenüber den derzeit verfügbaren Behandlungen werden. Verbesserte Screening und Nachweistechiken für biologisch-aktive Substanzen aus verschiedenen Quellen müssen daher entwickelt und zur Anwendung gebracht werden. An der VU University Amsterdam werden Online-Screening-Strategien ent-

getrennt, und Unterschiede in ihren antibakteriellen Eigenschaften wurden nachgewiesen [1]. Um die strukturelle Zusammensetzung aufzuklären, wurde ein IT-TOF-Gerät gekoppelt mit einem LC verwendet. Ein schematischer Systemüberblick ist in Abbildung 2 dargestellt.

Hochauflösende MS-Daten – Basis für die Summenformel

In der ersten Phase zeigten alle Regioisomere das gleiche m/z-Verhältnis von 727,4448, was die mono-Alkylierung beweist. Die MS/MS-Durchführung ergab dazu identische Ionenfragmente mit einem m/z von 564,3628 für alle sechs Regioisomere, worin sich ausdrückt, dass die verschiedenen Isomere bis hierhin nicht unterscheidbar sind. Im MS³ konnten die ersten Unterschiede zwischen den sechs Regioisomeren festgestellt werden. In diesem Stadium der Untersuchung ließ sich ermitteln, welcher der drei Ringe alkyliert war. Während eine Alkylierung am Ring 4 zwei Fragmente mit einem m/z von 273,217 und 405,267 lieferte, ergab eine Alkylierung von Ring 2 ein Fragment mit m/z von 275,233 und eine Alkylierung von Ring 1 resultierte in der Bildung von zwei Fragmenten mit m/z von 273,217 und 435,317.

wickelt, die sich mit der LC zur Einschätzung der Bioaktivität verbinden lassen. Im vorliegenden Fall wurde der Einfluss einer einmaligen Alkylierung von Neomycin an seinen verschiedenen Stickstoffatomen auf das antibakterielle Verhalten der gebildeten Derivate untersucht [1]. Eine reduktive Alkylierung des antibiotischen Aminoglykosids Neomycin mit einem Äquivalent n-Octanal führt zur Bildung von sechs Regioisomeren (Abb. 1).

Die Regioisomere wurden mit Hilfe der Reversed-Phase-LC

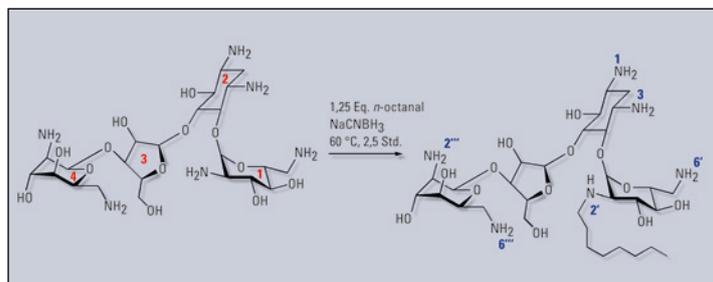


Abbildung 1: Reduktive Alkylierung von Neomycin. Die alkylierten Derivate besitzen lediglich eine einzige n-Oktylkette an einem der sechs Stickstoffatome, wie für N-2 beispielhaft dargestellt. Anzahl der Ringe (im Ring) und Stickstoffzahlen sind einzeln angegeben.

optisch-wirksamen Substanzen

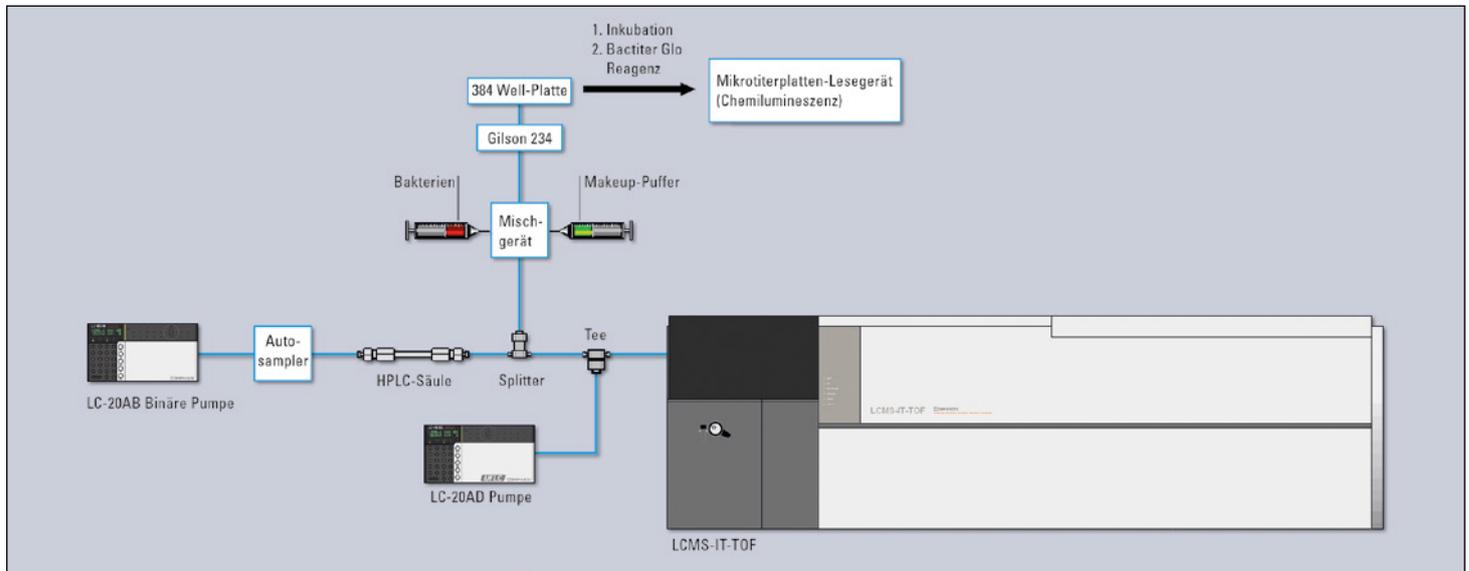


Abbildung 2: Schematischer Überblick der in dieser Untersuchung eingesetzten LC-IT-TOF-MS-Anordnung

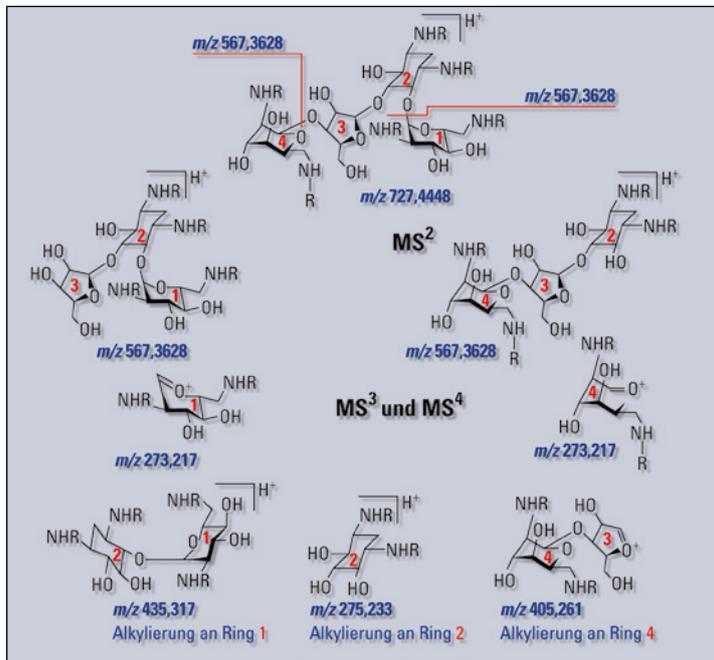


Abbildung 3: Fragmentationsschema der mono-N-Alkyl-Neomycin-Abkömmlinge in MS^n -Experimenten. Es zeigt die verschiedenen Ringverluste und die berechneten m/z -Werte der resultierenden Ionenfragmente. R = n-Oktyl oder H.

Zusammengefasst: Hochauflösende MS-Daten ermöglichen die Ableitung von Summen- und Strukturformeln für die gebildeten Verbindungen. MS/MS -Fragmentierungen, wie sie mit einem

Q-TOF-Gerät zugänglich werden, resultieren in einem Verlust von einem der (unveränderten) terminalen Aminoazuckern, wobei keine Einblicke in die Molekülstruktur geliefert werden. An

identischen MS/MS -Fragmenten durchgeführte MS^3 -Experimente lieferten die ersten strukturellen Einblicke: Sie ermöglichten eine Zuweisung der Ringnummer, an der die Alkylierung stattfand. Eine Zusammenfassung des Fragmentierungsprozesses bis hin zu MS^3 ist in Abbildung 3 dargestellt.

Die abschließend zu beantwortende Frage war: Welches Stickstoffatom im Ring wurde alkyliert? MS^4 -Versuche mit dem Ionenfragment mit einem m/z von 275,233 (Alkylierung von Ring 2) ergaben identische Spektren, was aufgrund der symmetrischen Struktur der N-1- und N-3-Derivate zu erwarten war. Für die anderen vier Regioisomere, führten MS^4 -Experimente zu charakteristischen Ionenfragmenten und anschließend zu eindeutiger Zuordnung von alkylierten Stickstoffatomen im Ring.

Schlussfolgerung

Hochauflösende MS^n -Experimente mit einer LC-IT-TOF-MS-Anordnung können zu einer

kompletten strukturellen Zuweisung nahe verwandter Verbindungen führen. Die Zuordnung des alkylierten Ringes in N-Oktyl-Neomycin-Abkömmlingen wurde durch Untersuchung einer nachfolgenden Spaltung der glykosidischen Bindungen vervollständigt. MS^4 -Experimente wurden benötigt, um eine komplette Zuweisung der Struktur von vier der sechs Regioisomere zu erreichen. Um die anderen beiden zuzuordnen, bedurfte es einer präparativen LC und nachfolgender NMR-Analyse.

[1] Giera M et al. Rapid Commun Mass Spectrom, 2010, 24: 1439

Kai-zen für maximale L

Nexera in der kontinuierlichen Verbesserung



Abbildung 1: Nexera Pumpe mit installiertem quarternären Gradientenventil

Kai-zen ist die japanische Lebens- und Arbeitsphilosophie, die die stetige Verbesserung verfolgt – in der Wirtschaft wird sie als KVP (kontinuierlicher Verbesserungsprozess) angewendet. Bei jedem Produkt und jedem Prozess finden sich Ansätze für Verbesserungen – selbst dort, wo man bereits an die optimale Lösung glaubt.

Kai-zen bei der Nexera bedeutet, dass jetzt 18 Monate nach den ersten Auslieferungen eine ganze Reihe von Modifikationen und neue Lösungen den Einsatzumfang der Nexera Familie vergrößern.

Bereits vorgestellt wurden die quarternäre Gradientenoption und der Flussbereich auf maximal 10.000 ml/min erweitert. Somit sind die Einsatzbereiche mit pumpenseitiger Lösungsmittelmischung und semipräparative Anwendungen vergrößert.

Um sicherzustellen, dass das Rückgrat des Systems – die Pumpen – zuverlässiger arbeiten, wurden hier Änderungen am Pumpenkopf, der Kolbenaufhängung und der Ventile vorgenommen. Den Anwendern bleiben

diese zumeist zwar verborgen, auffällig sollten jedoch geringe Luftblasenempfindlichkeit und verbesserte Standzeiten sein.

Die Mischung macht's

Gradientenreproduzierbarkeit und Genauigkeit sind entscheidend, wenn schnelle Gradienten auf kurzen Säulen eingesetzt werden. Dafür ist eine möglichst ‚perfekte‘ Mischung der Komponenten der mobilen Phase Voraussetzung. Die bislang eingesetzten Mikroreaktoren mit 20 µl bzw. 180 µl (TFA-Version) werden um eine 40 µl und 100 µl Version ergänzt und das Design der 180 µl Mikroreaktoren optimiert, um mischungsbedingte Basislinienschwankungen zu minimieren. Mehr Auswahl bedeutet aber auch für die Anwender eine ‚schwierigere‘ Entscheidung, welches Mischvolumen für die spezielle Applikation die optimale Lösung ist.

Der Autosampler als Herzstück

Herzstück der Nexera ist und bleibt der automatische Probengeber. Schnelle und verschleppungsfreie Injektion sind als die

wesentlichen Merkmale oft herausgestellt worden. Langlebigkeit und wartungsfreier Betrieb stehen für Änderungen im Vordergrund, ohne bestehende Merkmale außer Kraft zu setzen oder hier Kompromisse zu machen.

Vielorts wird bereits von der Möglichkeit Gebrauch gemacht, auch größere Probenvolumina zu injizieren. Bei Einbau einer größeren Probenschleife (max. 2.000 µl) im System lassen sich auch solche Volumina injizieren, allerdings sei auch darauf hingewiesen, dass Flussrate, Druckbereich und Säulendimension hierfür unbedingt zu beachten sind, um Schäden am System und/oder an der Säule zu vermeiden.

Je nach Anwendung ist auch der Einsatz mit festem Schleifenvolumen überlegenswert: Das Systemvolumen wird verringert, daraus resultieren kürzere Gradientenlaufzeiten. Betrachtet man des Weiteren die Peak-Symmetrie, spricht sicher vieles für eine solche Überlegung. Allerdings bleibt ein ‚Aber‘, wenn man die mögliche Verschleppung von Probe zu Probe betrachtet; einmal mehr liegt es in der Verantwortung der Nutzer zu entscheiden, was die Schwerpunkte im

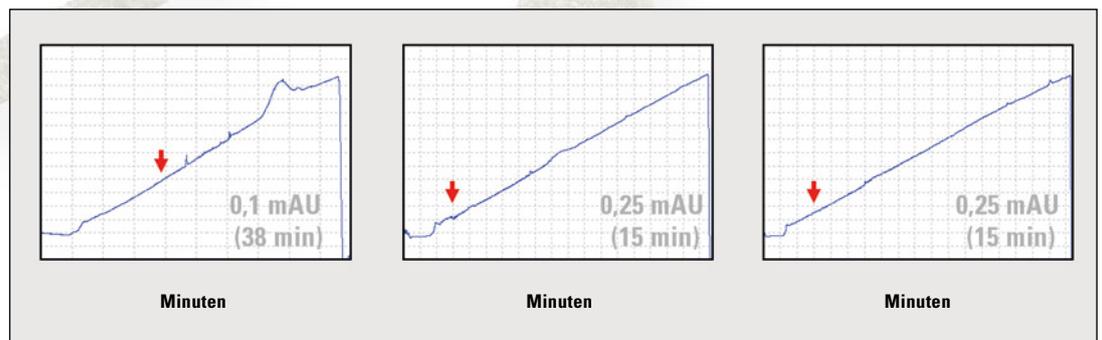


Abbildung 2a bis c: Test der Performance bei 1,0 ml (Gradient A: 0,1 % TFA in Wasser, B: 0,1 % TFA in Acetonitril, C: 45 % B)

Leistung

Einsatz des Systems sind oder sein werden.

Neue Zellen für die Detektoren

Bleiben die Augen des Systems – die Detektoren. Die Standard- und Semi-Micro-Durchflusszellen werden durch Zellen für höhere Empfindlichkeit ergänzt, die sich hinsichtlich Zell-Volumen im Mittelfeld zwischen den beiden bisherigen positionieren. Ein längerer Lichtweg verglichen mit der Semi-Mikrozelle sowie ein verkleinerter Durchmesser des Strahlengangs gegenüber der Standardzelle, verbunden mit stärkerer Fokussierung, erlauben eine höhere Empfindlichkeit.

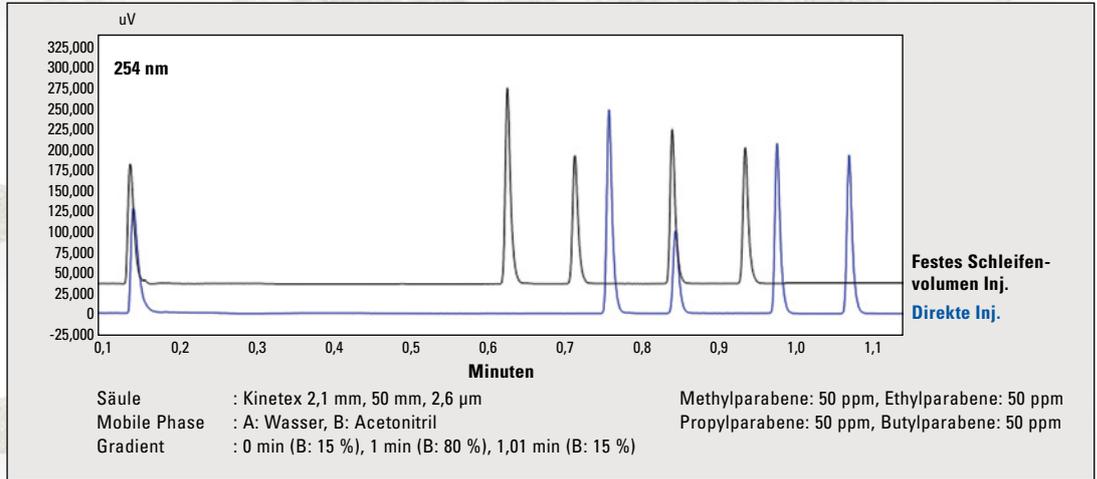


Abbildung 3: Vergleich Direkt-Injektion mit Schleifeninjektion

Für den UV-Detektor stehen zwei zusätzliche Zellen, für den Photo-Diodenarray-Detektor eine weitere Zelle zur Auswahl.

Was ist die optimale Zelle für eine Applikation? Eine erste Antwort kann der System Guide *Nexera* geben, der zusammen mit dem System geliefert wird. Auch wenn hier die neuen Flusszellen noch nicht angegeben sind, bekommt der Nutzer eine Richtlinie, unter welchen Bedingungen welche Zelle die optimale Auswahl ist.

„Kai-zen“, die stetige Verbesserung – dieser Prozess wird weitergehen...

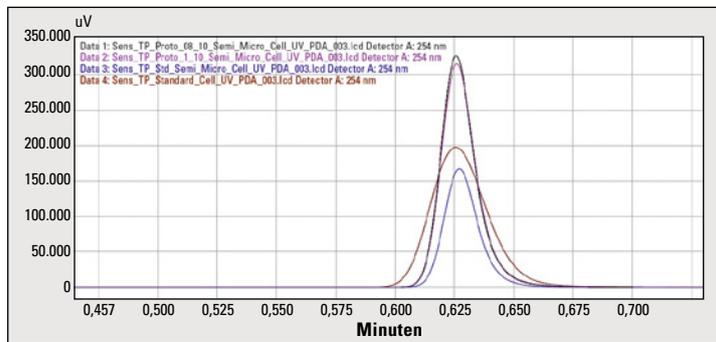


Abbildung 4: Vergleich der Peaks mit neuen Flusszellen gegen die Semi-Mikro-Flusszelle

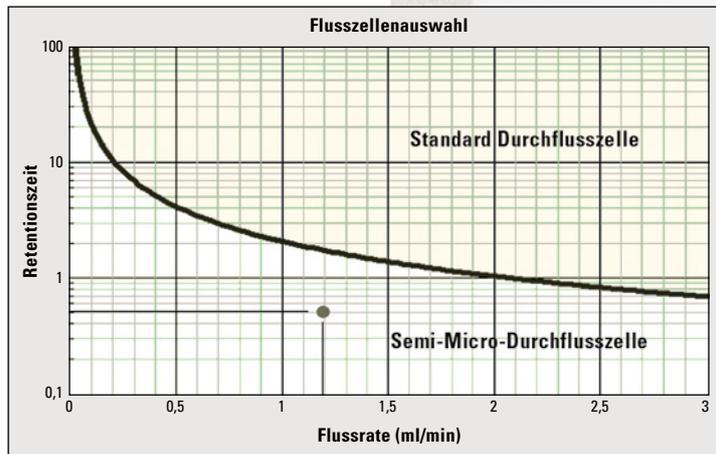


Abbildung 5: Flusszellenauswahl Diagramm aus dem System Guide

改善

SQTs – vorbeugend gegen Bakterien und Krebs?

Biologische Wirkung von Sesquiterpenen und Terpenoiden in Naturprodukten

	BC	ST	STI	SE	CD	EC	PA	PAI	PF	SA	SAI
Cabreuvaöl	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Zedernholzöl	13,5	18,5	19	16,5	–	8	–	–	–	6	6
Wacholderbeerenöl	12,5	16	16,5	14,5	7	8	–	–	–	9	9
Myrrheöl	13,5	22	24	21	6	10	–	–	–	9	10
α-Bisabolol	12,5	18	17,5	16,5	7	9	–	–	–	9	9
Cedrol	13	15	16	14	–	6	–	–	–	7	7
(E,E)-Farnesol	11	13	14	14	9	8	–	–	–	–	–
(E)-Nerolidol	11	23	21	22	–	10	–	–	–	–	–
(Z)-Nerolidol	11,5	24	21,5	22	–	11	–	–	–	–	–
Sabinen	12	18	18	16,5	6	8	–	–	–	–	–
Thujopsen	10,5	14	16,5	15	–	6	–	–	–	9	10

Tabelle 1: Antimikrobielle Wirkung I – Hemmzonen [mm] im Agarverdünnungstest

Sabine Krist, Martina Hoferl, Leopold Jirovetz
 Abteilung Klinische Pharmazie und Diagnostik, Universität Wien, Österreich

Flüchtige organische Verbindungen waren bisher Gegenstand vieler Untersuchungen. In den letzten Jahren gab es einen eindeutigen Forschungsschwerpunkt hinsichtlich biologischer Wirkungen organischer flüchtiger Substanzen. Diese Arbeit stellt Daten vor, die eine antimikrobielle Wirkung betreffen ebenso wie antivirale, antikanzerogene und zytotoxische Eigenschaften von ausgewählten Sesquiterpenen und Terpenoiden (SQTs) sowie von Naturprodukten die diese enthalten.

Antimikrobielle Tests

Für antimikrobielle Tests wurden der Agardiffusionsplatten und der Agarverdünnungstest eingesetzt. Diese Tests wurden gegen vier gram-positive und sieben gram-negative Bakterienstämme durchgeführt.

Als erstes wurde die Agardiffusionsplattentechnik mit 6 mm Papierscheibchen und 6 µl Probe ausgeführt. Nach Bebrütung der Bakterien bei 37 °C für 24 Std. wurde der Durchmesser der Inhibitionszone (IZ) gemessen. Danach wurde die Agarverdünnungstechnik eingesetzt.

Die Testverbindungen wurden einer Nährbrühe zugegeben, die

1,0 % (v/v) Tween 80 in einer solchen Menge enthielt, dass eine Endkonzentration der Proben im Bereich von 1 bis 1.000 ppm erreicht wurde. Die Konzentration der Pathogene im Medium überschritt 10⁶ bis 10⁷ cfu/cm³. Die Agarplatten wurden durch Pipettieren von 0,1 ml der Kultur und 6 µl der Probe auf die Papierscheibchen (6 mm) beimpft und dann bei 37 °C für 24 Std. bebrütet.

Untersuchte Mikroorganismen

- Gram-positive Bakterien**
- Bacillus cereus (ATCC 11778) BC
 - Staphylococcus aureus (ATCC 6538) ST
 - Staphylococcus aureus (isoliert aus verdorbenen Lebensmitteln) STI
 - Staphylococcus epidermidis (klinisches Isolat) SE
- Gram-negative Bakterien**
- Citrobacter diversus (klinisches Isolat) CD
 - Escherichia coli (ATCC 8739) EC
 - Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9627) PA
 - Pseudomonas aeruginosa (klinisches Isolat) PAI

	BC	ST	STI	SE	CD	EC	PA	PAI	PF	SA	SAI
Cabreuvaöl	0,4	0,4	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Zedernholzöl	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,4	0,4
Wacholderbeerenöl	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,4	0,4
Myrrheöl	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4	0,4	0,2	0,2
α-Bisabolol	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Cedrol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,4	0,4
(E,E)-Farnesol	0,4	0,4	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
(E)-Nerolidol	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4	0,4	0,2	0,2
(Z)-Nerolidol	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4	0,4	0,2	0,2
Sabinen	0,4	0,4	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,4	0,4
Thujopsen	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,4	0,4

Tabelle 2: Antimikrobielle Wirkung II – MIC [%] im fortlaufenden Agarverdünnungstest

en Virusinfektionen

ngen ausgewählter Sesquiterpene und Terpene sowie von
ie diese enthalten

- *Pseudomonas fluorescens* (isoliert aus verdorbenen Lebensmitteln) PF
- *Salmonella abony* (ATCC 6017) SA
- *Salmonella abony* (klinisches Isolat) SAI

Im Falle des Plattendiffusions-tests wurden die gram-positiven Bakterien sowie das gram-negative Bakterium *Escherichia coli* durch alle getesteten essentiellen Öle und Einzelverbindungen außer Cabreuva-Öl gehemmt. Bei den gram-negativen Bakterien konnten *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9627 und klinisches Isolat) und *Pseudomonas fluorescens* durch keine der flüchtigen Substanzen gehemmt werden. Die Agarverdünnungsprüfung, mit der sich die minimale inhibitorische Konzentration (MIC) ermitteln lässt, ergab, dass Substanz-Konzentrationen von 0,1 bis 0,8 % der untersuchten flüchtigen Verbindungen und essentiellen Öle notwendig waren, um eine allgemeine Bakterienverminderung zu erzielen. Die minimale Bakterienkonzentration (MBC) – definiert als geringste Wirkstoffkonzentration, die bei der Überprüfung keinen Hinweis auf mikrobielles Wachstum liefert, was auch mit der Agarverdünnungstechnik bestätigt wird – lag bei den untersuchten SQTs und essentiellen Ölen zwischen 0,2 und 1 %. Detaillierte Ergebnisse sind in den Tabellen 1 bis 3 dargestellt.

Antitumoruntersuchungen

Verschiedene organische flüchtige Verbindungen wurden anhand von HeLa-Zelluntersuchungen (menschl. Gebärmutterhalskarzinom) auf ihr Antitumor- und Antivirus-Potenzial getestet.

	BC	ST	STI	SE	CD	EC	PA	PAI	PF	SA	SAI
Cabreuvaöl	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	1	1	1	0,8	0,8
Zedernholzöl	0,4	0,4	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Wacholderbeerenöl	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Myrrheöl	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,4	0,4
α-Bisabolol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,8	0,4
Cedrol	0,4	0,4	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
(E,E)-Farnesol	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	> 0,8	> 0,8	> 0,8	> 0,8	> 0,8
(E)-Nerolidol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
(Z)-Nerolidol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Sabinen	0,4	0,4	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Thujopsen	0,4	0,4	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8

Tabelle 3: Antimikrobielle Wirkung III – MBC [%] im fortlaufenden Agarverdünnungstest

Jurkat E6.1-Zellen (menschl. Leukämie-T-Zell-Lymphoblast hergestellt aus einem Patienten mit akuter lymphoblastischer Leukämie) wurden in die Analysen einbezogen, um die Möglichkeit zelltypspezifischer Wirkungen der untersuchten Proben abzuschätzen. Die zelluläre Toxizität der flüchtigen Verbindungen wurde mit Hilfe des CytoTox-96®-Assay entsprechend dem Standardverfahren des Herstellers geprüft. ED₅₀-Werte wurden durch Regressionsanalyse der aus den Daten erstellten Dosis-Antwort-Kurven berechnet.

Untersuchte Zelllinien:

- HeLa (menschl. Gebärmutterhalskarzinom)
- Jurkat E6.1 (menschl. Leukämie-T-Zell-Lymphoblast)
- Zelltoxizität: Cytotox-96®-Assay

Alle getesteten SQTs beeinflussten die Überlebensfähigkeit der HeLa-Zellen. Eine Verminderung von 50 % der einschichtig gewachsenen HeLa-Zellen wurde nach Zugabe von Nerolidol (natürlich und synthetisch) und (E,E)-Farnesol in Konzentrationen (CC₅₀) unterhalb von 5 µM beobachtet. Der CC₅₀ des synthetischen Nerolidol war in

HeLa-Zellen nahezu zehnmal geringer als die effektive Dosis, die benötigt wird, um 50 % Zytotoxizität der Zellen zu bewirken (ED₅₀). Die Wirkungsähnlichkeit von Nerolidol und Farnesol gegenüber Tumorzellen konnte auf ihre ähnliche chemische Struktur zurückgeführt werden. Tabellen 4 und 5 zeigen Einzelergebnisse.

Antivirale Untersuchungen

Für Virusinfektionen wurde der Maus-Polyomavirus-(MpyV)-Stamm A2 bei einer Multiplizität der Infektionen (MOI) von fünf plaqueformenden Einheiten pro Zelle eingesetzt. Der Virustiter wurde mit der Immunfluoreszenzmikroskopie abgeschätzt.

- Testvirus: Maus-Polyomavirus (MPyV)
- Infizierte Zellen: 3T6-Zellen (Schweizer Albinomaus-Fibroblasten)
- Assay: Plaqueverminderungsprüfung
- Virustitration: bleibende Immunfluoreszenz gegen frühe oder späte virale Antigene

Neben einer erheblichen Verminderung der Überlebensfähigkeit

von Tumorzellen konnte eine antivirale Wirkung der ausgewählten flüchtigen Verbindungen gezeigt werden. Die effektive Konzentration (CC₅₀) von natürlichem Nerolidol gegen das Maus-Polyomavirus scheint mehr als zehnfach geringer zu sein verglichen mit der zytotoxischen Dosis (ED₅₀). Das synthetische Nerolidol zeigte dreifach geringere CC₅₀ verglichen mit dem ED₅₀ (siehe Tabelle 6).

Zytotoxische Untersuchungen

Derzeit ist wenig über die zytotoxischen Eigenschaften von flüchtigen Aromastoffen bekannt. Die In-vitro-Zytotoxizität der erfolversprechenden flüchtigen Verbindungen wurde anhand der Überlebensfähigkeit von HeLa-Zellen beurteilt. Curcumin, eine wirksame natürliche Antikrebssubstanz, und Antimycin D, ein gut eingeführtes Antikrebsmedikament, wurden als Referenzen verwendet. Die zytotoxische Wirkung der flüchtigen Verbindungen innerhalb von 24 Std. nach Behandlung wurde unter Zuhilfenahme des Cytotoxic Detection Kit eingeschätzt. ♦

	HeLa		Jurkat	
	CC ₅₀ (µM)	ED ₅₀ (µM)	CC ₅₀ (µM)	ED ₅₀ (µM)
α-Bisabolol	< 5	< 10	< 20	< 20
β-Caryophyllen	< 15	< 30	–	–
Caryophyllenoxid	< 30	< 50	–	–
Cedrol	< 20	< 20	< 50	–
(E,E)-Farnesol	< 5	< 10	–	–
Farnesol (isomer mix.)	< 10	< 10	–	–
Longifolen	< 30	< 50	–	–
Patchoulol	< 10	< 10	< 10	< 10
Santalol	< 20	< 30	< 50	–
Ylang-Fraktion	< 30	< 50	–	–

Tabelle 4: **Antitumorwirkung I** – CC₅₀ = benötigte Konzentration, um die Zellzahl auf 50 % zu reduzieren; ED₅₀ = benötigte effektive Dosis, um 50 % Zytotoxizität zu erreichen

	HeLa		Jurkat	
	CC ₅₀ (µM)	ED ₅₀ (µM)	CC ₅₀ (µM)	ED ₅₀ (µM)
Nerolidol (synthetisch)	1,5 ± 0,7	< 10	4,2 ± 1,4	< 10
Nerolidol (natürlich)	4,2 ± 1,4	< 10	–	–
(Z)-Nerolidol	< 5	< 10	–	–
(E)-Nerolidol	< 10	< 10	–	–

Tabelle 5: **Antitumorwirkung II** – CC₅₀ = benötigte Konzentration, um die Zellzahl auf 50 % zu reduzieren; ED₅₀ = benötigte effektive Dosis, um 50 % Zytotoxizität zu erreichen

Der Einfluss der untersuchten flüchtigen Substanzen auf die Überlebensfähigkeit von HeLa-Zellen wurde mit Hilfe des Cell Proliferation Reagent (Zell-Proliferations-Reagens) WST-1 nach 24 Std. Inkubation untersucht.

- Untersuchte Zelllinien: HeLa (menschl. Gebärmutterhalskarzinom)
- Zelltoxizität und -lyse: Cytotoxicity Detection Kit (LDH), Roche Diagnostics
- Zellvermehrung, -wachstum, -überlebensfähigkeit und Chemosensitivität: Cell Proliferation Reagent WST-1, Roche Diagnostics

Unter den getesteten flüchtigen Aromastoffen zeigte der Sesquiterpenalkohol (Z)-Nerolidol die höchste zytotoxische Wirkung, vergleichbar der Vergleichssubstanz Curcumin bei einer Konzentration von 15 µM. Als ein möglicher zytotoxischer Mechanismus der Sesquiterpene wird eine unmittelbare Wechselwirkung mit der Zellmembran in Betracht gezogen, was zu einer veränder-

ten Permeabilität und zum Zelltod führt. Insbesondere Nerolidole könnten als zukünftige Wirkstoffe für die Krebs-Chemoprävention dienen. Die anderen untersuchten flüchtigen Verbindungen (α-Bisabolol, Cedrol, Santalol und Patchoulol) reichten für eine 50 % Zytotoxizität für die HeLa-Zelllinie in vergleichbaren Konzentrationen wie (Z)-Nerolidol. Genaue Ergebnisse werden in Tabelle 7 gezeigt.

GC-Analyse

Zur qualitativen und quantitativen Analyse der in dieser Studie untersuchten natürlichen Produkte, die reich an Sesquiterpenen und Terpenoiden sind, wurden ein Shimadzu GC-17A mit FID und ein Shimadzu GCMS-QP5050 verwendet.

Ausblicke (Perspektiven)

Die Sesquiterpene und Terpenoide (SQTs) Caryophyllen, α-Bisabolol, Cedrol, Farnesol, Longifolen, Nerolidol, Patchoulol, Sabinen, Santalol, Thujopsen

	Antivirale Wirkung	
	CC ₅₀ (µM)	ED ₅₀ (µM)
α-Bisabolol	< 10	< 10
Cedrol	< 10	< 5
Patchoulol	< 10	< 5
Santalol	< 20	< 20
Nerolidol (synthetisch)	3,2 ± 1,5	11 ± 1,8
Nerolidol (natürlich)	1,2 ± 0,4	10,6 ± 3

Tabelle 6: **Antitumorwirkung III** – CC₅₀ = benötigte Konzentration, um infizierte Zellen auf 50 % zu reduzieren; ED₅₀ = benötigte effektive Dosis, um 50 % Zytotoxizität zu erreichen

ebenso wie die an flüchtigen Verbindungen reichen Naturprodukte (essentielle Öle, Ölfraktionen und Oleoresine) besitzen verschiedene biologische Wirkungen. Viele dieser Verbindungen zeigen antimikrobielle Eigenschaften gegen ausgewählte gram-positive und gram-negative Bakterien, was durch Einsatz der Agardiffusionsplatten- und der Agarverdünnungstechnik nachgewiesen wurde [1,2]. Darüber hinaus wurden ausgeprägte antivirale, antikanzerogene und zytotoxische Eigenschaften gegen Maus-Polyomavirus infizierte 3T6-Zellen und menschliche Krebs-Zelllinien gezeigt [3,4]. SQTs könnten somit ausgezeichnete Kandidaten zur Prävention von viralen Infektionen und Krebs sein.

Referenzen

- [1] E. Schmidt, S. Bail, S.M. Friedl, L. Jirovetz, G. Buchbauer, J. Wanner, Z. Denkova, A. Slavchev, A. Stoyanova and M. Geissler; Antimicrobial Activities of Single Aroma Compounds. Natural Product Communications 5, 1365-1368 (2010).
- [2] J. Wanner, E. Schmidt, S. Bail, L. Jirovetz, G. Buchbauer, V. Gochev, T. Girova,

T. Atanasova and A. Stoyanova; Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Selected Essential Oils and Some of Their Main Components. Natural Product Communications 5, 1359-1364 (2010).

- [3] B. Ryabchenko, E. Tulupova, E. Schmidt, K. Wlcek, G. Buchbauer and L. Jirovetz; Investigations of Anticancer and Antiviral Properties of Selected Aroma Samples. Natural Product Communications 3, 1085-1088 (2008).
- [4] B. Ryabchenko, E. Tulupova, E. Schmidt, W. Jaeger, G. Buchbauer and L. Jirovetz; Cytotoxic Properties of Selected Sesquiterpene Alcohols on Human Cervix Carcinoma Cell lines. Journal of Essential Oil Bearing Plants 14, 316-319 (2011).

Bemerkungen

In Zusammenarbeit mit Dr. Margit Geißler, Shimadzu Europa GmbH

	Zytotoxische Wirkung	
	CCT ₅₀ (µM)	CCP ₅₀ (µM)
α-Bisabolol	39,0 ± 8,0	33,6 ± 6,4
Cedrol	48,3 ± 5,8	40,0 ± 8,1
Patchoulol (80 %)	48,3 ± 14,0	40,6 ± 11,7
Santalol	29,6 ± 2,6	28,8 ± 13,3
(Z)-Nerolidol	16,5 ± 6,7	20,4 ± 7,8
Curcumin	15,0 ± 5,0	18,3 ± 5,7
Actinomycin D	0,17 ± 0,05	0,056 ± 0,027

Tabelle 7: **Zytotoxische Wirkung** – CCT₅₀ = benötigte Konzentration, um eine Zytotoxizität von 50 % zu erreichen; CCP₅₀ = notwendige Konzentration, um eine 50 %ige Abnahme des Zellwachstums zu erreichen

Leicht ist schwierig

Tipps für die Bestimmung leichter Elemente

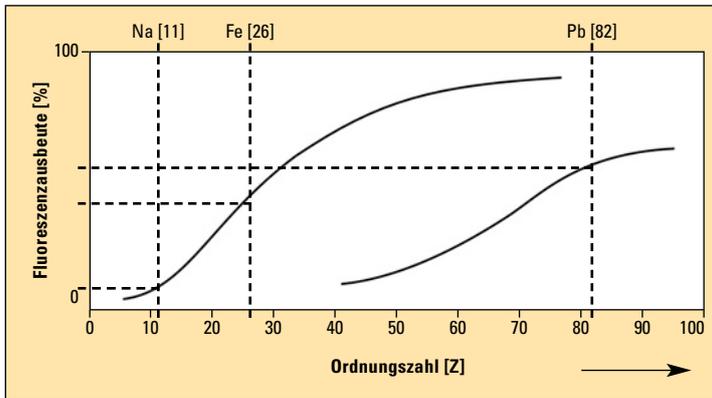


Abbildung 1: Fluoreszenzausbeute in Abhängigkeit von der Ordnungszahl. Leichte Elemente haben eine geringe Ausbeute, schwere Elemente eine hohe Ausbeute.

Die Röntgenfluoreszenzanalyse ist eine leistungsfähige Methode der Elementanalytik, Konzentrationen bis in den unteren ppm-Bereich ohne Probenvorbereitung zuverlässig zu bestimmen. Zudem kann sie nahezu alle Elemente des Periodensystems gleichzeitig messen. Ein Ergebnis liegt bereits in weniger als zwei Minuten vor.

Auffallend ist, dass der Messbereich von Röntgenfluoreszenzspektrometern häufig bei Natrium (Na) anfängt, manchmal bei Magnesium (Mg) und manchmal erst bei Kohlenstoff (C). Das schwerste messbare Element ist zumeist Uran (U). Warum ist es so schwierig, mit einem Röntgenfluoreszenzspektrometer Lithium (Li) zu messen?

Weil es generell schwieriger ist, leichte Elemente zu messen – es müssen mehrere Herausforderungen gemeistert werden.

Detektorfenster

Die erste Herausforderung ist das Detektorfenster. Vor einem Si(Li)-Detektor ist es ein begrenzender Faktor aller Röntgenfluoreszenzspektrometer. Es besteht sehr häufig aus Beryllium (Be) und lässt ausreichend Strahlung

nur von Elementen durch, die schwerer als Natrium (Na) sind. Das EDX-800 von Shimadzu ist zum Beispiel in der Lage, ab Kohlenstoff (C) zu messen. Möglich ist dies durch ein besonderes Fenster, das empfindlich genug ist die Strahlung auch leichter Elemente durchzulassen.

Luft

Auch die Luft verringert den Anteil an Fluoreszenzstrahlung, der auf den Detektor trifft. Hier hilft es die Luft zu entfernen. Moderne Spektrometer wie die EDX-Geräteserie bieten hier zwei Optionen: Der Probenraum wird evakuiert oder aber mit Helium geflutet. Evakuieren ist praktisch, einfach und ohne laufende Kosten zu realisieren, jedoch nur für trockene Proben geeignet. Flüssige Proben werden in einer Helium-Atmosphäre vermessen. In der Praxis hat es sich als sinnvoll erwiesen, Proben, deren Anteil an Aluminium/Silizium oder leichter Elemente zu bestimmen war, unter Vakuum- beziehungsweise Helium-Bedingungen zu vermessen.

Fluoreszenzausbeute

Ein weiterer Punkt, der es erschwert leichtere Elemente zu

messen, ist die Fluoreszenzausbeute der Elemente. In einem Röntgenfluoreszenzspektrometer wird die Probe mit Röntgenstrahlung angeregt. Die Probe emittiert daraufhin Fluoreszenzstrahlung – ebenfalls Röntgenstrahlung. Da sie charakteristisch für das jeweilige Element ist, kann eindeutig auf Identität sowie Konzentration des Elementes geschlossen werden. Die Fluoreszenzausbeute leichter Elemente ist jedoch viel geringer als die schwerer Elemente. Natrium wird immer eine geringere Fluoreszenzausbeute haben als Blei.

Probengefäß

Wird die Probe in ein Probengefäß überführt, so besteht dessen Boden in der Regel aus einer dünnen Kunststoffolie, die hochtransparent für Röntgenstrahlung ist. Aber auch hier ist Vorsicht geboten. Es gibt unterschiedliche

Folien, die sich in ihrer Resistenz gegenüber Chemikalien unterscheiden, aber auch im Grad ihrer Transparenz. Als Standardfolie wird oft Mylar verwendet wegen der guten Resistenz gegenüber Chemikalien. Wird Mylar für die Messung von wässrigen Natriumlösungen verwendet, kann es sein, dass Natrium im Ergebnis der Analyse gar nicht erscheint. Die Transparenz von Mylar gegenüber Röntgenstrahlung ist zwar gut, für oben beschriebenen Fall ist es jedoch sinnvoll, auf Ultran als Folienmaterial auszuweichen, da es eine viel höhere Transparenz aufweist.

Bietet das Röntgensystem wie die EDX-Geräteserie von Shimadzu Raffinesse wie spezielle Fenster und Helium beziehungsweise Vakuumoptionen an, ist es mit den oben genannten Tipps einfach, leichte Elemente zu messen.

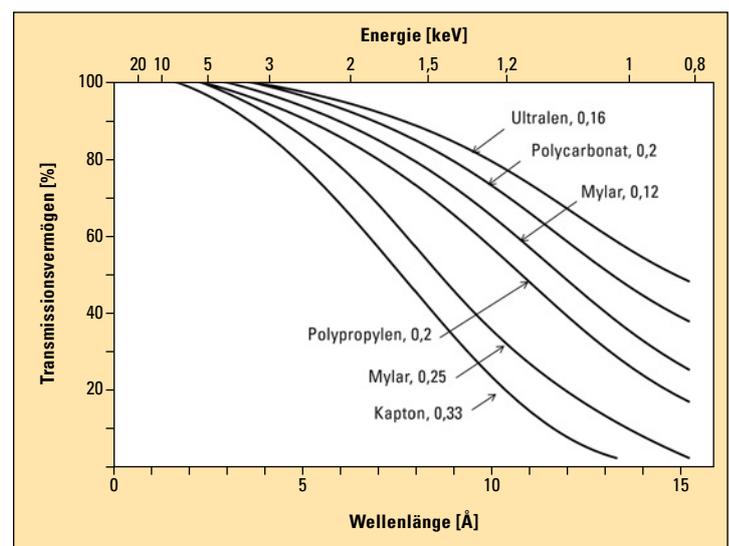


Abbildung 2: Transmissionsvermögen verschiedener Kunststoffolien in Abhängigkeit von der Wellenlänge der auftretenden Röntgenstrahlung. Leichte Elemente weisen eine große Wellenlänge beziehungsweise eine geringe Energie auf. Sie befinden sich auf der rechten Seite der Grafik.

Heiße Spitzentechnologi

Graphitrohre für elektrothermische Atomisierung



Abbildung 1: AA-7000 Atom-Absorptionsspektrometer mit einem GFA-7000 Graphitrohrfen

Bei der Graphitofen-Technik ist es wichtig, das für Zielelement und Probenzusammensetzung passende Graphitrohr auszuwählen. Daher wird bei der elektrothermischen Atomisierung eine breite Auswahl von Rohren eingesetzt. Ein AA-7000 Atomabsorptionsspektrometer in Verbindung mit einem hochempfindlichen, digital kontrollierten GFA-7000-Graphitrohrfen kann mit den folgenden Rohrtypen betrieben werden: Standardrohre aus hochdichtem Graphit, pyrolytisch-beschichtete Rohre sowie Versionen mit „Gabel“- und mit Omega-Plattform®.

Sehr häufig eingesetzt wird das hochdichte Rohr – hergestellt aus hochreinem Graphit. Da die hexagonale Kristallstruktur von Graphit porös ist, durchdringt eine injizierte Probenlösung während des Aufheizprozesses die Wand des Rohrs.

Ein pyrolytisch-beschichtetes Rohr zeichnet sich dagegen durch eine metallisch glänzende Ober-

fläche aus, die durch Bildung einer Pyrolyseschicht durch Abscheiden aus der Gasphase bewirkt wird. Da die Oberflächendichte höher ist als die eines hochdichten Rohres, dringt eine Probe weniger stark in die Wand ein, und die Erzeugung einer „Atomwolke“ während des Atomisierungszustands wird verbessert.

Von einem Plattform-Rohr spricht man, wenn eine Platte mit einer Mulde für die Probe (Plattform) eingebaut ist. Die Version von Shimadzu hat eine aus 100 % Pyrokohlenstoff gefertigte Plattform. Abbildung 2 vergleicht die Peakverläufe in einem pyrolytisch-beschichteten und einem hochdichten Rohr.

Hochdichte Rohre sind optimal für Elemente mit geringen Atomisierungstemperaturen

Rohre mit hoher Dichte werden für die Messung verschiedener Elemente eingesetzt, insbesondere für solche, die eine niedrige

Atomisierungstemperatur aufweisen wie Cadmium (Cd), Blei (Pb), Natrium (Na), Kalium (K), Zink (Zn) und Magnesium (Mg). Diese Rohre sind auch dazu geeignet, die Messempfindlichkeit eines Elements bei hochkonzentrierten Proben herabzusetzen – im Fall von Aluminium, Eisen und Kupfer um den Faktor 100 auf eine Grenze von 100 ppb. Bei Einsatz eines pyrolytisch-beschichteten Rohrs lässt sich ein Grenzwert von 1 ppb messen.

Abbildung 3 zeigt Eichkurven für Cu-Messungen mit einem hochdichten und einem pyrolytisch-beschichteten Rohr. Die Messpunkte entsprechen 20, 40 und 60 ppb für ein hochdichtes Rohr und 2, 4 und 6 ppb für ein pyrolytisch-beschichtetes Rohr, obwohl ähnliche Absorptionswerte angezeigt werden.

Die Säurekonzentration beeinflusst Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit

Auch Schwankungen in der Säurekonzentration haben erheblichen Einfluss auf Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit des Analyseergebnisses. Den Effekt der Salpetersäurekonzentration auf die Blei-Empfindlichkeit zeigt Abbildung 4.

Wenn man die verschiedenen Graphitrohre vergleicht, variiert die Empfindlichkeit bei veränderter Säurekonzentration drastisch. Im pyrolytisch-beschichteten Rohr bewirkt die Änderung der Säurekonzentration eine signifikante Auswirkung auf das Analyseergebnis. Bei einem Plattform- oder einem hochdichten Rohr schwankt die Empfindlichkeit bei Änderungen der Säurekonzentration deutlich geringer.

In einem Plattform-Rohr (Abbildung 5) wird die Probe typi-

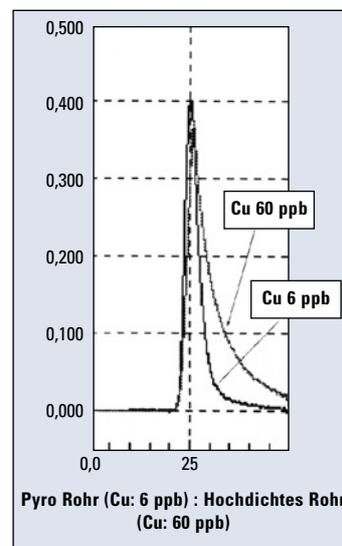


Abbildung 2: Vergleich der Peakverläufe eines pyrolytisch-beschichteten (6 ppb) und eines hochdichten Rohres (60 ppb)

e

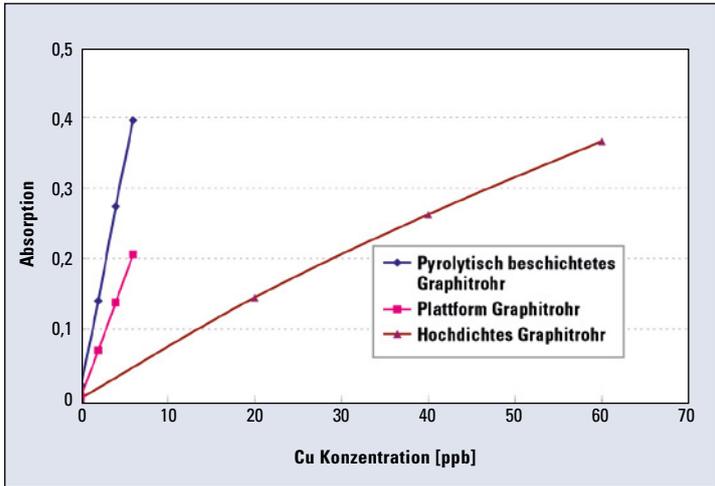


Abbildung 3: Empfindlichkeitsvergleich von Graphitrohr-Typen

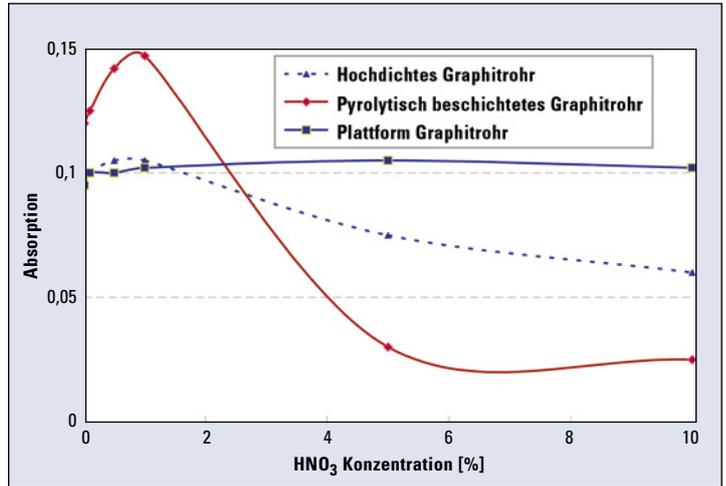


Abbildung 4: Auswirkung der Salpetersäurekonzentration auf die Pb-Empfindlichkeit in Abhängigkeit von den Graphitrohr-Typen (Pb: 5 ppb, 10 µl Injektion)

schersweise auf die Plattform injiziert und hat keinen direkten Kontakt mit der Wand des Graphitrohres. Sie wird dann entsprechend dem elementspezifischen Temperaturprogramm erhitzt.

Im Verlauf der elektrothermischen Atomisierung wird das Graphitrohr zunächst durch die Wand erhitzt. In einem hochdichten oder pyrolytisch-beschichteten Standard-Graphitrohr wird die Probe dadurch direkt auf der Wand getrocknet, pyrolysiert und atomisiert. Im Plattform-Rohr wird die Probe dagegen auf der Plattform atomisiert, nachdem die Temperatur des gesamten

Rohrs die Atomisierungstemperatur erreicht. Damit wird die Temperaturverteilung optimiert. Wegen der langsameren Aufheizung mit einem Plattform-Rohr, wird das Peakprofil breiter, obwohl es sich bei dem Plattform-Material um pyrolytischen Graphit handelt (Abbildung 6).

Das Plattform-Rohr ist eine effektive Lösung für Proben mit komplexer Matrix

Ein Plattform-Rohr benötigt eine etwa 100 °C bis 200 °C höhere Pyrolyse und Atomisierungstemperatur als bei normalen pyrolytisch-beschichteten Rohren. Der Unterschied in den Aufheizeigen-

schaften minimiert den Einfluss von Matrixeffekten komplexer Proben. Daher ist das Untergrundsignal eindeutig vom Elementsignal zu trennen, insbesondere in Verbindung mit Matrix-Modifiern wie Palladium, Iridium, Rhodium und anderen. Der Einsatz eines Plattform-Rohres in Kombination mit einem Matrix-Modifier ist daher die effektivste Lösung für die

Bestimmung von Elementen in Proben mit komplexer Matrix wie zum Beispiel biologische-, Abwasser- oder Meerwasserproben.

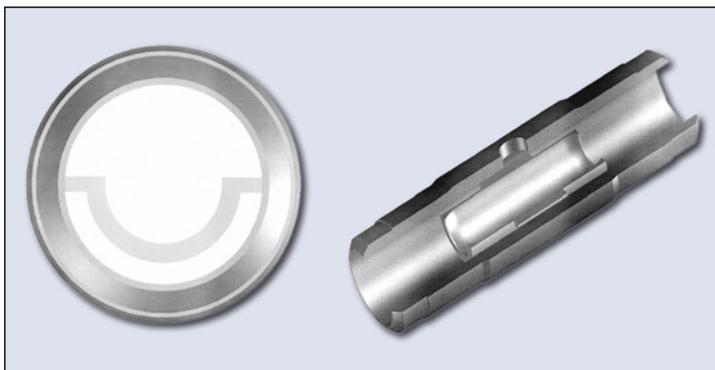


Abbildung 5: Ein Omega-Plattform Rohr®

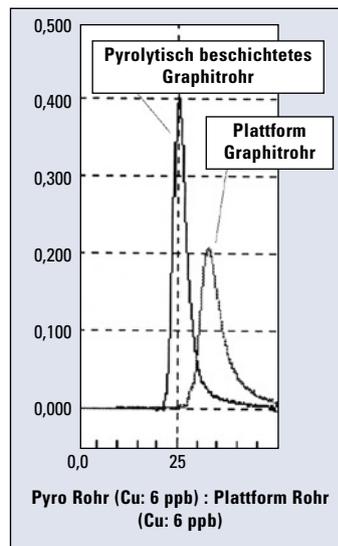


Abbildung 6: Vergleich der Peakverläufe eines pyrolytisch-beschichteten (6 ppb) und eines Plattform Rohres (60 ppb)

Ersatzleber für die Simulation e



Abbildung 1: Chirurgieinstrumente für Schlüssellochoperationen („Minimal-invasive Chirurgie“)

Sylvia Donner, Marc Kraft
TU Berlin
ZMMS, GRK prometei/FG
Medizintechnik

In Medizin und Medizintechnik werden häufig tierische Materialien genutzt, wenn Produkte und Geräte, die für den Einsatz am Menschen bestimmt sind, getestet werden – in vielen Fällen Gewebe von Schweinen. Wie alle natürlichen Materialien unterliegen auch tierische Gewebe starken Schwankungen, (mechanische) Materialparameter streuen sehr stark. Damit sind reproduzierbare Versuchsbedingungen nur bedingt zu garantieren. Lagerung, Alter der Probe und Eigenheiten des Tieres sind einige der wichtigsten Einflussfaktoren auf die Eigenschaften des tierischen Materials.

Um eine sogenannte Schlüssellochoperation, eine laparoskopische Gallenblasenentfernung, zu simulieren, musste ein Ersatzmaterial für Lebergewebe gefunden werden. Bei einer laparoskopischen Gallenblasenentfernung wird die unterhalb der Leber liegende Gallenblase über drei bis vier kleine Hautschnitte in der

Bauchdecke entfernt. Im Gegensatz zu herkömmlichen Verfahren bleibt die Bauchdecke weitgehend geschlossen.

Ein Vorteil für die Patienten, eine Herausforderung für die Chirurgen

Die Patienten profitieren von diesem Verfahren – so ist die Schmerzbelastung, verglichen mit offenen Operationsverfahren, erheblich geringer und es ergibt sich aufgrund geringerer Narbenbildung ein besseres kosmetisches Ergebnis.

Für den Chirurgen hingegen werden durch das laparoskopische Vorgehen der Bewegungsspielraum und die Sicht stark eingeschränkt, Operieren ist nur über spezielle Instrumente (Abb. 1) möglich. Als Ergebnis verursachen die Operationsbedingungen beim Chirurgen körperliche Beschwerden, einige davon lassen sich direkt auf das verwendete Instrumentarium zurückführen [2]. Daher werden zurzeit Gestaltungsrichtlinien für laparoskopische (Greif-)Instrumente entwickelt, um neben der Patientensicherheit auch ergonomische Aspekte zu berücksichtigen.

Messungen während realer Eingriffe sind jedoch aus ethischen Gründen nicht oder nur mit erheblichen Einschränkungen verbunden durchführbar.

Die Leber ist im Weg

Bei einer Gallenblasenentfernung spielt die Leber vor allem aufgrund der anatomischen Nähe beider Organe eine wichtige Rolle. Während der Operation bzw. der Simulation muss die Leber für längere Zeit zur Seite gehalten werden, um Zugang zur Gallenblase zu erhalten, weshalb ein einheitliches und möglichst mit ähnlichen Greifeigenschaften ausgestattetes Ersatzmaterial wünschenswert ist. Daher wurden Zugversuche an Schweineleberproben durchgeführt, um zunächst mechanische Materialpara-

meter von einer durchschnittlichen (Schweine-)Leber zu bestimmen.

Bisher gibt es relativ wenige Untersuchungen zu Materialparametern von tierischem Gewebe. Ein Standardwerk in diesem Bereich stammt von Yamada [5], wobei die dort beschriebenen Methoden nicht mehr dem Stand der Technik entsprechen. So wurden von ihm Zugversuche geschildert, bei denen die Prüfung über angehängte Gewichte an einer relativ geringen Probenzahl erfolgte. Die von Yamada angegebenen Zugeigenschaften basieren auf Zugversuchen von 1953 an einigen Kaninchenlebern, die Ergebnisse sind aufgrund der Methodik in g/mm² angegeben [4]. In neueren Arbeiten wurden klassische Zugversuche mittels Zugprüf-

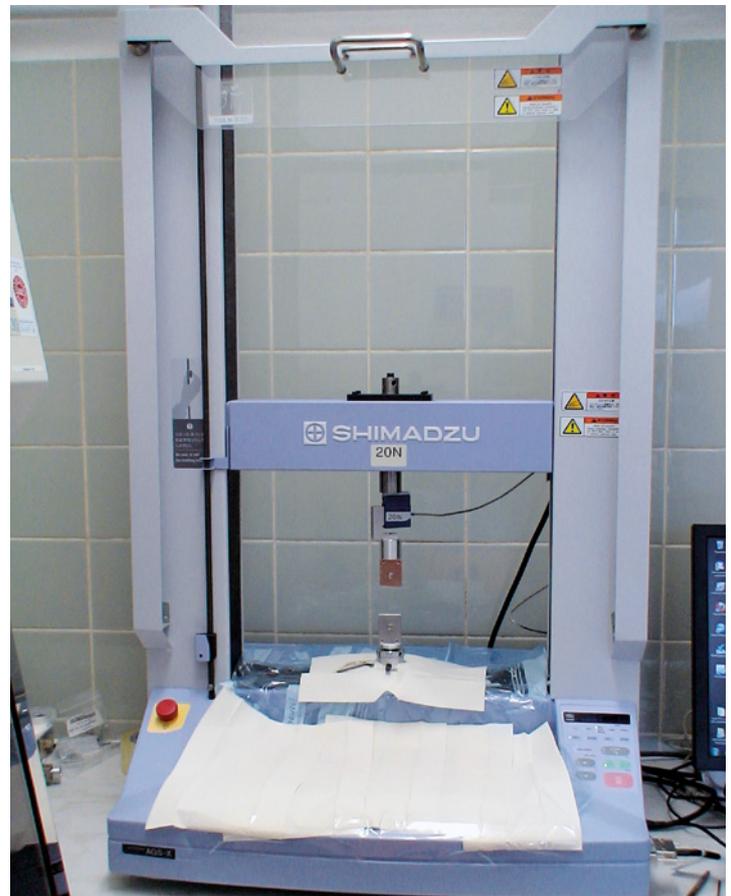


Abbildung 2: Die bei den Zugprüfungen eingesetzte und für die Versuche abgeklebte Shimadzu AGS-X-Prüfmaschine

iner Schlüssellochoperation

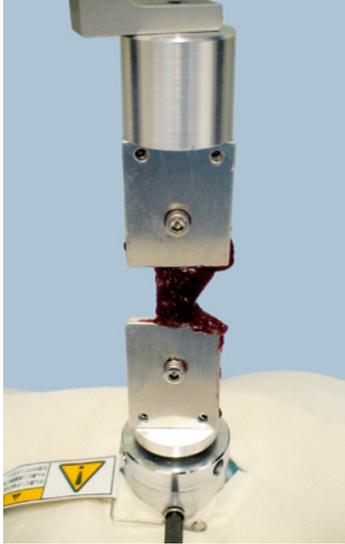


Abbildung 3: Eingespannte Schweineleberprobe

maschinen zu Gunsten anderer Methoden vernachlässigt. Mazza verwendete z.B. 2008 Druckmessungen an der Leber lebender Patienten zur Bestimmung von Materialparametern [3].

Wie man eine „Ersatzleber“ findet

Daher mussten eigene Versuche erfolgen, um die Materialparameter zu bestimmen. Aufgrund mangelnder Prüfvorschriften wurde eine eigene Prüfroutine entwickelt, die auf bestehenden Normen basiert, z.B. der DIN EN ISO 527 zur Bestimmung der Zugeigenschaften von Kunststoffen [1]. Für die bei Raumtemperatur (ca. 20 °C) durchgeführten Zugversuche stand eine Shimadzu AGS-X-Prüfmaschine mit einer 20 N Kraftmesszelle zur Verfügung (Abbildung 2).

Als Herausforderung stellte sich die Einspannung der insgesamt 52 standardisierten Schweineleberproben mit Außengewebsteil dar. So konnten bestehende Klemmvorrichtungen aufgrund der besonderen Materialkonsistenz nicht verwendet werden. Daraufhin genutzte Federklammern zerstörten die Proben, weil

die örtliche Druckbelastung zu hoch war. Daher erfolgte letztlich die Einspannung für alle Prüfungen mit selbst konstruierten Klemmvorrichtungen (Abb. 3). Die Proben wurden mit der Shimadzu-Prüfmaschine kraftgesteuert mit einer Geschwindigkeit von einem Newton pro Minute bis zum Reißen gedehnt. Für die Analyse der Rohdaten wurden eigene MATLAB® (The MathWorks) Auswertungsalgorithmen verwendet.

Wie erwartet streuten die resultierenden Spannungs-Dehnungskurven sehr stark, daher mussten für die Auswertung zunächst Ausreißer definiert werden, bei denen die max. Spannung außerhalb des Bereichs zwischen unterem und oberem Quartil aller Proben lag. Von den verbleibenden Datensätzen wurden Mittelwerte gebildet und eine Ausgleichskurve, ein Polynom 9. Ordnung, angenähert. Die Kurve besitzt einen linearen Bereich, somit kann der E-Modul mit $6,28 \cdot 10^{-2} \text{ N/mm}^2$ (62,8 kPa) bei einer Dehnung von 54 % bestimmt werden (Abbildung 4). Mit Hilfe dieser Werte war es möglich, ein Ersatzmaterial, einen PUR-Ether-Schaumstoff, zu fin-

den, der ähnliche mechanische Zugeigenschaften besitzt.

Die so gefundene „Ersatzleber“ wird zurzeit sowohl bei einer Operationssimulation (Abb. 5) eingesetzt als auch für weitergehende Untersuchung von laparoskopischen Greifinstrumenten. So dient das Ersatzmaterial auch für ergänzende Untersuchungen, um eine definierte Belastung der Instrumentenbranchen zu erreichen. Auf diese Weise können Arretiermechanismen untersucht werden, die es erlauben, Gewebe ohne Kraftaufwand über längere Zeit zu halten. Ziel hierbei ist es, einen Mechanismus zu entwickeln, der einerseits ergonomischen Gesichtspunkten entspricht, also den Arzt entlastet sowie leicht zu betätigen und zu lösen ist, als auch das Patientengewebe durch eine zu lange Klemmdauer nicht gefährdet.

Im Gegensatz zur Verwendung von tierischem Material sind alle Untersuchungen bei der Verwendung von Kunststoffen reproduzierbar, zudem lassen sich Ergebnisse untereinander vergleichen. Realitätsnahe Ersatzstoffe bilden daher eine wichtige Basis für alle entsprechenden Untersuchungen.

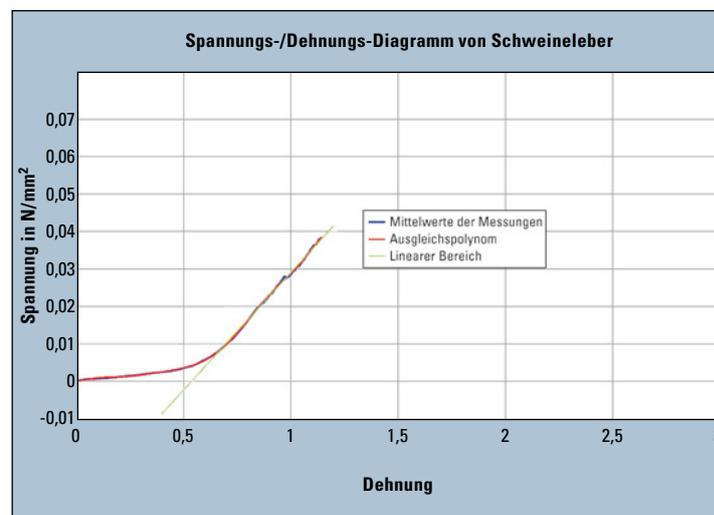


Abbildung 4: Spannungs-Dehnungs-Diagramm von Schweineleber: Darstellung der Mittelwerte der Messungen ohne Ausreißer (blau), des Ausgleichspolynoms (rot) sowie des linearen Bereichs (grün)



Abbildung 5: Simulation einer laparoskopischen Gallenblasenentfernung mit künstlichen Materialien

Literatur

- [1] DIN EN ISO 527-1: 2010 Kunststoffe – Bestimmung der Zugeigenschaften / Plastics – Determination of tensile properties
- [2] Donner, S.; Kraft, M. (2010): Potentiale zur verbesserten Gestaltung von minimalinvasiven Chirurgieinstrumenten – Auswertung einer Befragung unter laparoskopisch operierenden Chirurgen. In: Grundlagen – Methoden – Technologien / 5. VDI Fachtagung Useware 2010. Baden-Baden, 13. und 14. Oktober 2010. Düsseldorf: VDI-Verlag, S. 179-188
- [3] Mazza, E.; Grau, P.; Hollenstein, M.; Bajka, M. (2008): Constitutive Modeling of Human Liver Based on in Vivo. MICCAI 2008, Part II, LNCS 5242, 2008: 726-733
- [4] Ohara, T (1953): On the comparison of strengths of the various organ-tissues. J. Kyoto Pref. Med. Univ., 53: 577-597
- [5] Yamada, H (1970). Strength of Biological Materials. The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1970

Weiche Stoffe in harten Getränken

Eintrag endokriner Disruptoren in Lebensmittel

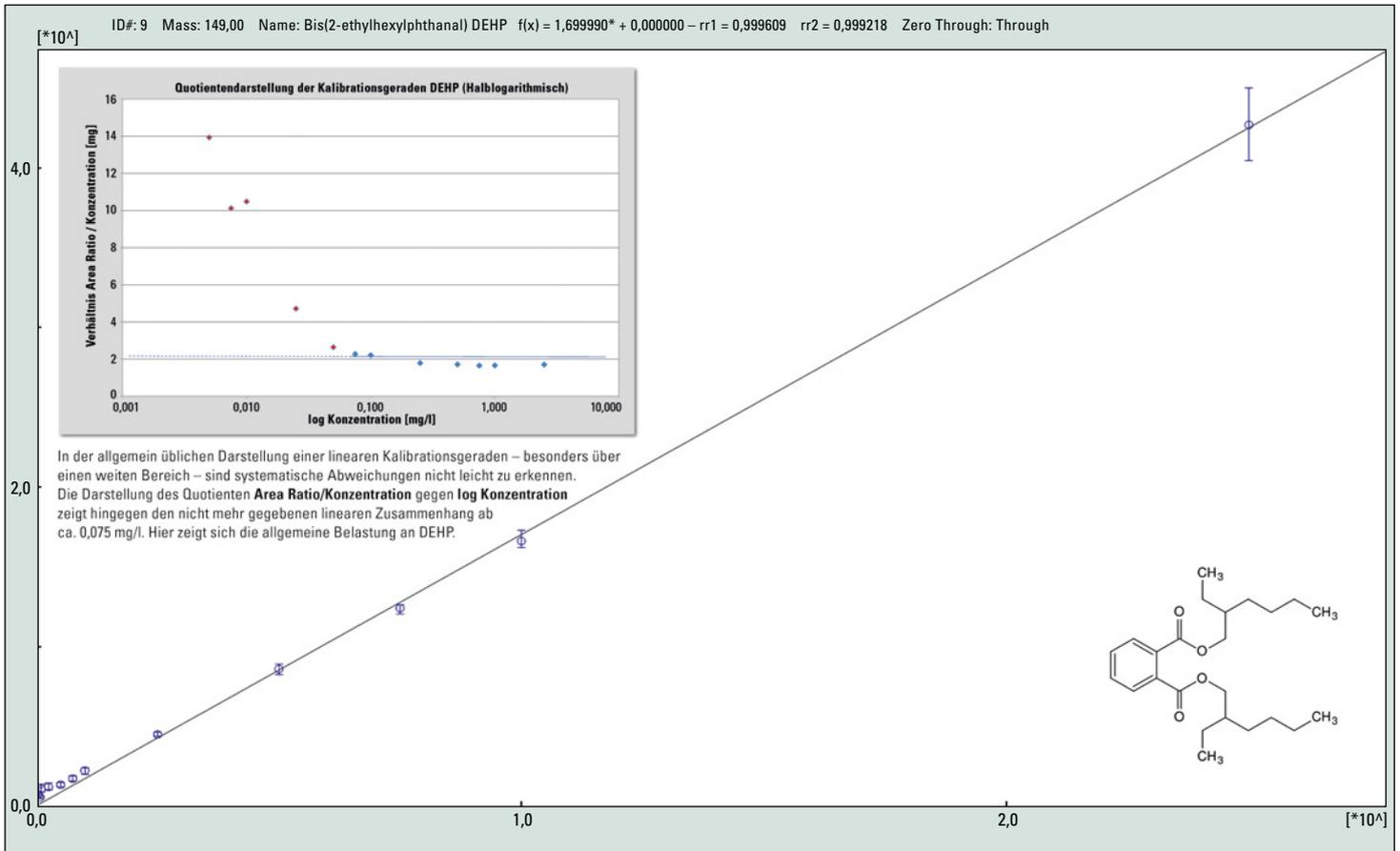


Abbildung 1: Kalibration von DEHP (Diethylhexylphthalat) im Bereich von 5 pg/µl - 2500 pg/ml

Kunststoffe wie Polyethylen, Polypropylen oder auch Polyvinylchlorid sind langkettige Polymere. Von den gewünschten Eigenschaften hängt neben der chemischen Konstitution auch die Zuzusammensetzung von Additiven ab. Zu den am häufigsten eingesetzten Additiven zählen Weichmacher wie Phthalate, Bisphenol A und Nonylphenol.

In dieser Gruppe gibt es Substanzen mit hormonähnlichen Eigenschaften. Diese Stoffe werden endokrine Disruptoren genannt und sind aufgrund ihrer Migrationsfähigkeit und ihres toxischen Potentials kritisch zu betrachten. Daher ist es gerade wichtig für Risikogruppen wie Säuglinge,

Kinder, Jugendliche in der Pubertät und Schwangere, die Belastung mit endokrinen Disruptoren so gering wie möglich zu halten (ALARA-Prinzip[®]). Eine Übersicht über die tolerierbaren Aufnahmemengen des Leitphthalats DEHP – Diethylhexylphthalat ist in Tabelle 2 dargestellt.

Weichmacher sind überall

Die hauptsächlich als Weichmacher eingesetzten Phthalsäureester (Phthalate) finden sich zum Beispiel in Farben, Lacken, Klebstoffen, Kunststoffen, Dichtungen, Kosmetikartikeln, Spielzeugen, Verpackungen und in medizinischen Produkten. Durch die

Verwendung im großen Stil in sämtlichen Arten von Kunststoffen sind viele dieser Stoffe allgegenwärtig. Sie wurden wiederholt im Hausstaub nachgewiesen [1,2].

Um eine erhöhte Belastung zu erkennen, wird der Gehalt analytisch-instrumentell überprüft. Für viele Bereiche sind entsprechende Prüfverfahren beschrieben und vom Gesetzgeber gefordert (zum Beispiel: EPA 506 (5), DIN EN ISO 18856:2005 zur Wasseranalytik)

In PVC (Folien, Bodenbeläge) beispielsweise kommen oftmals 20 % bis 30 % Weichmacher vor. Es ist hier also von Weichmachern als Hauptkomponente aus-

zugehen. Die Analytik ist mittels FTIR-ATR und GC/MS einfach. Das ubiquitäre Vorkommen (zum Beispiel DEHP) verfälscht das Ergebnis hier kaum, da eine Kontamination nur in Spuren zu erwarten ist und dies im zweistelligen Prozentbereich nicht ins Gewicht fällt.

Phthalate selbst in PET-Getränkeflaschen nachweisbar

In anderen Kunststoffen, wie zum Beispiel PET (Polyethylenterephthalat) sollten keine Phthalate vorkommen. Durch Fehlrecycling, thermischer Belastung oder Migration aus dem Aufdruck ist eine Kontamination nicht auszuschließen. Hierbei

ID#	Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Verfahren
1	Dimethylphthalat (DMP)	0,65	µg/l	GC-MS
2	Diethylphthalat (DEP)	1,07	µg/l	GC-MS
4	Nonylphenol (NP)	0,97	µg/l	GC-MS
5	Di-n-buthylphthalat DBP	1,55	µg/l	GC-MS
6	Bisphenol A	N.D.	µg/l	GC-MS
7	Bis(2-ethylhexyl)adipat DEHA	1,28	µg/l	GC-MS
8	Benzylbutylphthalat BBP	0,25	µg/l	GC-MS
9	Bis(2-ethylhexyl)phthalat DEHP	1,87	µg/l	GC-MS
10	Di-n-octylphthalat DNOP	0,46	µg/l	GC-MS

Tabelle 1: Gehalt an Phthalaten, Bisphenol A und Nonylphenol in einem Erfrischungsgetränk mit Cola-Geschmack in einer Polyethylen (LD-PE) Verpackung (Ausschnitt aus einem Untersuchungsbericht)

handelt es sich um Spuren, die möglicherweise in Lebensmittel wie Mineralwasser oder Säfte gelangen und durch den Verzehr inkorporiert werden. In Tabelle 1 ist das Analyseergebnis einer Untersuchung eines handelsüblichen Erfrischungsgetränks mit Cola-Geschmack zusammengefasst. Mehrere Phthalate konnten in Spuren Mengen nachgewiesen werden. Die analytische Bestimmung wurde mittels GC/MS nach Probenanreicherung durchgeführt. Die geringe Menge an Analyt erfordert eine große Sensitivität der apparativen Ausstattung. Die Kombination GC-2010 Plus mit dem QP-2010 Ultra MSD erfüllt diese Anforderung leicht.

Abbildung 1 visualisiert das allgegenwärtige Vorkommen des Phthalates DEHP anhand einer Kalibrierkurve. Der lineare Bereich des Detektionsverfahrens wird trotz Verwendung hochreiner Laborchemikalien im unteren

Konzentrationsbereich durch „eingeschleppte“ Spuren begrenzt. Vor diesem Hintergrund müssen besondere Vorkehrungen in der Probenvorbereitung sowie bei der Auswahl an benutzten Materialien und Laborchemikalien getroffen werden, um Fehlmessungen weitestgehend auszuschließen. In der allgemein üblichen Darstellung einer linearen Kalibrationsgeraden – besonders über einen weiten Bereich – sind systematische Abweichungen

Chromatographische Bedingungen:
 Shimadzu GCQP-2010 Plus mit MSD QP-2010 Ultra, Säule Macherey & Nagel Optima delta-3-0. 10 µm 10 m x 0,1 mm ID, Split 1:25, Purge 3 ml/min, Linear Velocity 30 cm/s, Temperaturprogramm 130 °C - 0,2 min, 40 °C/min auf 270 °C, 60 °C/min auf 320 °C - 3,0 min

nicht leicht zu erkennen. Die Darstellung des Quotienten Area Ratio/Konzentration gegen log

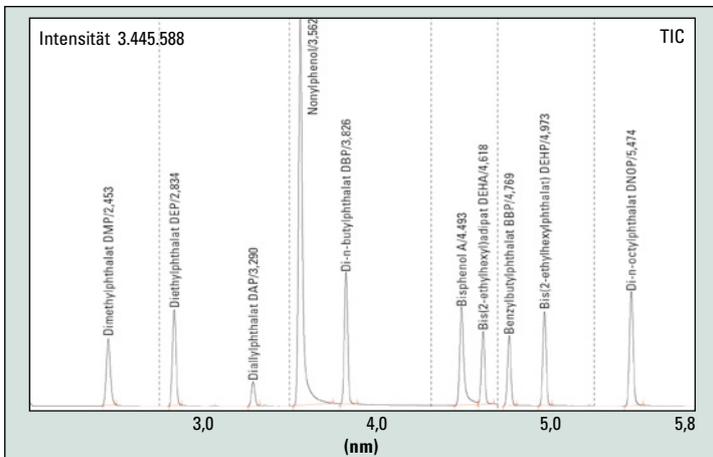


Abbildung 2: SIM-Beispielchromatogramm Phthalat-Mix, ca. 2,5 ng/µl; Bdg.: Split 1:25, Septum Supelco Thermogreen LB2, Säule Macherey & Nagel Optima delta 3; 10 m * 0,1 mm ID * 0,1 µm Film

Institution	TDIs	Wert (µg/kg KG/d)	Jahr
NL-RIVM	TDIa	4	2002
US-EPA	RfDc	20	1991
WHO	TDIa	25	2003
EU-CSTEE	TDIa	37	1998
ECB/EU	TDIa	20 (Säuglinge 0 bis 3 Monate und Frauen im gebärfähigen Alter) 25 (Säuglinge > 3 bis 12 Monate) 48 (restliche Allgemeinbevölkerung)	2004
D-UBA	TRDd	50	2003
BfR und EFSA	TDIa	50	2005
		a: Tolerierbare tägliche Aufnahme b: Maximal zulässiges Risiko c: Referenzdosis (für chronische Exposition) d: Tolerierbare resorbierte Dosis e: Minimales Risiko (für chronische Dauereexposition)	

Tabelle 2: Übersicht über tolerierbare Aufnahmemengen an DEHP(6)

Konzentration – Abbildung 1 zeigt hingegen den nicht mehr gegebenen linearen Zusammenhang ab ca. 0,075 mg/l. Hier zeigt sich die allgemeine Belastung an DEHP. Die im unteren Konzentrationsbereich feststellbaren einseitigen Abweichungen von der Horizontalen sind durch den „Blindgehalt“ verursacht.

lazan) helfen ebenfalls die Messunsicherheit zu verringern. Durch den Einsatz von Fast GC können erforderliche Mehrfachbestimmungen in kurzer Zeit realisiert werden (siehe Abb. 2).

*ALARA: so niedrig wie vernünftigerweise erreichbar („as low as reasonably achievable“)

Strategien zur Vermeidung der Kontamination durch Phthalate

Grundsätzlich sind bei der Bestimmung von Phthalaten im Spurenbereich phthalatfreie Geräte und Materialien zu verwenden – üblicherweise Glas und Aluminium [3]. Diese Stoffe können einfach durch thermische Dekontamination [4] gereinigt werden. Geeignete Verfahren sind unter anderem in der DIN EN ISO 18856:2005 beschrieben. Lösungsmittel sind vor Verwendung auf Phthalatfreiheit zu testen. Septen und Liner müssen ebenfalls den Anforderungen genügen. Weitere Maßnahmen wie Silanisieren (Hexamethyldi-

Literaturverzeichnis

- [1] Fromme, H., et al., et al. Occurrence of phthalates and musk fragrances in indoor air and dust from apartments and kindergartens in Berlin (Germany). Indoor Air, 2004, 14, 188-195
- [2] Scharf, S., Uhl, M. and Hohenblum, P. Hausstaub – Ein Indikator für Innenraumbelastung. Umweltbundesamt Österreich, Wien, 2004, 258
- [3] Brüll, U., Alberti, J. and Furtmann, K. Phthalatanalytik in Wasser und Sediment. Landesumweltamt NRW, 45023 Essen
- [4] Saido, Katsuhiko, et al., et al. Thermal Stability of Phthalic Esters. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1984, [61(5)], 945-949

Endokrine Disruptoren

Endokrine Disruptoren besetzen spezifische Rezeptoren, ersetzen Hormone und bringen den Hormonhaushalt des menschlichen Körpers aus dem Gleichgewicht. Folgen sind die Beeinträchtigung von Wachstums-, Entwicklungs- und Fortpflanzungsvorgängen. Beispiele sind Entwicklungsstörungen, Missbildungen, verfrühte Geschlechtsreife bei Mädchen, Fruchtbarkeitsstörungen sowie eine Abnahme der Spermienzahl.

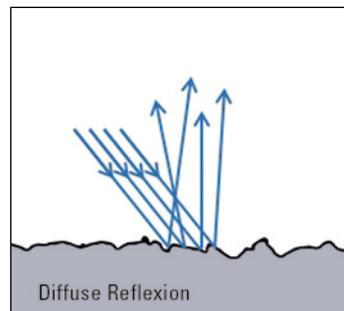
Glas auf der Straße erhöht die F

Partikelmessung von Glaskügelchen

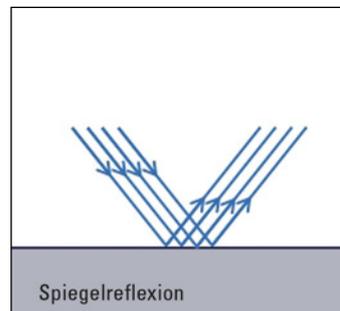
Besonders im Straßenverkehr bedeutet „Sehen und gesehen werden“ mehr Sicherheit für alle. In der Nacht verbessern Reflektoren die Sichtbarkeit von nicht selbstleuchtenden Gegenständen und Verkehrsteilnehmern. Man kann grob drei Arten der Reflexion unterscheiden: Diffuse Reflexion, Spiegel- und Retroreflexion.

Bei der diffusen Reflexion erfolgt die Haupt-Rückstreuung senkrecht zum Material, unabhängig von der Einstrahlungsrichtung. Beispiele sind Milch, Wandfarbe oder Papier. Bei der Spiegelreflexion behält das reflektierte Licht seine Parallelität. Der Winkel, mit dem die Lichtstrahlen auf die Oberfläche treffen, ist genau so groß wie der Winkel, mit dem sie von der Oberfläche reflektiert werden.

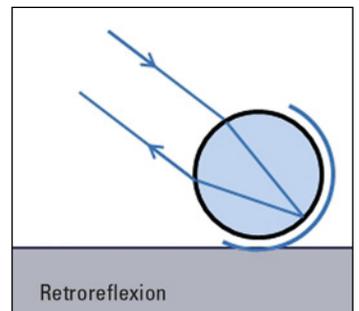
Im Falle der Retroreflexion wird möglichst viel des von der Lichtquelle ausgehenden Lichts zurück zum Sender reflektiert. Licht von Autoscheinwerfern wird beispielsweise zum Auge des Fahrers



Diffuse Reflexion



Spiegelreflexion



Retroreflexion

Abbildung 1: Unterschied diffuse Reflexion, Spiegel- und Retroreflexion

reflektiert. Das Prinzip der Retroreflexion wird demnach erfolgreich für Verkehrsbeschilderungen und Fahrbahnmarkierungen eingesetzt.

Glaskugeln in retroreflektierenden Materialien

Eine Möglichkeit retroreflektierende Materialien herzustellen, ist es kleine Glaskügelchen auf der Oberseite eines Materials einzuarbeiten. Die Rückseite dieser Kugeln kann zudem mit einer spiegelnden Schicht versehen werden. Sobald Licht auf sie trifft, wird durch zweimalige Lichtbrechung innerhalb der Kugeln das auftref-

fende Licht in die ursprüngliche Richtung reflektiert.

Oft scheinen Fahrbahnmarkierungen bei regennasser Fahrbahn in der Dunkelheit unterschiedlich gut sichtbar zu sein. Ist dies nun Einbildung oder lässt sich diese Beobachtung erklären? In der

Tat gibt es zwei unterschiedliche Arten von Markierungen.

Die in der Vergangenheit verwendete Markierungstechnik nutzt Glasperlen und Griffigkeitsmittel, die in die dünn aufgetragene und noch feuchte Farbe gestreut werden um die gewünschte Sicht-

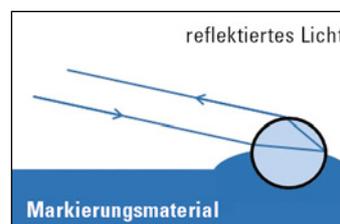
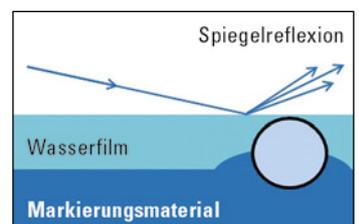


Abb. 2: Verhalten verschiedener Markierungstypen bei trockener bzw. nasser Fahrbahn





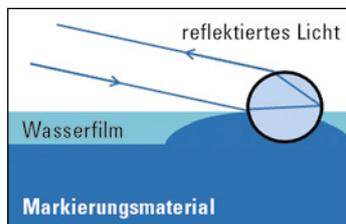
Sichtbarkeit

barkeit auch bei Nacht zu erreichen.

Problematisch ist diese Art der Markierungen bei Nässe auf der Fahrbahn. Ein dünner Wasserfilm überdeckt Fahrbahn und Markierung. Der Wasserfilm vermindert die Retroreflexion und reduziert die Sichtbarkeit der Markierungen bei Nacht und Nässe erheblich.

Buchstäblich herausragend – eine neue Markierungsmethode

Aus diesen Gründen wurde eine neue Markierungsmethode entwickelt. Sie hat die herkömmlichen Methoden weitgehend verdrängt, da sie gute Sichtbarkeit



auch bei Nacht und Nässe gewährleistet. Auf Fernstraßen sind bereits nahezu alle Markierungen des älteren Typs beseitigt. Insgesamt werden auf rund 70 % aller deutschen Straßen Markierungen des neueren Typs verwendet. Um mehrere Millimeter ragen sie aus dem Wasserfilm auf der Fahrbahn heraus, so dass die Retroreflexion in den Glaskügelchen weiterhin stattfinden kann.

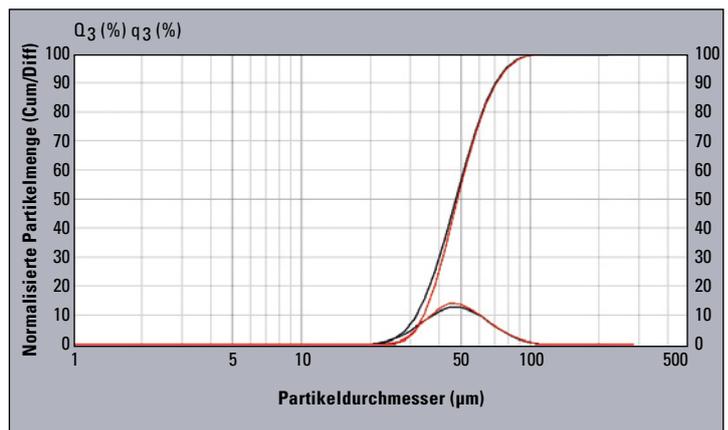
Partikelmessung der Glaskügelchen

Die Kügelchen haben typischerweise einen Durchmesser von etwa 50 µm. Um die Größe und Größenverteilung der Kugeln zu überprüfen, wurden Partikelmessungen mit dem Partikelgrößenanalysator SALD-7101 durchgeführt.

Die Glaskügelchen wurden mit ein paar Tropfen eines Tensids in Wasser suspendiert. Um zu verhindern, dass sie auf den Boden der Messzelle sinken, wurden sie mit dem Rührer der Batch Cell BC-71 in Bewegung gehalten.

Wie im Spektrum zu erkennen, konnte entsprechend den Erwartungen eine Größenverteilung der Kugeln um 60 µm gemessen werden. Der Aufbau SALD-7101

inklusive BC-71 ist somit in der Lage, zuverlässig die Größenverteilung von kleinsten Glaskügelchen zu vermessen.



Nr.	Farbe	Medianwert D [µm]	Modalwert D [µm]	Mittelwert D [µm]	Standardabweichung	Ref. Index
1	Schwarz	47,146	44,668	47,245	0,134	1,80 - 0,00i
2	Rot	47,957	44,668	48,718	0,123	2,00 - 0,00i

Abbildung 3: Größenverteilung der Glaskügelchen



Fast allgegenwärtig

Bestimmung von Bisphenol A in Plastikverpackungen

Troisi Jacopo, Di Fiore Raffaele
Laboratorio Chimico Merceologico, Az. Spec. CCIAA Napoli
Palumbo Giancarlo
Università Federico II, Dottoranda di Ricerca in „Scienza dell’Alimentazione e della Nutrizione”, XXV ciclo, coordinatore:
Prof. Franco Contaldo, Tutor:
Prof. Maria Valletrisco

in zahlreichen Produkten für Kinder zu finden sowie in Flaschen, Sportartikeln, medizinischem, zahnmedizinischem Gerät und optischem Gerät, in Brillengläsern, Haushaltsgeräten und Schutzhelmen – überall dort, wo widerstandsfähiges und langlebiges Material gefragt ist. Die epoxydischen, BPA-haltigen Harze

werden hingegen als Innenverkleidung in vielen Stahldosen für Lebensmittel und Getränke verwendet. BPA ist außerdem ein Vorläufer des Flammschutzes und wurde in der Vergangenheit auch als Fungizid angewandt.

Seit den 30er Jahren verdächtig, schädlich für den Menschen zu

sein, erhöhten sich die Vorbehalte gegenüber BPA-Plastikmaterialien erheblich im Jahr 2008, als viele Regierungen Studien über seine Sicherheit von BPA in Auftrag gaben. Einige Vertriebe zogen Produkte mit diesem Inhaltsstoff aus dem Verkehr. Vor allem scheint BPA für zahlreiche Krankheiten der männlichen und weiblichen Geschlechtsentwicklung im Fötusstadium verantwortlich zu sein, sowie für einen Rückgang der Fruchtbarkeit im Erwachsenenalter.

BPA und Hormon-tätigkeit

Die Weltproduktion von BPA wurde für 2010 auf zwei Mio. Tonnen geschätzt. BPA verändert die Aktivität des endokrinen Apparates, indem es die Hormonrezeptoren aktiviert. Daher kann es, wenn es sich um erhöhte Dosen handelt, negative Folgen für die Gesundheit haben. Experimentelle Studien haben gezeigt,

Bisphenol A (BPA) wird hauptsächlich zur Plastikproduktion verwendet, seine Nebenprodukte sind seit über 50 Jahren im Handel. Es dient auch bei der Verbindung von Polyestern, von Polysulfonaten, als Antioxidationsmittel in einigen Plastifizierungsmitteln und als Hemmstoff gegen die Polymerisierung von PVC.

Vor allem aber ist es das Schlüsselmonomer bei der Herstellung von epoxydischen Harzen und den allermeisten Polykarbonatformen. Da absolut transparent und fast unzerbrechlich, ist Polykarbonat

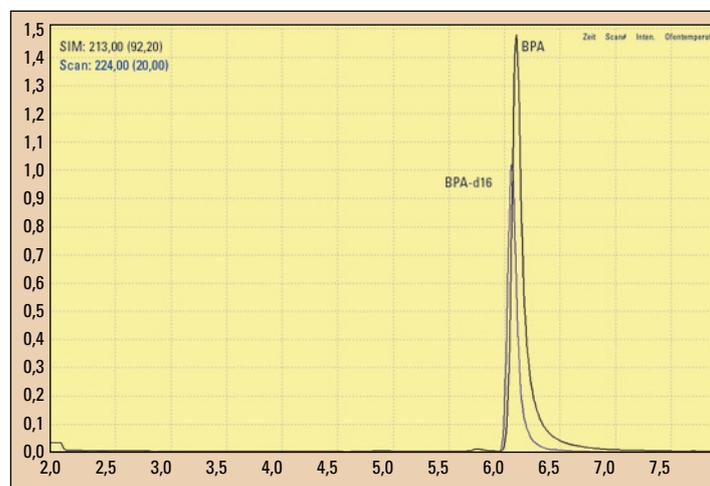


Abbildung 1: Gas-Chromatogramm (TIC) eines BPA- und BPA-d16-Standards

dass BPA die Tätigkeit von Östrogenen (die existenziell für die Hirnentwicklung ist) soweit nachahmt, dass schon kleinste Dosen die Aktivität der Östrogene mit ihrer Wirkung auf das neuronale Wachstum vollständig verhindern. Obwohl die auf Basis von BPA polymerisierten Verpackungsmaterialien unter normalen Umständen als ausreichend stabil angesehen werden, können sie dennoch kleine, aber toxikologisch signifikante Mengen BPA abgeben, so dass ein erhöhtes Risiko besteht, dass Getränke oder Lebensmittel mit der Substanz vermischt werden.

BPA wurde außerdem mit der Entwicklung zahlreicher weiterer Krankheitsbilder im Bereich des Fortpflanzungsapparates, der Prostata und der weiblichen Brust in Verbindung gebracht. Die durchgeführten Studien zeigen eine klare Evidenz endokriner Folgen und erlauben es, eine tägliche Maximaldosis von 0,05 mg/kg Körpergewicht zu definieren [1].

Langfristiges Risiko nicht ausgeschlossen

Das U.S. National Institute of Environmental Health Sciences hat im September 2008 einen Entwurf zur Bewertung des Gesundheitsrisikos für den Menschen ausgegeben, das sich aus den komplexen Berührungspunkten durch Lebensmittel, Konsumprodukten und Lebensumständen ergibt [2]. Das Dokument hat die Effekte des BPA in den experimentellen Studien und die dazugehörigen Verbindungen „Dosierung/Reaktion“ mit den vorhandenen Informationen über das Niveau der Gefährdung des Menschen durch den Stoff verglichen, einschließlich der bis heute limitierten epidemiologischen Studien und biologischen Überwachungen.

Die Schlussfolgerungen schließen jegliches Risiko für die Fortpflanzungsgesundheit von Erwachsenen und Schwangerschaft aus. Dennoch bleibt die Sorge um ein langfristiges Risiko bei der end-

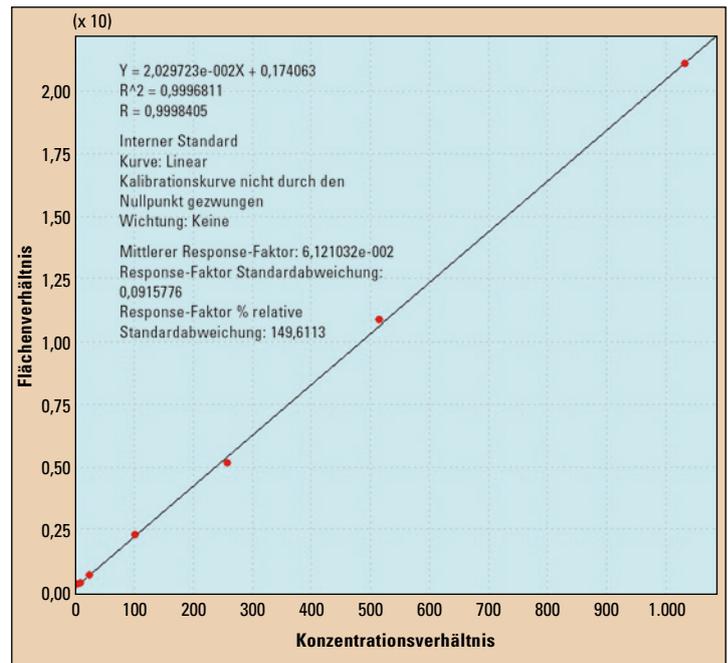


Abbildung 3: GCMS-Kalibrierungskurve des BPA

okrinen, neurologischen und reproduktiven Entwicklung in Folge einer Aussetzung im Mutterleib und/oder während der Kindheit nicht aus.

Europa hat BPA-haltige Babyflaschen mit der Richtlinie 2011/8/UE der Europäischen Union vom 28. Januar 2011 verboten. Seit dem 1. März 2011 ist die Herstellung von BPA-haltigen Babyflaschen verboten, für Verkauf und Import gilt dies ab 1. Juni 2011.

Forschungsgruppe Polycarbonat/BPA

Gemeinsam haben die Verbände American Chemistry Council, Plastics Europe und die Japan Chemical Industry Association eine Forschungsgruppe zum Polycarbonat/BPA gegründet (www.bisphenol-A.org). Die Gruppe hat auch die Festlegung von BPA in unterschiedlichen Umgebungen bestimmt (Umwelt, biologische und Plastikmaterialien) [3]. Nach diesen Kriterien ist das Mittel der Wahl zur Bestimmung von BPA die Gas-Chromatographie, gekoppelt an die Massenspektrometrie (GC-MS), wobei die Bestätigung auf Basis des Verhältnisses zwischen dem Signal auf m/z 228 und m/z 213 erfolgt. Trotzdem wird bis heute ein Großteil der wissenschaftlichen

Arbeiten unter Anwendung der HPLC-MS-MS-Technik zur BPA-Bestimmung publiziert. Diese Diskrepanz ist vielleicht der Notwendigkeit geschuldet, auch noch niedrigste Mengen erfassen zu können, was mit den auf dem Markt befindlichen GC-MS-Systemen schwer erreichbar ist.

Materialien und Methoden

Hier wird eine Bestimmungsmethode von BPA mit GC-MS vorgestellt, wobei einmal ein GCMS-QP2010 genutzt wird und einmal eine Methode, die auf einer Flüssig-Chromatographie basiert in Verbindung mit dem LCMS Single Quad Detektors LCMS-2020. In beiden Fällen liegt die Erhebungsgrenze bei ca. 0,1 µg/l.

BPA-Bestimmung mit GC-MS

Die GC-Methode beruht auf einer SLB®-5 ms-Säule von Supelco® von 15 m Länge und einem Innendurchmesser von 0,1 mm und einem Film von 0,1 µm. Das GC-Ofenprogramm sieht zunächst eine erste Phase von 1,5 min. auf 160 °C und zwei Heizraten vor: die erste von 20 °C/min. bis auf 260 °C, die zweite von 40 °C/min. bis auf 320 °C. Die Injektionstemperatur ist 260 °C und die Lineargeschwindigkeit des

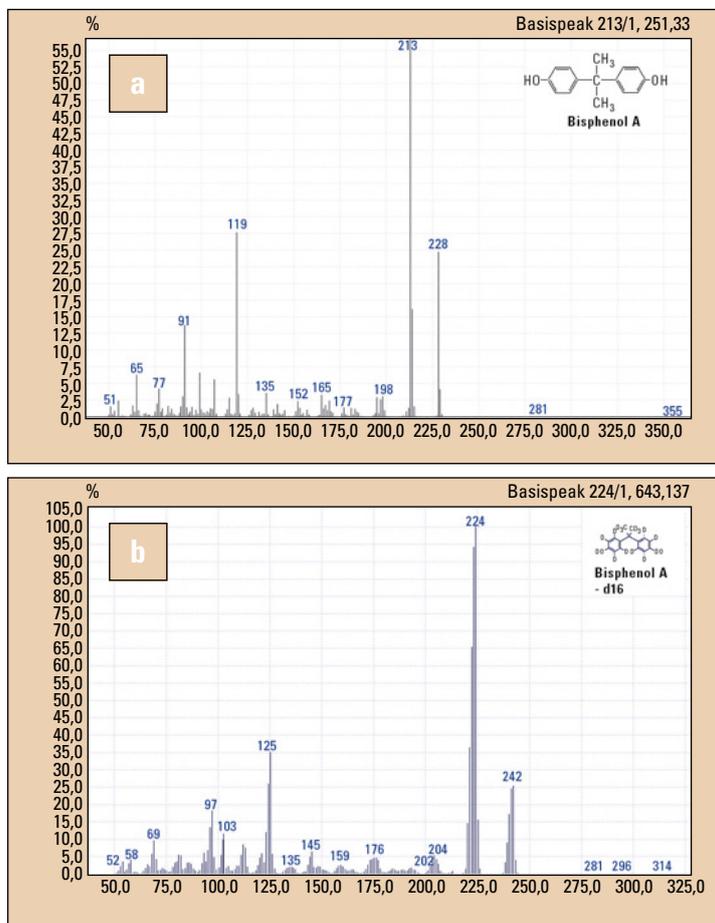


Abbildung 2: Massenspektrum des BPA (a) und des BPA-d16 (b)

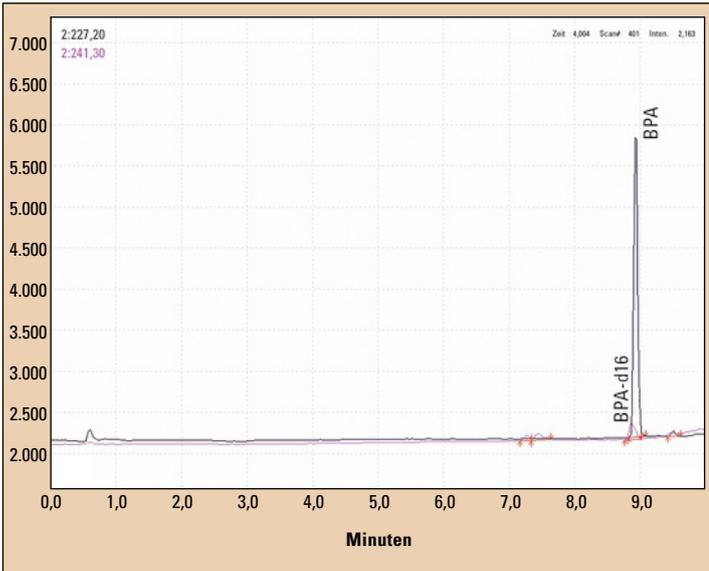


Abbildung 4: Chromatogramm LCMS eines BPA- und BPA-d16-Standards

Trägergases (Helium) ist 50 cm/sek. Diese Einstellung bedingt einen Druck von über 700 kPa und eine Linearströmung von 0,86 ml/min. Die Gesamt-Zykluslaufzeit beträgt 8 min., die maximale Retentionszeit 5,9 min.

Diese schnellen Analysezeiten erfordern natürlich eine hohe Datenaufnahmegeschwindigkeit. Es wurden zwei Datenerfassungskanäle benutzt, einer im SIM-, der andere im SCAN-Modus zwischen $m/z = 50$ und $m/z = 500$. Die so genannte „event time“ für den SCAN-Modus wurde auf 0,1 sek. festgelegt (entspricht einer Scangeschwindigkeit von 5.000 amu/sek. was die Hälfte der erreichbaren Höchstgeschwindigkeit

mit QP2010 ist). Im SIM wurden die Ionen $m/z = 213$ und $m/z = 228$ für das BPA und $m/z = 224$ für den internen Standard gemessen.

Die Kalibrierung wurde mittels acht Standardlösungen in einer Konzentration von 0,1 µg/l bis 1.000 µg/l hergestellt. Diese Methode hat sich als extrem verlässlich erwiesen. Die Messung wurde unter Verwendung eines internen deuterierten Standards (BPA-d16) durchgeführt.

Bestimmung von BPA mit HPLC-MS

Die HPLC-MS-Methode hingegen basiert auf einer Shim-Pack

Argusaugen

Neue Klasse von UV-VIS Zweistrahlspektralphotometern

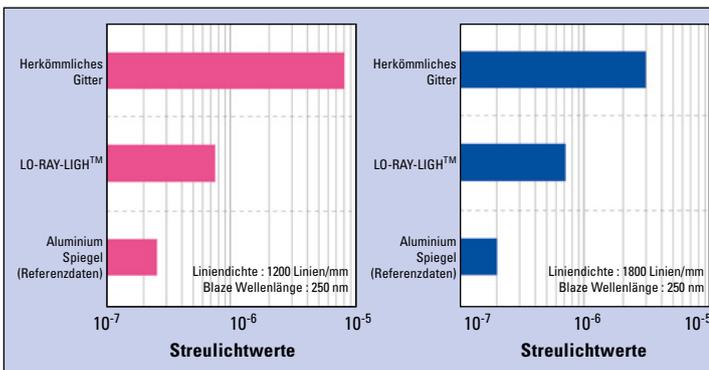


Abbildung 1: Darstellung des Streulichts und der Vergleich zwischen einem konventionellen, einem LO-RAY-LIGH Gitter und einer Aluminium Referenz

Die Rolle als weltweiter Marktführer bei UV-VIS-NIR-Zweistrahlspektrophotometern stellt stetige Herausforderungen an die Shimadzu-Entwickler, die hohen Erwartungen von Anwendern aus aller Welt zu bedienen und Standards zu setzen in der Geräteentwicklung. Shimadzu entwickelt nicht nur komplette Analysensysteme, sondern auch die optischen Bauteile

eines Spektrophotometers. Dieser Artikel fokussiert auf eine patentierte Entwicklung in der Beugungsgitter-Technologie.

Neue holographische Expositionsmethode

Mit einer neuen holographischen Expositionsmethode hat Shimadzu die Qualität der Furchen für den Reflexionswinkel am Sägezahn-

muster der Gitter optimiert. Dieses LO-RAY-LIGH® genannte Prinzip ist eine Entwicklung, die eine hervorragende Gitterqualität erzeugt. Bisher galt die Regel, je mehr Linien ein Gitter hat, desto schärfer ist die spektrale Abbildung. Mit dem LO-RAY-LIGH Gitter wird dies revidiert. Das Verfahren zur Herstellung des Gitters bringt eine hohe Präzision in der Gitterabbildung mit sich und damit eine Schärfe für die spektrale Auflösung, die bessere Eigenschaften wiedergibt als ein herkömmliches Gitter.

Die Entwicklung dieser Gitter zielte auf eine signifikante Streulichtreduzierung.

Schärfere Wiedergabe

Abbildung 1 gibt die Streulichtwerte für ein herkömmliches Gitter und das LO-RAY-LIGH Gitter wieder. In der logarithmischen Skalierung ist zu erkennen, dass eine außergewöhnlich hohe Streulicht-Reduzierung mit dem LO-RAY-LIGH Gitter möglich wurde.

Zur Qualifizierung eines Gitters wird die Intensität des Lichtes erster Ordnung in Delta-nm-Schritten aufgetragen. In Abbil-

dung 2 ist zu erkennen, dass das LO-RAY-LIGH Gitter das Licht erster Ordnung sehr viel schärfer und im ganzen gezeigten Bereich mit weniger Streulicht wiedergibt. In dem gezeigten Diagramm wurden 1.200 Linien/mm Gitter mit einer Blaze-Wellenlänge von 250 nm verglichen.

Neue Optik macht die Qualität

Die Qualität der optischen Bauteile macht sich natürlich bei den Messungen bemerkbar. Im Shimadzu Spektralphotometer UV-2700 befindet sich eine Doppelmonochromator-Optik, die mit zwei dieser neuen Gitter ausgerüstet wurde. Die Auswirkung ist erheblich. Am Beispiel einer Linearitätsmessung von einer $KMnO_4$ Verdünnungsreihe sieht man die Differenz zu dem vorherigen Shimadzu Modell UV-2550 aus der gleichen Klasse. Während das UV-2550 schon bei sechs Absorptions-Einheiten in starkes Rauschen übergeht, zeigt das neue UV-VIS-Spektrophotometer UV-2700 hervorragende lineare Eigenschaften bis zu acht Absorptionseinheiten.

Betrachtet man dazu die Anzahl der Gitterlinien, so findet man für

XR-ODS-Säule mit 50 mm Länge und 2 mm Durchmesser. Die Chromatographie wurde mittels eines Gradienten Wasser/Methanol durchgeführt, das Gradientenprogramm sieht eine erste Phase von einer Minute von 20 %

Methanol vor, bis zu einer Steigung bis zu 50 % in fünf Minuten, dann eine weitere Rampe bis auf 100 % in weiteren fünf Minuten, sodann einen Rückgang auf die Anfangskonditionen (20 % Methanol) in weiteren zwei Minuten und schließlich eine Wiederherstellung des Gleichgewichts in drei Minuten. Die gesamte Analyse dauert 15 Minuten. Der Fluss betrug 0,2 ml/min.

Auch in diesem Fall wurde die Datenerfassung sowohl im SCAN-Modus (die negativen Ionen messend) zwischen $m/z = 180$ und $m/z = 480$, als auch im SIM-Modus (negative Ionen) $m/z = 227,20$ und $m/z = 241,30$ durchgeführt. Die Ionenquelle ist

eingestellt auf -3,5 kV, die Desolvation Line auf 250 °C. Der Fluss des Verneblergases beträgt 1,5 l/min.

Schlussfolgerungen

Die Möglichkeit, das BPA mit erhöhter Empfindlichkeit sowohl in GCMS als auch in LCMS zu quantifizieren, ist eine notwendige Voraussetzung bei der Analyse von Proben verschiedenster Herkunft. Seit den ersten durchgeführten Nachforschungen scheint das BPA in sehr vielen Gegenständen des täglichen Lebens verbreitet zu sein – wenn auch in geringer Konzentration. Erst mit einer effizienten Quantifizierung des vorhandenen BPA in seinen ver-

schiedenen Quellen kann man das tatsächliche Niveau der Gefährdung des Menschen und die Wirkung des BPA als Endokriner Disruptor abschätzen.

Bibliografie

- [1] EFSA panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with foods – Efsa Journal Jan 2007doi: 10.2903/jefsa.2007.428
- [2] NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental effect of Bisphenol A – NIH Publication No.08-5994 Set 2008
- [3] www.bisphenol-a.org/pdf/criteria_102002.pdf

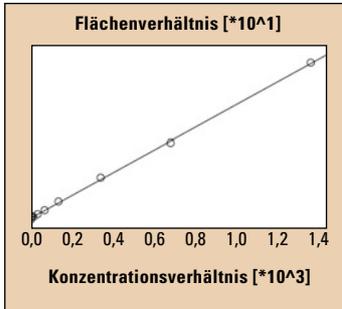


Abbildung 5: LCMS-Kalibrationskurve des BPA

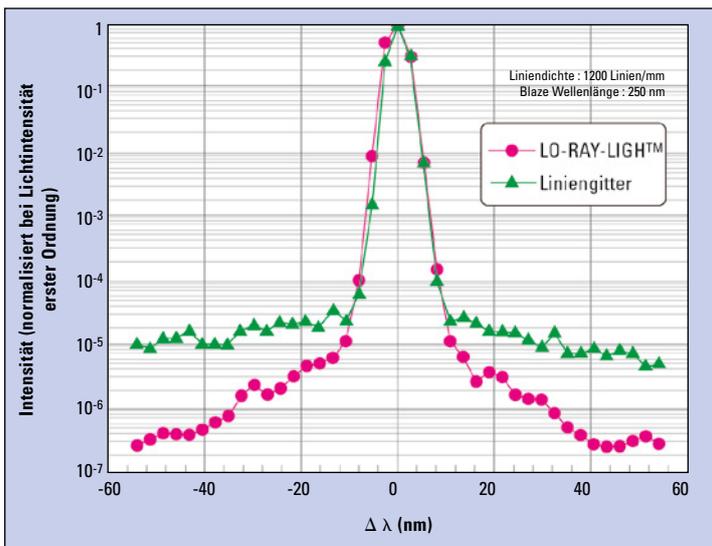


Abbildung 2: Darstellung der Intensität des Lichtes erster Ordnung in Abhängigkeit von der Distanz zum Ursprung der Wellenlängen in nm

das UV-2550 1.600 Linien /mm und für das neue Gerät UV-2700 1.300 Linien/mm. Mit reduzierter Gitterlinienanzahl wird mit dem neuen Gitter eine bessere Eigenschaft der Messungen erzielt als mit dem herkömmlichen Gitter höherer Linienanzahl.

Mit dieser Zielsetzung bei der Geräteentwicklung empfiehlt sich das UV-2700 für Applikationen mit hohen Absorptionen, hohen Linearitäten und geringem Streulicht:

- Polarisierende Filme
- Transmission von funktionellen Filmen
- Bestimmung der Schichtdicke dünner Filme
- Protein- und Nukleinsäure-Bestimmung
- Umweltanalytik: Quantifizierung von Anorganika in Wasser
- Lebensmittelanalytik: Quantifizierung von Vitaminen, Lebensmittelzusätzen und Mineralien

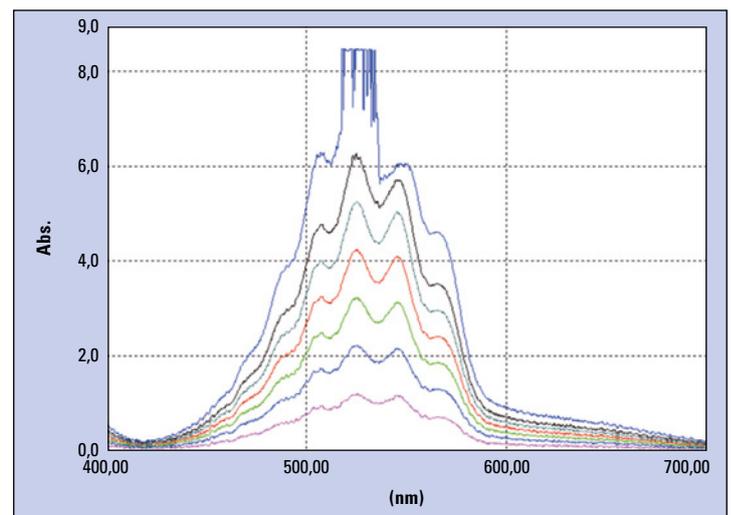


Abbildung 4: UV-VIS-Spektren einer Kaliumpermanganat-Verdünnungsreihe von 6 bis 1 Absorptionseinheiten gemessen mit dem UV-2550 ausgerüstet mit den herkömmlichen Gittern

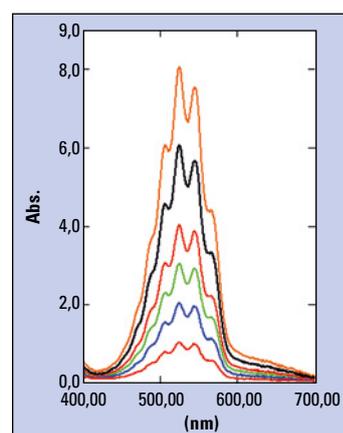


Abbildung 3: Messung einer $KMnO_4$ Verdünnungsreihe von 8 bis 1 Absorptionseinheiten mit dem Doppelmonochromator basierenden Spektralphotometer UV-2700, Gitter nach der LO-RAY-LIGHT-Technik gefertigt

Wir schicken Ihnen weitere Informationen gerne zu. Bitte notieren Sie hierfür die entsprechende Kennziffer auf der Antwortkarte oder bestellen Sie über die News App bzw. News WebApp. **Info 402**



Kontaminationen von Pf

Bestimmung von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen in P

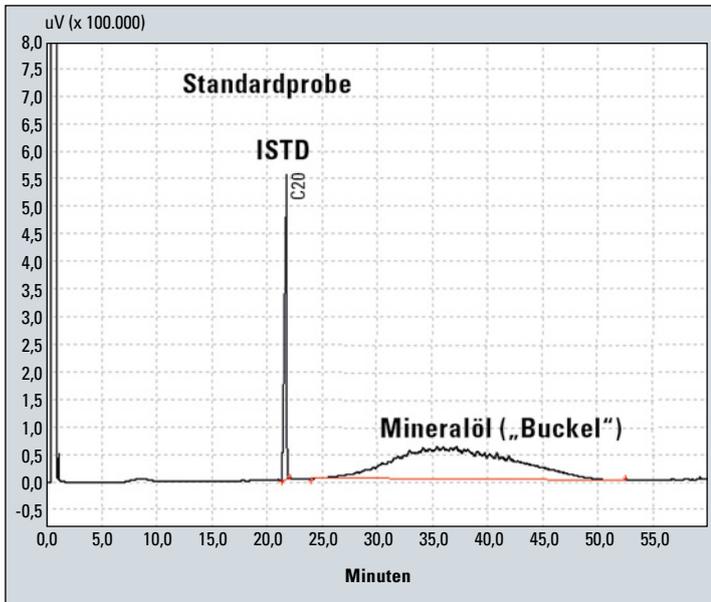


Abbildung 1: Chromatogramm einer Standardprobe



Manos Barmpounis,
Dimitris Georgantas
 Applications Department of
N.Asteriadis S.A., 31 Dervenion
Str. & Poseidonos Str.,
144 51 Metamorfossi – Athen,
Griechenland,
E-Mail: mb@asteriadis.gr

Vassiliki Panagiotopoulou,
Vassilis Tzamtzis
 GeneralChemicalState Labora-
 tory, 16 An. Tsocha Str.,
 11521 Athen

Verunreinigungen von Lebensmitteln durch Mineralöl-Paraffine, sind heute nicht selten. Obwohl es schwierig ist, die genauen Quellen nachzuweisen, ist allgemein bekannt, dass viele Kontaminationen durch den breiten Einsatzbereich dieses Mineralölderivats ihre Ursache haben. Verpackungszusätze, Schmierstoffe, Zusatzstoffe aus Kosmetik oder Pestizide können Paraffinwachs und -öle freisetzen. Infolgedessen werden in der Literatur viele Fälle von Mineralölkontaminationen in Nahrungsmitteln angeführt, die

mit Speiseölen, Bäckereiprodukten, abgepackten Lebensmitteln und recycelten Kartonagen in Verbindung stehen.

Mineralölsuren in Lebensmitteln können unerwünschte toxische Wirkungen entfalten. Zulässige Tagesdosen hat das Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) festgelegt: auf 0-20 mg/kg Körpergewicht für hochviskose Mineralöle, auf 0-10 mg/kg Körpergewicht für Mineralöle niedriger und mittlerer Dichte (Klasse I) und auf 0-0,01 mg/kg Körpergewicht für Mineralöle niedriger und mittlerer Dichte (Klasse II und III) [1].

Im Frühjahr 2008 wurden nahezu 100.000 Tonnen Sonnenblumenöl in der Ukraine entdeckt, die mit Mineralöl in Konzentrationen oftmals über 1.000 mg/kg kontaminiert waren. Daraufhin forderte die Europäische Kommission durch DG SANCO die nationalen Lebensmittelbehörden auf, das kontaminierte ukrainische Öl vom Markt zu nehmen. Im Juni

2008 wurde eine behördliche Obergrenze von 50 mg/kg für mineralische Paraffine in rohem wie in raffiniertem ukrainischem Sonnenblumenöl festgesetzt.

Der Fall des kontaminierten Sonnenblumenöls unterstreicht die Notwendigkeit einer zuverlässigen, empfindlichen und einfachen Methode für den Nachweis von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen in Pflanzenölen.

Prinzip

Gesättigte Kohlenwasserstoffe in einer Probe werden über eine Kieselgelsäulenchromatographie isoliert und mit einer Kapillar-Gas-Chromatographie unter Verwendung einer internen Standardmethode bestimmt.

Laborgeräte

- Erlermeyerkolben, 25 ml
- Teströhrchen mit Glasverschluss
- Glassäule für Flüssig-Chromatographie, Innendurchmesser 15-20 mm, Länge 30-40 cm, ausgestattet mit geeigneter

Paraffinölen mit Mineralöl

Paraffinölen mit GC

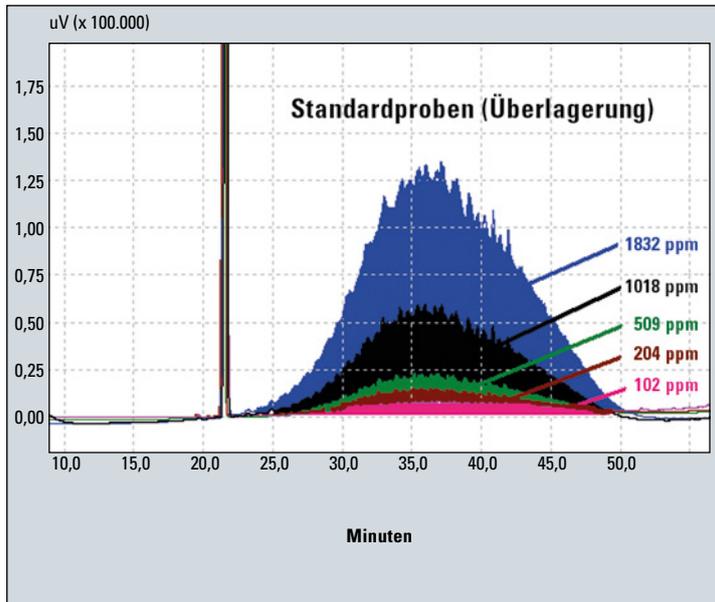


Abbildung 2: Chromatogramme von Standardproben (Datenvergleich)

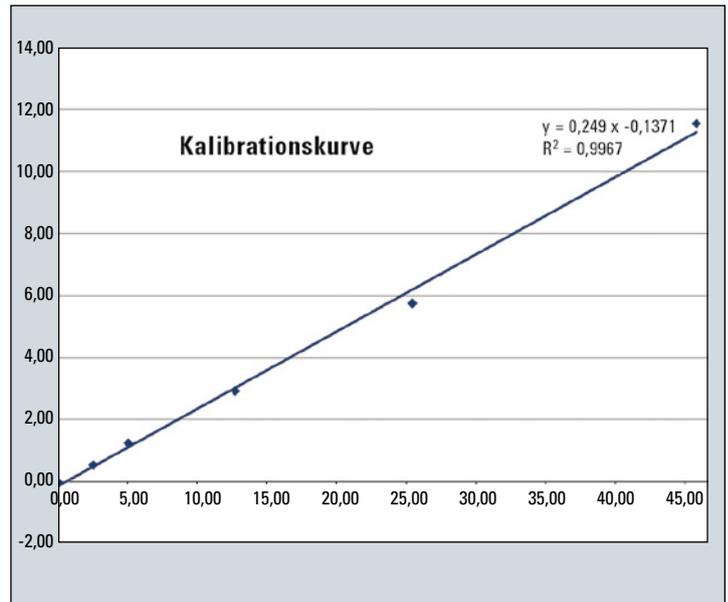


Abbildung 3: Konzentration in mg/kg

- Fritte und Absperrhahn (volumen-einstellbare automatische Pipetten etc.)
 - Mikrospritze zur „On-Column“-Injektion, 10 µl, mit gehärteter Nadel
 - Rotationsverdampfer
 - Analysenwaage mit einer Wägegenauigkeit im Bereich von 0,1 mg
 - Übliche Labor- und Glasgeräte
- Analysegeräte**
- Gas-Chromatograph Shimadzu GC-2010 Plus, OCI/PTV-2010-Injektor und FID-2010-Detektor
 - Kapillarsäule (MEGA1, 10 m,

- 0,25 mm ID, 0,1 µm Schichtdicke)
- Vorsäule 0,53 ID, 5 m, deaktiviert (MEGA-Retention gap, 0,53 ID)

- Paraffinöl, Merck, Produktnummer 1.07160 (für die Eichkurve)
- 0,2 g Paraffinöl wird in 100 ml Hexan verdünnt und damit 2.000 mg/l Standard erzeugt

Temperaturprogramm

- PTV: 65 °C (5 min), 30 °C/min bis 180 °C, 6 °C/min bis 350 und gehalten für 40 min
- Säulenofen: 65 °C (5 min), 5 °C/min bis 350 und gehalten für 10 min
- FID-Temperatur: 360 °C
- Gesamtfluss: 5,5 ml/min
- Trägergas: Helium

Verfahren - Proben-vorbehandlung

Zuerst werden 15 g des aufbereiteten Silicagels in n-Hexan-Überschuss suspendiert, beständig mit einem Glasstab gerührt und dies auf die Säule überführt. Die Abscheidung wird ermöglicht, wobei das Silica behutsam abgezogen wird, indem kleine Mengen n-Hexan durchgeleitet werden. Dies erzeugt eine homogenere Chromatographiebande. Danach wird 1 g der Probe in ein 4 ml-Fläschchen mit Schraubkappe überführt, 1 ml der internen Standardlösung hinzugegeben und gründlich durchmischt [2].

Reagenzien

- Silicagel: Silicagel 60, Merck extra rein zur Säulenchromatographie (Code 107754). Aktiviert bei 300 °C für 24 Std. und im Exsikkator auf Raumtemperatur heruntergekühlt.
- n-Hexan für die Chromatographie (Unisolv von Merck wird vorgeschlagen)
- Interner Standard, n-Eicosan 20 µg/ml, durch Verdünnung des Standards 2.000 µg/ml in Isooctan (Neochemia Cat. No 14700-0230)

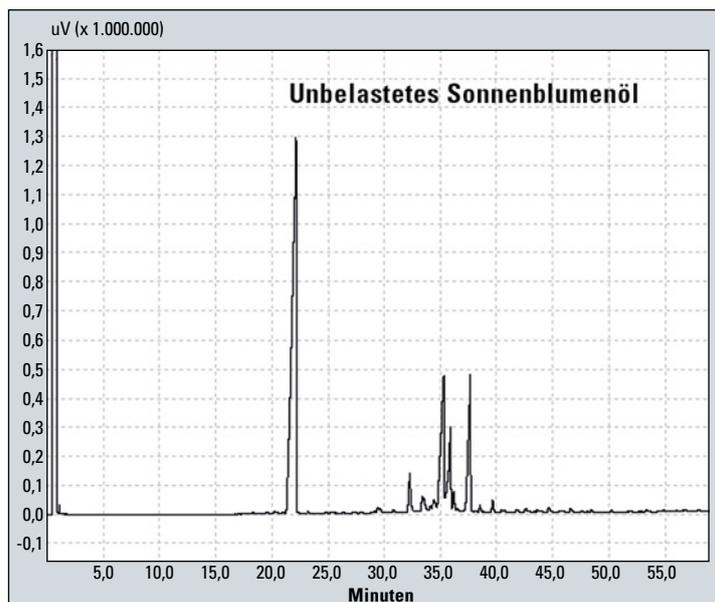


Abbildung 4: Chromatogramm einer unbelasteten Sonnenblumenölprobe

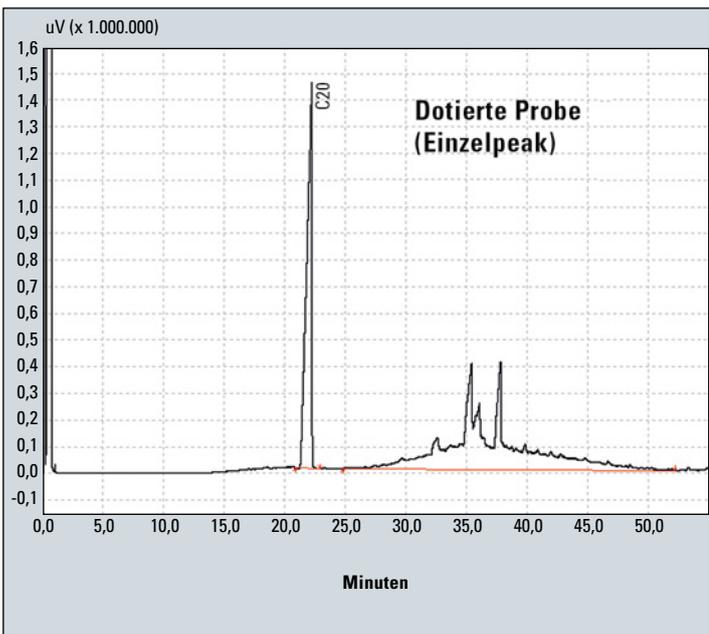


Abbildung 5: Chromatogramm einer dotierten Probe, integriert als Einzelpeak

Die Probenlösung sollte auf die Chromatographiesäule mit Hilfe von zwei Portionen à 1 ml n-Hexan überführt werden. Nach dem Probenauftrag auf das Silica werden die Mineralöl-Kohlenwasserstoffe mit 50 ml n-Hexan eluiert. Der Eluentenstrom sollte auf zehn Tropfen/15 sec eingestellt werden. Die resultierende Fraktion wird in einem 100 ml-Erlenmeyerkolben gesammelt und mit einem Rotationsverdampfer eingengt, bis das Volumen des Lösungsmittels etwa 1 ml erreicht hat. Der Rest des Lösungsmittels wird bis zur Trocknung mit einem Stickstoffstrom entfernt. Die isolierten Mineralöl-Kohlenwasserstoffe werden nach Zugabe von 500 µl Heptan in ein 2 ml-Autosampler-Fläschchen überführt.

Zuletzt werden 1 bis 4 µl der Lösung in den Chromatograph injiziert. Wie in Abbildung 1 gezeigt, erzeugen die Mineralöl-Kohlenwasserstoffe im GC an Stelle eines scharfgeformten einen breiten unaufgelösten Peak, oft als „Buckel“ [3,4,5,6] bezeichnet. Der Buckel und der ISTD-Peak werden für die Erzeugung der Eichkurve einbezogen (Abb. 3). Im Falle einer unbekannt Probe werden Buckel und Peaks als einheitliches Signal verbunden

(aufgelöste und unaufgelöste Peaks), wobei die manuelle Integrationsleiste des GCsolution-Programms zum Einsatz kommt (Integration siehe Abbildung 5).

Alle aufgelösten Peaks und der ISTD-Peak (oberhalb des Buckels) werden dann mit Hilfe eines geeigneten Tools im GCsolution-Programm integriert (Abb. 6). Mit Rechnerunterstützung wird die Buckelfläche (unaufgelöste Peaks) bestimmt, indem die Fläche der aufgelösten Peaks von der der aufgelösten und unaufgelösten Peaks subtrahiert wird.

Die Mineralöl-Konzentration wird nach folgender Gleichung berechnet:

$$c = \frac{m_{IS}}{m} \sum \frac{A_{paraf}}{A_{IS}} \frac{b}{a} \sum 1.000$$

Dabei ist:

- c = Mineralöl-Konzentration (mg/kg)
- m = Probengewicht (g)
- m_{IS} = Gewicht des internen Standards (mg)
- A_{paraf} = Mineralöl-Fläche
- A_{IS} = Fläche des internen Standards
- A = Steigung der Eichkurve
- b = y-Achsenabschnitt der Geraden

mg/Kg	RSD %	Unsicherheit % (k = 2)	Ausbeute
50	4	8	99 %
150	3	6	99 %

Tabelle 1: Validierungsdaten der Methode

Validierungsdaten

Zwei dotierte Proben mit Konzentrationen von 50 beziehungsweise 150 mg/kg wurden eingesetzt. Sechs Wiederholdurchgänge jeder Probe wurden durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt. Die gefundene Nachweisgrenze (LOD) betrug 10 mg/ kg, und die ermittelte Quantifizierungsgrenze (LOQ) lag bei 20 mg/ kg.

Schlussfolgerungen

Mineralöl-Kohlenwasserstoffe wurden durch die oben vorgestellte Methode erfolgreich bestimmt. Zum Einsatz kam ein Shimadzu GC-2010 Plus Gas-Chromatograph. Die Methode zeichnet sich durch gute Reproduzierbarkeit und Linearität aus.

Referenzen

- [1] JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) (1995) Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec_1655.htm

- [2] Official Method for stigmatadienes and waxes, Regulation EEC 2568/91
- [3] L. Karasek, T. Wenzl, F. Ulberth, EUR 23811 EN – Joint Research Centre – Institute for Reference Materials and Measurements, Proficiency test on the determination of mineral oil in sunflower oil
- [4] M. Biedermann, K. Grob, Eur. J. Lipid Sci. Technol. 111 (2009) 313-319, How "white" was the mineral oil in the contaminated Ukrainiansunflower oils?
- [5] D. Fiorini, A. Paciaroni, F. Gigli, R. Ballini, Food Control 21 (2010) 1155-1160, A versatile splitless injection GC-FID method for the determination of mineral oil paraffins in vegetable oils and dried fruit
- [6] K. Grob, M. Vass, M. Biedermann, H-P Neukom, Food Additives and Contaminants 18 (2001) 1-10, Contamination of animal feed and food from animal origin with mineral oil hydrocarbons

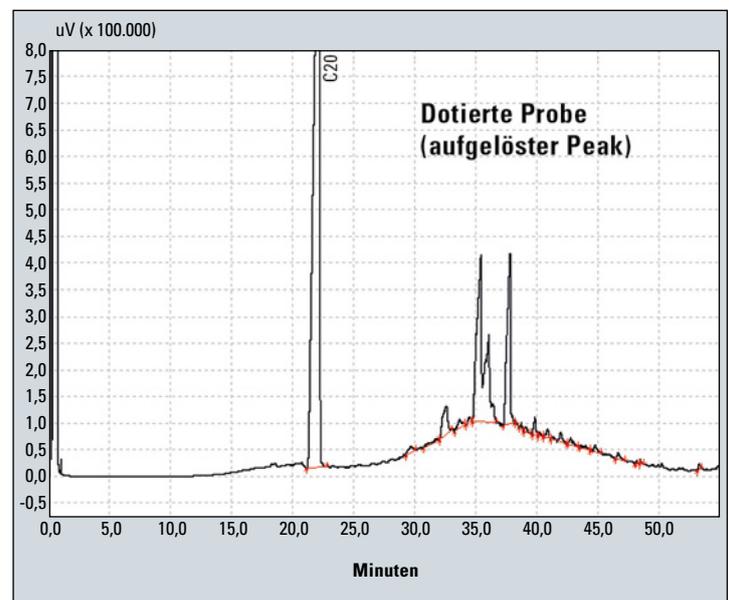


Abbildung 6: Peakintegration der dotierten Probe