

## **Der Albtraum der Dopingsünder**

Analyse von Dopingmitteln mit dem neuen LCMS-8050 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer

## **Inklusive Teil 3 des großen Frühstückstests**

## *i-series* – neue integrierte (U)HPLC-Systeme

*Nexera-i/Prominence-i* – hohe Geschwindigkeit, Leistung, Wartungsfreundlichkeit und Wirtschaftlichkeit

## Neu: ICPE-9800 Espresso im Bodensee

Fünf Beispielanwendungen zur Empfindlichkeit der simultanen Elementanalytik



APPLIKATION

Der Wald im Wandel – was passiert im Herbst? 2

Knack die Wurst – Der große Frühstückstest (Teil 3) 7

Partialoxidation von Isobutan – Neue Analysemethode mittels GC 8

Kunststoffe – Wassergehalt als Indikator für Alterungsprozesse 10

Der Albtraum der Dopingsünder – Analyse von Dopingmitteln mit dem neuen LCMS-8050 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer 12

Espresso im Bodensee – Fünf Beispielanwendungen zur Empfindlichkeit der simultanen Elementanalytik 15

Bilirubin-Bestimmung in Hirnflüssigkeit nach einer Subarachnoidalblutung – UV-Spektroskopie unterstützt schnelles Handeln 17

**Neu:** TOC-Applikationshandbuch, 2. Version 19

PRODUKTE

„What can *i* do for you?“ Die neue *i*-series – Nexera-*i* / Prominence-*i* – neue integrierte (U)HPLC-Systeme 4

AKTUELLES

Exakte Temperatursteuerung in Messzellen – Neues CPS-100-Zubehör für UV-VIS-Spektrophotometer 6

Dialog auf Augenhöhe – 6. TOC-Anwendertreffen 20

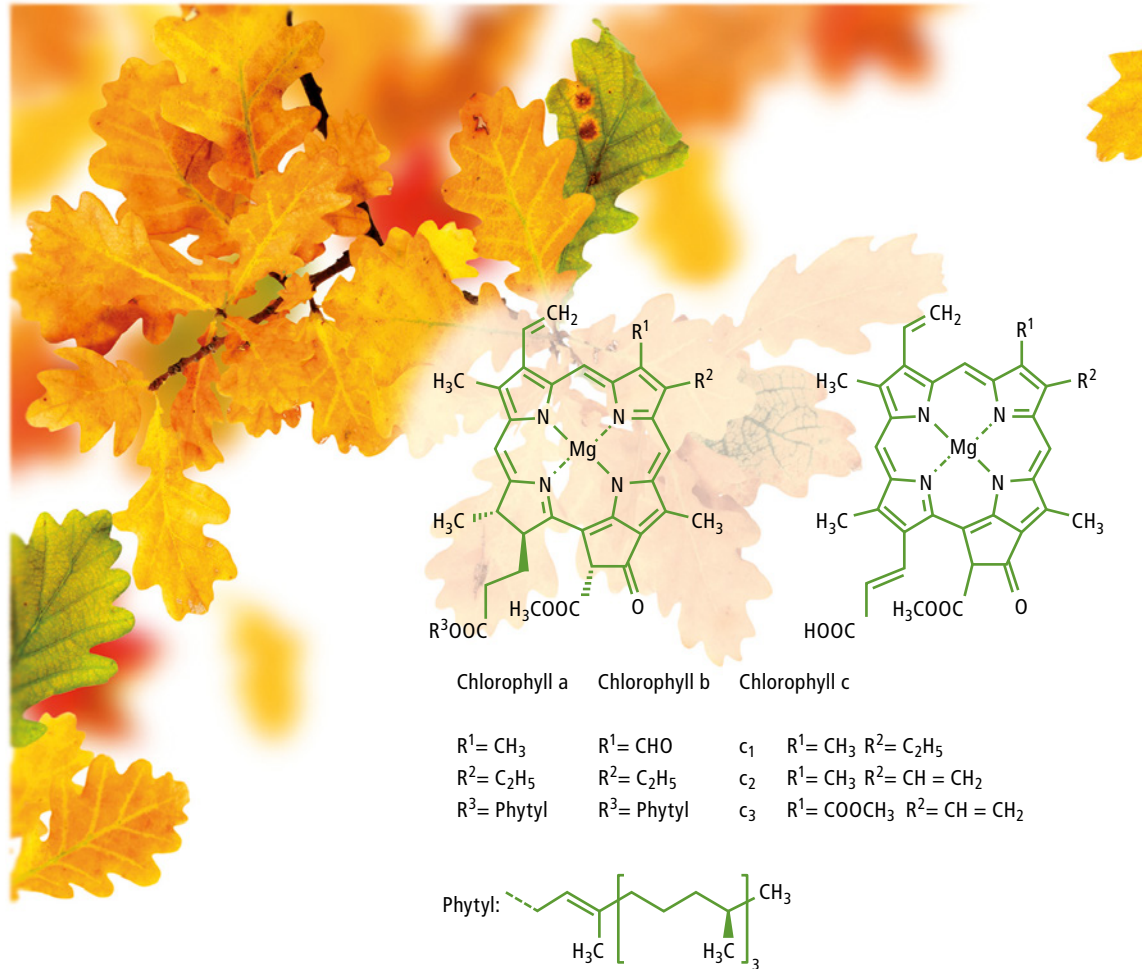


Abbildung 1: Aufbau des Chlorophylls und seiner Spezies [3]

# Der Wald im Wandel – was passiert im Herbst?

Im Herbst verlieren Blätter ihre grüne Färbung, auch bekannt als Seneszenz, wobei dies ein übergeordneter Begriff für die Alterung von Organismen ist. Die Vermutung liegt nahe, dass der Prozess mit dem in Pflanzen enthaltenem Chlorophyll zusammenhängt (siehe Infobox, Seite 3). Diese Zusammenhänge und Vorgänge sind wissenschaftlich gut untersucht und lassen sich wie folgt beschreiben:

Bei der Photosynthese wird die Energie in den Chlorophyllen erzeugt. Diese sind bei dem Prozess an Apoproteine gebunden, wodurch die Energie in den Stoffwechsel einfließen kann.

Mit zunehmender Alterung wird diese Komplexierung jedoch instabiler und die Proteine werden nach und nach abtransportiert. Würden sich die Chlorophylle auf diesem Zeitpunkt nicht ebenfalls zersetzen, müsste die weiterhin entstehende Energie in andere Prozesse fließen. In diesem Falle würden vorhandene Sauerstoffmoleküle die Energie aufnehmen. Dabei entsteht aus dem Sauerstoffmolekül im Grundzustand (O<sub>2</sub>) beziehungsweise Triplett-Sauerstoff (<sup>3</sup>O<sub>2</sub>) der aktivierte Singulett-Sauerstoff (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) [1]. Ein solches Sauerstoffmolekül ist sehr viel reaktiver und kann zur Zerstörung lebenswichtiger Organel-

len der Pflanze führen. Aus diesem Grund muss Chlorophyll nach Abspaltung vom Protein sehr schnell abgebaut werden, was mit der Farbänderung einhergeht. [2] Zusätzlich beinhaltet jedes Chlorophyll vier Stickstoffatome, welche für neue Prozesse in der Pflanze recycelt werden können.

**Vorgehensweise**

Zur genaueren Untersuchung der Seneszenz wurden Blätter einer Eiche (Quercus) bezüglich ihres Gehalts an Chlorophyll und darüber hinaus bezüglich seiner natürlich vorkommenden Spezies analysiert. Der direkte Vergleich von grünen und gelben, bereits



NEWS – Das Shimadzu Kundenmagazin gibt es auch als WebApp (für iOS und Android) unter: [www.shimadzu-webapp.eu](http://www.shimadzu-webapp.eu) oder als App fürs iPhone im AppStore.



verwelkten (seneszierten) Blättern ist dabei das Ziel der Untersuchung. Um die direkte Vergleichbarkeit von Proben mit verschiedenem Alterungsgrad sicherzustellen, wurde ein Baum im Herbst beprobt. Zu diesem Zeitpunkt trug der Baum grüne, als auch gelbe, bereits verwelkte Blätter.

Mittels Methanol wurden die im Blatt vorliegenden Chlorophylle extrahiert. Vorversuche zeigen, dass der Einfluss auf die verschiedenen Spezies dabei weitgehend ausgeschlossen werden kann.

Bei der Nachweisteknik wird nun üblicherweise die UV/VIS-Aktivität des Chlorophylls ausgenutzt. Die Spezies werden mittels HPLC getrennt und anschließend mittels DAD detektiert (Diodenarraydetektor). Doch bei diesem Verfahren müssten für eine sichere Analytik stets Referenzstandards eingesetzt werden, die lediglich für das Chlorophyll a und b verfügbar sind. Eine sichere Aussage über weitere Chlorophylle (vergleiche Abbildung 1) wäre so nicht möglich.

Daher wird ein anderer Lösungsansatz verwendet, der sich die besondere Struktur des Chlorophylls zunutze macht, denn jedes der Moleküle enthält als Zentralatom das Magnesium (vergleiche

Abbildung 1). Nach wie vor werden die Spezies mittels HPLC getrennt (*Prominence* Modular HPLC), jedoch anschließend deutlich spezifischer mit einer Flammen-AAS (AA-7000) nachgewiesen. Die Absorptionen (aus-

sprechend verdünnt, so dass die Probenmatrix und die Matrix der Standards vergleichbar sind. Der Wasseranteil des Mg-Standards bereitet aufgrund der hohen Verdünnung keine Probleme und kann vernachlässigt werden.

**»Chlorophyll und Photosynthese«**

Der Begriff Chlorophyll stammt aus dem Altgriechischen und bedeutet Blattgrün. Hieraus ist zu erkennen, dass Chlorophyll unter anderem für die Färbung des Blattes zuständig ist. Aber nicht nur Pflanzen enthalten Chlorophyll, sondern auch andere Organismen.

Chlorophylle werden zur Photosynthese benötigt. Hierbei wird aus Wasser und Kohlenstoffdioxid über einen photochemischen Prozess Glukose, Sauerstoff und Energie erzeugt. Dies ist allerdings nicht immer zutreffend. Die Produktion von Sauerstoff wird nur bei oxygenen Phototrophen gewährleistet. Bei der Photosynthese können aber auch andere Stoffe als Sauerstoff und Glukose entstehen. Diese Art der Photosynthese wird von anoxygenen Phototrophen durchgeführt. Dabei unterscheiden sich nicht nur die Produkte, sondern auch die beteiligten Chlorophylle.

gegeben als Stromstärke in  $\mu\text{A}$ ) können dabei über den Analogausgang des AA-7000 transient abgegriffen und abhängig von der Zeit aufgezeichnet werden.

Da die Chlorophylle in der Flamme verascht werden und das Magnesium letztlich atomar vorliegt, kann als Kalibrator ein gewöhnlicher Magnesium-Standard auf Wasserbasis eingesetzt werden. Dieser wird mittels Methanol ent-

**Ergebnis**

Bis auf ein Zwischenprodukt beim Chlorophyll-Abbau (das Chlorophyllide) enthält kein Abbauprodukt das gebundene Magnesium. Daher wurde die Messung der Seneszenz auf die Abnahme der Intensitäten von Chlorophyll a und b beschränkt.

Die Konzentration von Chlorophyll a nahm durch die Seneszenz um den Faktor 8,5 ab. Bei Chlorophyll b ist die Abnahme noch drastischer; so enthielt die Probe nur noch 6,1 % Chlorophyll b im Vergleich zu der Probe mit den nicht gewelkten Blättern. Vor der Seneszenz lag das Verhältnis zwischen Chlorophyll a und b bei 4,4:1. Das natürliche Verhältnis liegt bei 3:1; daraus ist ersichtlich, dass auch die grünen Blätter im Anfangsstadium der Seneszenz waren, was durch den Zeitpunkt der Probennahme (Herbst) bestätigt wird. Nach der Alterung stieg das Verhältnis auf 8,4:1. Folglich wurde Chlorophyll b schneller abgebaut als Chlorophyll a. Mit dem Abbau der Chlorophylle geht auch die Farbänderung einher. So kommen jetzt die in der Pflanze enthaltenen Stoffe wie z.B. Karotinoide (gelb/orange) und Tannine (braun) verstärkt zum Vorschein.

Die Fragestellung kann durch Verwendung der AA-7000 gekop-

pelt mit der *Prominence* Modular HPLC sehr gut bearbeitet werden. Vor allem die Möglichkeit, mit kostengünstigen Magnesiumstandards auf Wasserbasis zu kalibrieren anstelle mit teuren Chlorophyll-Standards, macht diese Kopplung äußerst lukrativ. Auch interessant ist die Möglichkeit, weitere Spezies und deren Abbau zu untersuchen. So kommt zum Beispiel das Chlorophyll c überwiegend in Algen vor. Algen altern zwar nicht abhängig von der Jahreszeit, sind aber zum Beispiel durch ökologische Veränderung in ihrer Lebenserwartung limitiert.

**Die Autoren:**

Florian Pahlke, Prof. Dr. Jürgen Schram, Labor für Element- und Speziesanalytik FB 01 Chemie, Hochschule Niederrhein

**Literatur**

- [1] T. Masuda und Y. Fujita, „Regulation and evolution of chlorophyll metabolism“, *Photochemical & Photobiological Sciences*, Bd. 7, Nr. 10, p. 1131, 2008.
- [2] S. Hörtensteiner, „The loss of green color during chlorophyll degradation – a prerequisite to prevent cell death?“, *Planta*, Bd. 219, Nr. 2, pp. 191-194, 2004.
- [3] Chlorophylle. In: Römpp Online. Georg Thieme Verlag, abgerufen am 19. Mai 2014.

Weitere Informationen zu diesem Beitrag:

- Application Note Analysis of Mg by HPLC FAAS (PDF)
  - Poster SEE in electronic waste (PDF)
- [www.shimadzu.eu/shimadzu-news-2014](http://www.shimadzu.eu/shimadzu-news-2014)

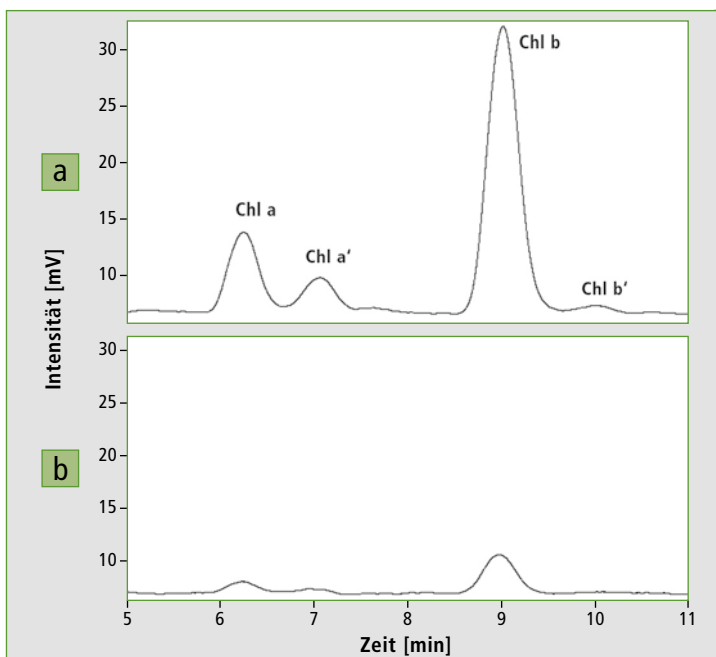


Abbildung 2: Bestimmung von Chlorophyll a und b im Extrakt von Eichenblättern mittels HPLC-F-AAS. a: Im Herbst noch grünes Eichenblatt, b: bereits verwelktes Eichenblatt.

# „What can *i* do for you?“

Die neue *i*-series – *Nexera-i* / *Prominence-i* – neue integrierte (U)HPLC-Systeme

Hohe Geschwindigkeit und Leistung, Wartungsfreundlichkeit und Wirtschaftlichkeit – die neue *i*-series mit den Kompaktvarianten *Prominence-i* (HPLC) und *Nexera-i* (UHPLC) bedienen die Anforderungen der großen wie kleinen Labore. Das *i* steht hierbei für Innovation, Intelligenz und intuitive Bedienmöglichkeiten, die die *i*-series kombiniert.

Die neue *Nexera-i* und die *Prominence-i* sind perfekt für Routineanalysen in Chemie und Pharmazie sowie in Lebensmittel- und Umweltindustrie. Die Systeme können mit einer Workstation zur Einzelbenutzung oder mit



Abbildung 1: Touchpanel der *i*-series

einem großen Client-Server-System zur Benutzung durch viele Anwender betrieben werden. Die kleine Grundfläche reduziert den Platzbedarf im Labor und vereinfacht eventuelle Standortwechsel.

Die Weiterentwicklung des Vorgängermodells LC-2010 zeichnet sich durch eine Verbesserung aller Komponenten aus (Degasser, quaternäre Pumpe, Probengeber, Ofen) und ermöglicht neben der optionalen Kühlung des Probengebers auch wahlweise die Konfiguration eines UV- oder PDA-Detektors. Weiterhin lässt sich mit der *Prominence-i* in einem Druckbereich bis zu 440 bar und mit der *Nexera-i* sogar bis 660 bar arbeiten.

## Innovation

Innovativ ist der ICM-Modus (Interactiv Communication Mode),



Abbildung 2: Positionierung des RID-20A auf der *i*-series

der optional das Editieren und Starten von Methoden und Sequenzen direkt vom Touchpanel (Abbildung 1) oder vom PC aus erlaubt. Zusätzlich lassen sich die Methoden oder Sequenzen vom Gerät zur Software und rückwärts synchronisieren.

Neuartig ist ebenfalls die exzellente Basisstabilität auch bei schwankenden Umgebungstemperaturen durch eine einzigartige zweifachtemperaturkontrollierte Detektoreinheit (Detektorzelle und Detektoroptik). Die Injektionsgeschwindigkeit von 14 Sekunden reduziert

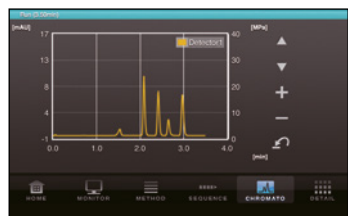


Abbildung 3: Chromatogramm auf dem Touchpanel

die Analysenzeiten, und die geringe Verschleppung erhöht die Genauigkeit der analytischen Ergebnisse.

Optional zu dem enthaltenden Absorptiondetektor (UV oder

PDA) lässt sich noch ein Fluoreszenz- oder Brechungsindex-Detektor und ein Lichtstreu-Detektor hinzufügen. Auch die Datenaufnahme von anderen Detektoren lässt sich über einen Analogeingang realisieren. Durch Kombination der *i*-series mit dem ebenfalls neuen Brechungsindex-Detektor RID-20A (Abbildung 2) lässt sich ein einfaches GPC-System mit minimaler Standfläche konfigurieren.

Weiterhin gibt es optional aktivierbare interaktive Kommunikations-



Abbildung 4: Autovalidierung

möglichkeiten, die die Fernüberwachung (remote monitoring) ermöglichen. So lässt sich der aktuelle Status des Geräts überprüfen oder die aktuelle Datenaufnahme beobachten. Das Farb-Touchpanel erlaubt neben der vollständigen Steuerung mit Methoden- und Batch-Erstellung auch das Visualisieren der aufgenommenen Chromatogramme (Abbildung 3).

## Intelligenz

Intelligenz verkörpert die *i*-series durch die einfache Methodenübertragbarkeit, wodurch zum Beispiel Methoden der älteren LC-2010 oder von Konkurrenz-Geräten ganz einfach adaptiert werden können. Zusätzlich lässt sich mit den kompakten HPLCs der *i*-series ein vollautomatischer Arbeitsablauf der Analysen durchführen. Eine Übersicht hierzu gibt Tabelle 1.

Die Auto-Validierungsfunktion (Abbildung 4) unterstützt den Anwender, eine Aussage darüber zu erhalten, ob das System in einem stabilen Bereich arbeitet. Hierbei wird eine festgelegte und somit zu jedem Zeitpunkt vergleichbare Prozedur benutzt, die unter anderem die Stabilität der Lösungsmittelförderung oder die Wellenlängengenauigkeit des Ab-

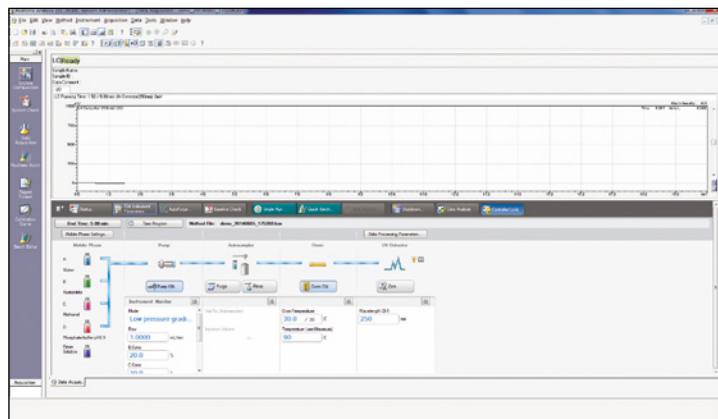


Abbildung 5: Neue Benutzeroberfläche für die LabSolutions Software

sorptionsdetektors prüft. Zusätzlich lässt sich über die „System check“ Funktion eine automatisierte Routine-Inspektion und Selbstdiagnose des Geräts durchführen. Hierbei werden die aufgenommenen Daten für die Benutzung der Verbrauchsmaterialien ausgelesen, wie zum Beispiel die Anzahl der Injektionen, Förder volumen oder die Brenndauer der Detektorlampe. Die Ergebnisse dieser beiden Statusberichte können über den Monitor des Geräts eingesehen oder über die Software ausgedruckt werden.

**Intuition**

Intuitiv ist das neue vereinheitlichte User-Interface der *i*-series und der neuen Version der LabSolutions Software. Hierfür lässt sich ein einfacher Vergleich

Arbeitsablauf für die Durchführung einer HPLC Analyse	Automatisierung	Erklärung
Anschalten des Systems	Auto start-up	Automatisches Starten des Systems durch Setzen einer Uhrzeit
Spülen der Flusslinien mit Eluenten vor der Analyse	Auto purge	Automatisches Spülen der Flusslinien mit Eluenten vor der Analyse
Säulen equilibrieren	Baseline check	Zeigt die Basislinienstabilität und bestimmt anhand der vorher festgelegten Kriterien für noise/drift, wann die Analyse gestartet werden kann
Starten der Analyse	Analysis starts	Analyse startet automatisch sobald die Kriterien des baseline check erfüllt sind
Probenmessungen	Direct Access Mechanism	Hinzufügen von Proben zu jeder Zeit während der laufenden Analyse
Ende der Analyse	E-Mail notification	Nach Ende der Analyse kann automatisch eine E-Mail an das Laborpersonal versendet werden
Abkühlen der Säule Pumpenfluss und Detektorlampe ausschalten Temperaturkontrolle des Säulenofens ausschalten Gerät ausschalten	Auto shut-down	Automatisches Abschalten des Gerätes in den Stand-by Modus mit Einsparen von 95 % des Energieverbrauchs. Vorheriges Spülen des Gerätes oder der Säule kann durchgeführt werden

Tabelle 1: Automatisierung des Arbeitsablaufs zur HPLC Analyse mit der *i*-series

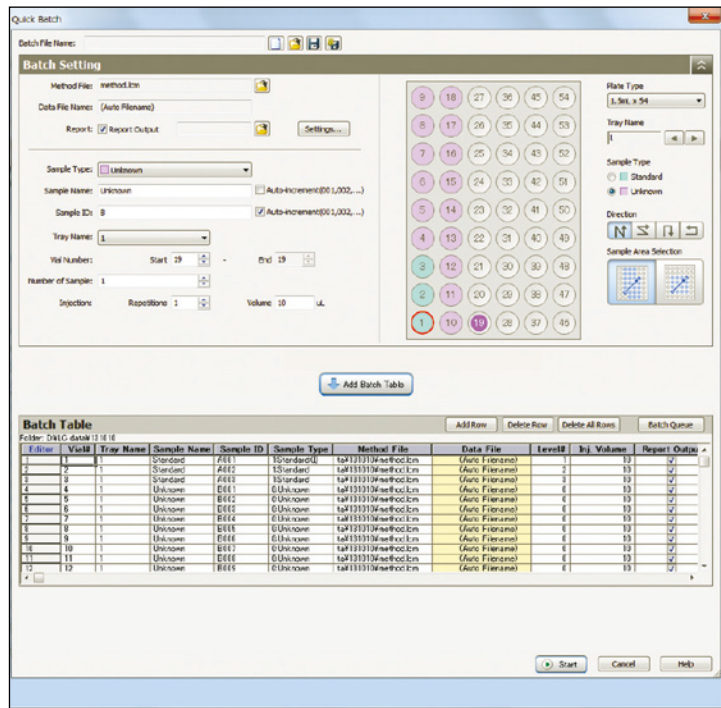


Abbildung 6: Quick-Batch-Funktion der LabSolutions Software

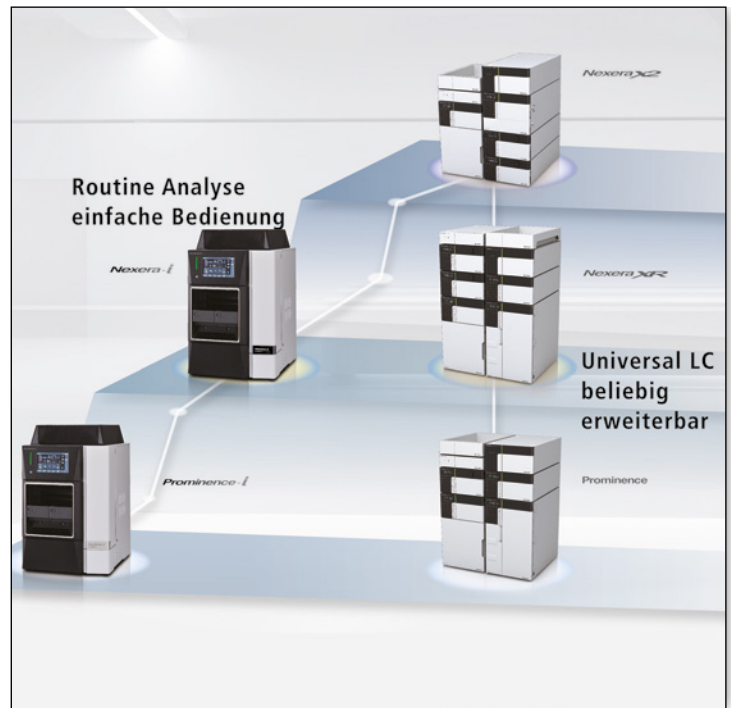


Abbildung 7: Produktlinien und Kategorisierung aller Shimadzu HPLCs

der beiden Abbildungen 1 und 5 heranziehen, worin die Flusslinie der *i*-series visualisiert wurde und somit eine intuitive Bedienung der Software durch einfaches Anwählen der verschiedenen Komponenten möglich wird.

Eine weitere Neuheit in der Software ist die „Quick Batch“ Funktion, mit der man sehr einfach und schnell eine komplette Probensequenz erstellen kann – durch Anwählen der Probenpositionen

auf dem dargestellten Probenrack (Abbildung 6).

Durch die Kombination der *i*-series mit LabSolutions und die Vereinheitlichung der graphischen Nutzeroberfläche des Systems und der Software ist eine intuitive Bedienung unabhängig vom Wissensstand der Benutzer möglich.

Das umfassende Shimadzu LC Produktportfolio bedient alle analytischen Anforderung, von der

konventionellen bis hin zur ultraschnellen Analyse. Neben den bereits bekannten modularen HPLCs/UHPLCs positionieren sich die Modelle der *i*-series wie in Abbildung 7 dargestellt.

**Weitere Informationen**

Mehr über die neue *i*-series auf [www.shimadzu.de/i-series](http://www.shimadzu.de/i-series)



# Exakte Temperatursteuerung in Messzellen

Neues CPS-100-Zubehör für UV-VIS-Spektrophotometer



Abbildung 1: UV-1800 mit der CPS-100

**D**urch das vielfältige Zubehör für UV-VIS-NIR-Spektrophotometer ermöglicht Shimadzu kundenspezifische Systemkonfigurationen – etwa für Anwendungen in Umwelt, Arzneimittel, Nahrungsmittel und Naturwissenschaften durch die große Auswahl von Zellenhaltern mit oder ohne Temperaturkontrolle.

Ob eine einzige Standardzelle bei Raumtemperatur zum Einsatz kommt oder ein Vielzellenhalter für einen hohen Probendurchsatz benötigt wird – die ideale Lösung für jegliches Analyseproblem ist immer verfügbar. Die jüngste Europapremiere ist der CPS-100, ein thermoelektrisch temperaturgesteuerter Sechsfach-Küvettenwechsler.

Mit einer Genauigkeit von  $\pm 0,1$  °C steuert der CPS-100 die Temperatur der Probenzellen im Bereich von 16 bis 60 °C.

In Verbindung mit einem Spektrophotometer, wie dem im Kinetik-Modus arbeitenden UV-1800, lässt sich das System so konfigurieren, dass die Enzymaktivität von bis zu sechs Proben unter konstanten Temperaturbedingungen gemessen wird (Abbildung 1). Das CPS-100 lässt sich auch mit den Spektrophotometern der Serien UVmini-1240 und UV-2600/UV-2700 nutzen sowie UV-3600.

Die UV-Bauserien sind äußerst vielseitig. Eine breite Zubehörauswahl wie Emissionsoptiken, Filmhalter mit Rotation, Probengefäße für Ulbrichtkugeln, verschiedene

Angebote an Ansaugsystemen oder Photomultiplier für den NIR-Bereich ermöglicht kundenspezifische Lösungen.

Zahlreiche Softwarelösungen ergänzen die Instrumente, etwa zur Bandlückenanalyse, zur Bilirubin-Bestimmung im CSF und zum Sonnenschutzfaktor in Sonnenschutzmilch, -cremes und -textilien.

# Knack die Wurst

## Der große Frühstückstest mit dem Texture Analyser EZ-Test-X (Teil 3)

**N**ahrungsmittel als Grundbedarf des menschlichen Lebens unterliegen ständigen Kontrollen, und die Shimadzu-News berichten regelmäßig über neue Analysemöglichkeiten.

Neben Geschmack und der Überprüfung der Inhaltsstoffe, stellt sich stets die Frage nach den physikalischen Eigenschaften unserer Nahrung: Wie schnell altert unser Brot? Wie knackig ist unsere Wurst? Welche Unterschiede weisen Eierschalen aus verschiedener Haltung aus...? Diesen Fragen gehen die Shimadzu-News in dieser und den letzten zwei Ausgaben nach – anhand eines gewöhnlichen, kontinentalen Frühstücks.

Wer sein kontinentales Frühstück mit Brot und Eiern erweitern möchte, der hat die Möglichkeit auf Würstchen zurückzugreifen. Je nach Geschmack und Region, können dies unterschiedliche Arten sein – zudem gebraten oder gebrüht. Unabhängig jedoch von der Herstellung und Zubereitung: von allen Würstchen wird erwartet, dass sie schön zart sind, dabei aber auch bissfest, denn neben dem intensiven Geschmack wünschen die Konsumenten auch ein entsprechendes Bissserlebnis.

### Geschmacks- und Bissserlebnis

Neben der Frage, welche Wurstsorte dieses Bissserlebnis am besten

bieten, stellt sich nachfolgend auch die Frage, ob es Unterschiede gibt zwischen industriell gefertigten und handwerklich hergestellten Würstchen. Um durch die Zubereitung beeinflusste Unterschiede zu vermeiden, wurden die Würstchen auch im Kaltzustand getestet.

Alle Versuche wurden mit dem Textur-Analysator EZ-Test-X durchgeführt. Da die Schnitt- und Bissfestigkeit proportional gleichzusetzen sind, wurden die Würstchen in einem Klingentestverfahren zerschnitten, um Unterschiede im Kauverhalten zu umgehen.

Wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, zeigen die Würste, die vorwiegend warm verzehrt werden (zum Beispiel Krakauer, Weißwurst) im ungekochten Zustand eine wesentlich höhere Schnittkraft als im gekochten Zustand. Dies darin begründet sein, dass die rohe Wurst wesentlich weicher in der Ausgangskonsistenz ist. Dadurch ist eine sehr viel höhere Kraft bis zum ersten Einschnitt erforderlich. Durch den Kochzustand dehnt sich die Wurstmasse aus und der Darm strafft sich.

Im Gegensatz hierzu zeigen sich bei den Wiener Würstchen zwar keine Unterschiede im ungekochten wie im gekochten Zustand, da sie sowohl zum Kalt- als auch zum Warmverzehr geeignet sind, allerdings ist hinsichtlich Schnitt-

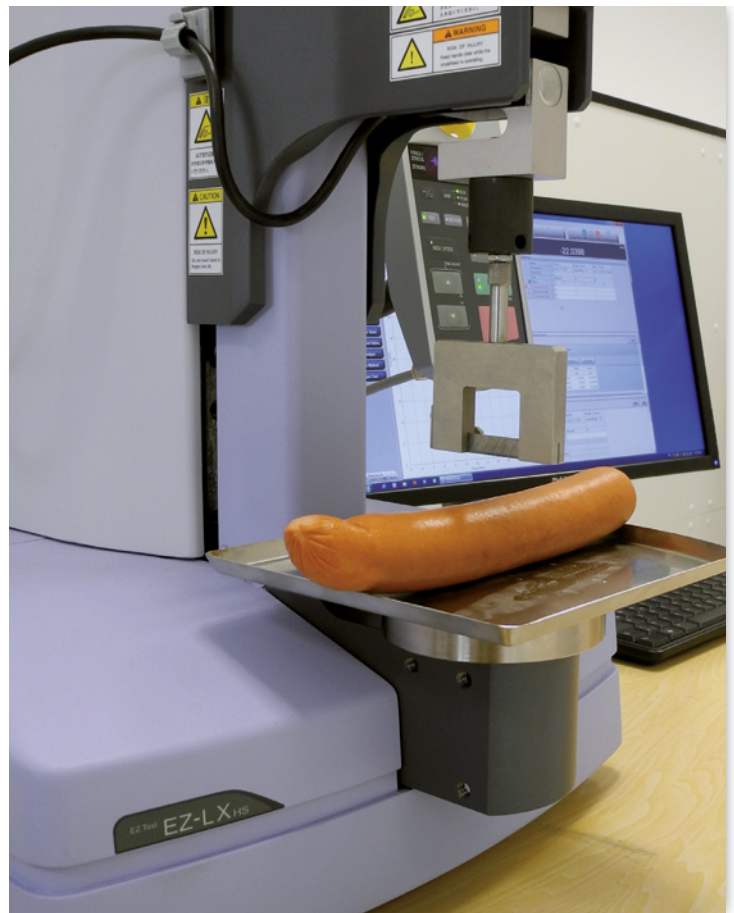


Abbildung 1: Test der Schnittfestigkeit mit dem EZ-Test-LX

kraft ein signifikanter Unterschied zwischen der Discounterware und Fleischerie bemerkbar.

Die Weißwürste und die Nürnberger Würstchen zeigen sich hingegen uneinheitlich. Während die Weißwurst im gekochten Zustand erheblich einfacher einzuschneiden ist als die Rohware, sind die Nürnberger Würstchen im gebratenen Zustand deutlich knackiger als die kalte Variante.

Teil 1: Auf die Pelle gerückt. Das Ei – hängen Haltungsart und Schalenhärte zusammen?

Teil 2: Brotzeit – Backwaren im Frischetest.

Weitere Informationen zu diesem Beitrag:  
• Frühstückstest komplett (PDF)



[www.shimadzu.eu/shimadzu-news-2014](http://www.shimadzu.eu/shimadzu-news-2014)

Wurstsorte	Discounter (A) – Fleischerei (B)	Schnittkraft [in N] roh	Schnittkraft [in N] gekocht/gebraten
Krakauer	A	87	49
	B	94	70
Mettenden	A	111	98
	B	91	84
Wiener	A	17	20
	B	42	44
Weißwurst	B	43	31
Nürnberger	B	13	27

Tabelle 1: Prüfergebnis des Schnitttests in der Übersicht

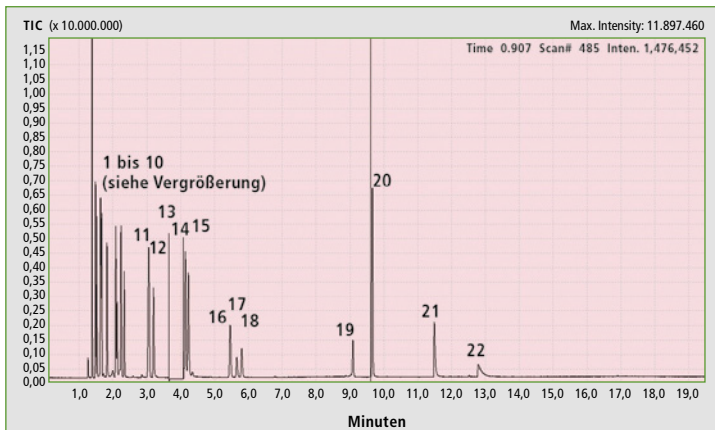


Abbildung 1: Chromatogramm aller getrennten Verbindungen in der Flüssigphase (Zuordnung der Peaks in Tabelle 2 – TIC = Total Ion Count)

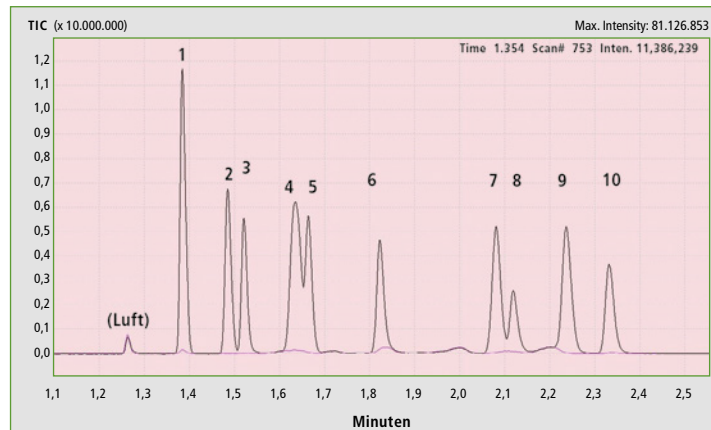


Abbildung 2: Vergrößerung des Bereichs von 1 bis 3 min von Abbildung 1 mit gleichzeitiger Darstellung des Chromatogramms des GC-reinen Toluols

# Partialoxidation von Isobutan

## Neue Analysemethode mittels GC

**P**eroxide (R1-O-O-R2) und Hydroperoxide (R1-O-OH) werden vermehrt in der Industrie und in der organischen Chemie als Oxidationsmittel verwendet. Hydroperoxide (ROOH) sind dabei die ersten, meist wenig stabilen Zwischenprodukte bei der Oxidation von Kohlenwasserstoffen (Allara et al. [1968]), wie sie auch auftreten, wenn Speiseöl ranzig wird.

Zu den stabilsten Vertretern dieser Klasse gehört das t-Butylhydroperoxid (TBHP). Aktuell wird daran geforscht, die Effizienz des industriellen Herstellungsprozesses auf der Basis von Isobutan zu verbessern, da dieser meist mehrere Produkte liefert, da auch die Zersetzung von TBHP eine Rolle spielt. Voraussetzung für eine Erhöhung der Effizienz ist daher eine umfas-

Zeit	Temperatur
0 min	80 °C
5 min	80 °C
16 min	190 °C
19 min	250 °C

Tabelle 1: Temperaturprogramm

sende Untersuchung des Prozesses und eine genaue Analyse des komplexen Reaktionsgemischs, die bisher meist vernachlässigt wurde.

### Gas-Chromatographie – die Methode der Wahl?

Lange Zeit wurden Hydroperoxide nicht mittels GC analysiert, da bekannt war, dass sie sich thermisch leicht zersetzen. Erst spät wurde klar, dass insbesondere tertiäre Verbindungen (R3C-OOH) relativ stabil sind. Die Partialoxidation von Isobutan wird meist bei etwa

130 °C durchgeführt. Um die Geschwindigkeit der Reaktion zu erhöhen, wäre es allerdings wünschenswert, diese bei höherer Temperatur durchzuführen. Allerdings nimmt mit steigender Temperatur auch die Zersetzung des TBHP zu und es entstehen neben gasförmigen Produkten Alkohole, Ketone und Aldehyde. Daher wurde nach einer Methode gesucht, das komplexe Gemisch zu trennen, das bei diesem Prozess auftritt. Dazu aber ist nur die GC in der Lage, und die Wahl fiel auf das GCMS-QP2010 Ultra von Shimadzu.

### Probenerstellung

Zur Methodenentwicklung wurden die potenziellen flüssigen und gasförmigen Produkte aus der Literatur ermittelt. Zunächst wurde ein Gemisch der ermittelten flüssigen

Produkte in Toluol erstellt. Außerdem sollte geklärt werden, welche weiteren Substanzen zur Herstellung der Analyseproben in Frage kommen. Daher wurden insbesondere potenzielle Lösungsmittel getestet, wie Hexan, Dekan, Ethanol, Toluol, Acetonitril und Dioxan, ebenso Substanzen, die als interner Standard oder Additive in Frage kommen, zum Beispiel t-Butylmethylether, Methylethylketon und n-Hexanol.

Die wichtigsten Reaktionsprodukte sind TBHP, t-Butanol, Aceton und Methanol; weitere Nebenprodukte können bei starker thermischer Zersetzung auftreten. Ein weiteres Problem ist dabei die Empfindlichkeit von Hydroperoxiden gegenüber Metallen (darunter auch Stahl), die die Zersetzung katalysieren.

Nr.	Substanz	Retentionszeit / min	Nr.	Substanz	Retentionszeit / min
1	Hexan	1,388	12	Acetonitril	3,201
2	t-Butylmethylether	1,488	13	Toluol	3,900
3	Acetaldehyd	1,519	14	Dioxan	4,146
4	Di-t-Butylperoxid	1,638	15	Isobutanol	4,231
5	Isobutylperoxid	1,664	16	Ethylbenzol	5,465
6	Azeton	1,825	17	p-Xylol	5,675
7	t-Butanol	2,083	18	o-Xylol	5,779
8	Methanol	2,121	19	t-Butylhydroperoxid	9,089
9	Methylethylketon	2,240	20	n-Hexanol	9,648
10	Ethanol	2,335	21	Essigsäure	11,404
11	Dekan	3,054	22	Ameisensäure	12,806

Tabelle 2: Retentionszeiten der getrennten Substanzen



Unter den gasförmigen Produkten sind insbesondere Isobutan, Isobuten, Sauerstoff, Stickstoff, Kohlendioxid, Kohlenmonoxid und Methan – sowie bei hoher Temperatur Propen – zu erwarten. Daher wurde zur Vorbereitung der Gasanalytik ein Kalibriergas mit diesen Gasen von Linde Engineering AG erworben. Somit wurde eine GC-Konfiguration benötigt, die die Analytik der Gasphase sowie der Flüssigprodukte ermöglicht.

**Applikation**

Das Problem konnte durch eine Säulenschaltung mit MDGC-Switching gelöst werden. Als Säule zur Trennung der polaren Substanzen wird zunächst eine RT Stabilwax-Säule verwendet (Länge 30 m, ID 0,25 mm, Schichtdicke 0,25 µm). Die Trennung und Detektion der Permanentgase erfolgt über eine Molekularsiebsäule (RT M-Sieve 5A 30 m, ID 0,53 mm, Schichtdicke 0,50 µm) mit angeschlossener Wärmeleitdetektor (WLD), die über den Switch an die Stabilwax-Säule angeschlossen ist. Nach etwa zwei Minuten schaltet der Switch vom WLD zum MS-System um. Die durch die Stabilwax-Säule retardierten Produkte werden dann nach Durchlaufen eines Restriktors (0,45 m, ID 0,15 mm) aus deaktiviertem Stahl (SilcoTek GmbH, Silcosteel) mittels eines Massenspektrometers detektiert. Die Restriktoren des Switches wurden ebenfalls aus Silcosteel gefertigt.

**Trennung des Gemischs**

**a) Flüssigphase**

Bei einer isothermen Phase von 40 °C über 5 Minuten mit anschließender Aufheizung bis 250 °C bei

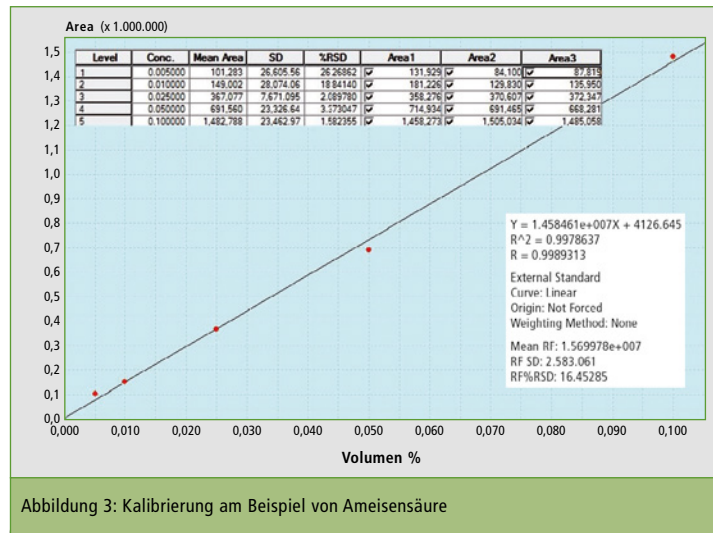


Abbildung 3: Kalibrierung am Beispiel von Ameisensäure

10 °C/min werden die Komponenten der flüssigen Proben nur unvollständig getrennt. Die Signale von t-Butanol und Methanol liegen direkt übereinander, obwohl sie bei der Headspace-Technik durch eine Retentionszeitdifferenz von etwa 0,2 Minuten getrennt waren. Im MS wird die Substanz des Peaks daher als 2-Pentanol identifiziert. Eine Trennung ist nicht möglich, da die Masse des Hauptpeaks des Methanols (m/z = 31) beiden Substanzen gemeinsam ist. Durch Erhöhung der Temperatur der isothermen Phase von 40 °C auf 80 °C (siehe Tabelle 1) gelang dann eine gute Trennung aller Substanzen.

Abbildung 1 zeigt das Chromatogramm einer solchen Trennung. Zwar sind Methanol und t-Butanol nicht basisliniengetrennt, aber über die Massenpeaks gelingt eine eindeutige Unterscheidung der Signale. Diese Temperatur ist für das TBHP noch nicht kritisch und wurde auch in der Vergangenheit

bereits verwendet (Abraham [1959]). Der Toluolpeak wurde bei der Messung durch Ausschalten des Filaments für den Bereich 3,8 - 4,0 Minuten ausgeblendet.

Abbildung 2 zeigt, dass das GC-reine Toluol (99,9 %, Signal ausgeblendet) neben den isomeren Xylenen noch weitere Substanzen enthält, die für die kleineren Signale im Bereich kleiner Retentionszeit verantwortlich sind. Das TBHP zeigt eine deutlich höhere Retentionszeit als sämtliche Alkohole mit einem kleineren oder vergleichbar großen Alkylrest. Bei der Kalibrierung von Ameisensäure (Abbildung 3) ist die Abhängigkeit bis 0,1 Vol-% linear.

**b) Gasphase**

Die über den WLD detektierten Permanentgase Stickstoff, Methan, Sauerstoff und Kohlenmonoxid liefern das Gas-Chromatogramm gemäß Abbildung 4. Die restlichen Gase werden durch die Stabilwax-Säule zurückgehalten und – neben

einem Rest Stickstoff – über das Massenspektrometer detektiert (Abbildung 5). Die Kalibrierung der Gase erfolgte mittels der in diesem Fall üblichen Einpunkt-Kalibrierung anhand des Mittelwerts dreier Reproduzierbarkeitsmessungen.

**Fazit**

Alle potenziellen flüssigen Reaktionsprodukte konnten erfolgreich getrennt werden, wobei durch die Säulenschaltung die Analyse der stark polaren flüssigen Produkte ermöglicht wird sowie der Gase. Die vorhandene Konfiguration erlaubt allerdings nicht die Auftrennung aller Gase, Propen wird nicht gefunden. Daran wird aktuell gearbeitet.

**Literatur**

- Abraham, M.H.; Davies, A.G.; Llewellyn, D.R.; Thain, E.M. The Chromatographic Analysis of organic Peroxides. *Anal. Chim. Acta.* 17 (1957), 499 - 502.
- Allara, D.L.; Edelson, D.; Irwin, K.C. Computational Modeling of the Mechanisms of the free radical-chain Reaction of Alkanes with Oxygen. The Oxidation of Isobutane, n-Butane, and Isopentane. *Int. J. Chem. Kin.* 4 (1972), 345 - 362.

**Dr. rer. nat. Thomas Willms**  
Helmholtz-Zentrum  
Dresden-Rossendorf  
Institut für Fluidodynamik

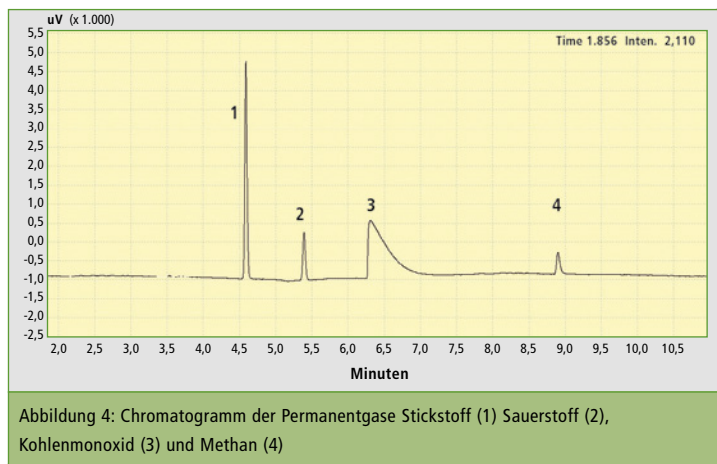


Abbildung 4: Chromatogramm der Permanentgase Stickstoff (1) Sauerstoff (2), Kohlenmonoxid (3) und Methan (4)

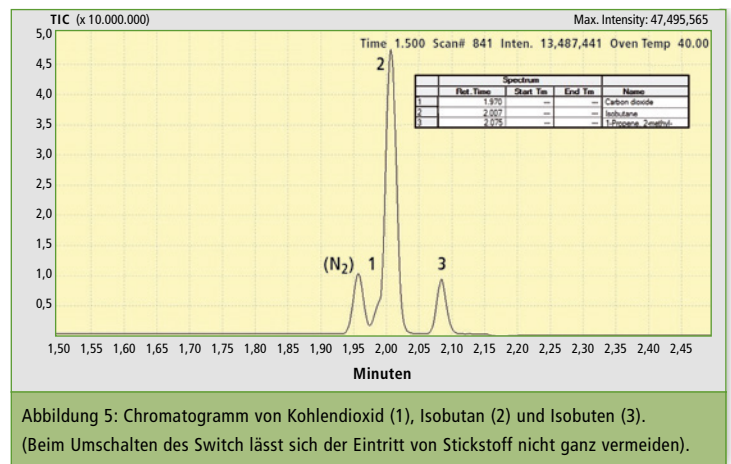


Abbildung 5: Chromatogramm von Kohlendioxid (1), Isobutan (2) und Isobuten (3). (Beim Umschalten des Switch lässt sich der Eintritt von Stickstoff nicht ganz vermeiden).

# Kunststoffe – Wassergehalt als Indikator für Alterungsprozesse

## Präzise Messungen mit FTIR-Mikroskopie



**6** Mrd. Tonnen Kunststoffe wurden weltweit in den letzten 50 Jahren hergestellt. Durch ihre vielseitigen Eigenschaften finden sie sich in nahezu allen Produkten wieder. In der Verpackungsindustrie wird fast ausschließlich auf Kunststoffe zurückgegriffen, da sie langlebig und persistent sind. Hier wird vor allem Polyethylen in den Varianten „low density“ und „high density“ (LD-PE, HD-PE) verwendet.

Als Verpackungsmaterial eingesetzt, sind die Kunststoffe in der Qualitätskontrolle vor allem auf ihren Gehalt von Wasser zu prüfen, da dieses Lösungsmittel potenziell Bestandteile des Produkts nach außen transportiert sowie Bestandteile der Umwelt nach innen. Außerdem kann der Wasseranteil Informationen über den Zustand des Polymers enthalten, weil bei lichtinduzierten Alterungsprozessen von Polyethylenen unter anderem Wasser entsteht [1]. Aufgrund von Kapillarkräften wandert es zwischen den Polymerketten, von der Oberfläche in

den Kern und bildet Wassercluster. Kommt es zu einem Schadensfall, könnte eine ortsaufgelöste Untersuchung von Wasser innerhalb des Verpackungsmaterials Indizien für potenzielle Ursachen bieten.

### Anwendung mittels FTIR-Spektroskopie

Alterungsprozesse von Kunststoffen können generell mit der Infrarotspektroskopie aufgrund der hohen Nachweisstärke der entstehenden Zersetzungsprodukte, wie Wasser, Aldehyde oder Carboxylgruppen, gut beobachtet werden [1].

Ein großer Vorteil dieser Analysenart ist ihre Zerstörungsfreiheit und ihr geringer Aufwand. Komplexe Probenvorbereitungsschritte sind in der Regel nicht erforderlich. Die benötigte hohe Ortsauflösung kann durch den Einsatz eines FTIR-Mikroskops erfolgen. Dadurch können selbst

kleinste Probenbestandteile präzise auf Schädigungen untersucht werden.

In der durchgeführten Analyse sind für dieses Verfahren „low density“ und „high density“ Polyethylen-Granulate verschiedener Alterungsstadien untersucht worden – von Neuware über Recyclingmaterial bis zu Kunststoffabfällen aus dem Meer.

Die Proben werden in einem ersten Schritt geteilt, sodass Oberfläche und Kern des jeweiligen Granulates zugänglich sind. Im Anschluss werden kleine Fasern von Außen- und Innenseite mit einem Skalpell abgetrennt. Diese können direkt unter dem FTIR-Mikroskop gemessen werden. Hierfür eignet sich besonders der Reflexionsmodus mit einem Spiegel als Auflagefläche. Für die Messung im Transmissionsmodus empfiehlt sich die Verwendung einer Diamantpresszelle. Dabei wird die abgetrennte Faser zu

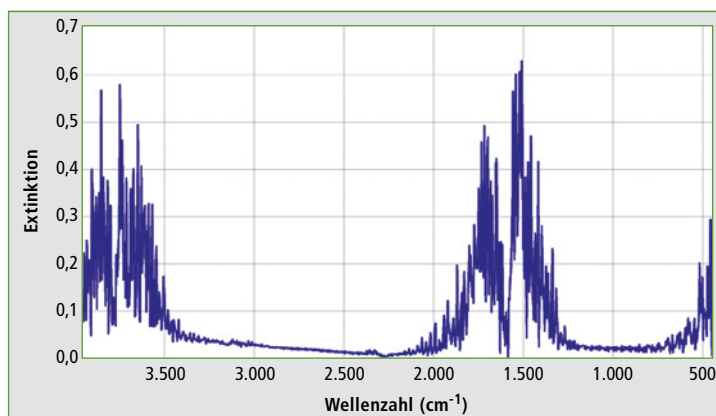


Abbildung 1: FTIR-Spektrum (Absorption) von Wasser. Typische breitbandige, feinaufgespaltene Absorptionsmuster in den Wellenzahlenbereichen von 4.100 - 3.500  $\text{cm}^{-1}$  und 2.000 - 1.200  $\text{cm}^{-1}$  [2][5].

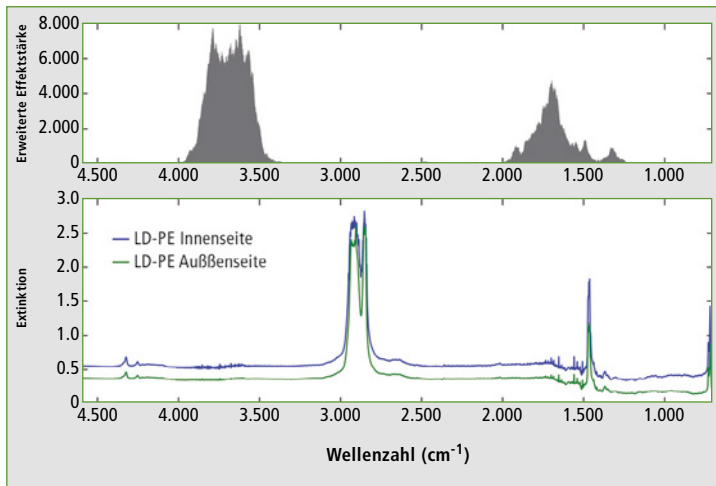


Abbildung 2: (Unten) Mittelwert FTIR-Spektren (Absorption) von LD-PE Granulat (Neuware) aus je fünf Messungen von Außen- und Innenseite im Vergleich. Die Innenseite zeigt eine erhöhte Grundabsorption und ein stärker ausgeprägtes Wasserabsorptionsmuster. Oben: Die erweiterte Effektstärke zeigt Bereiche im FTIR-Spektrum, welche sich signifikant und mit großer Differenz unterscheiden. Dabei sind deutlich die Bereiche der Wasserabsorption sichtbar.

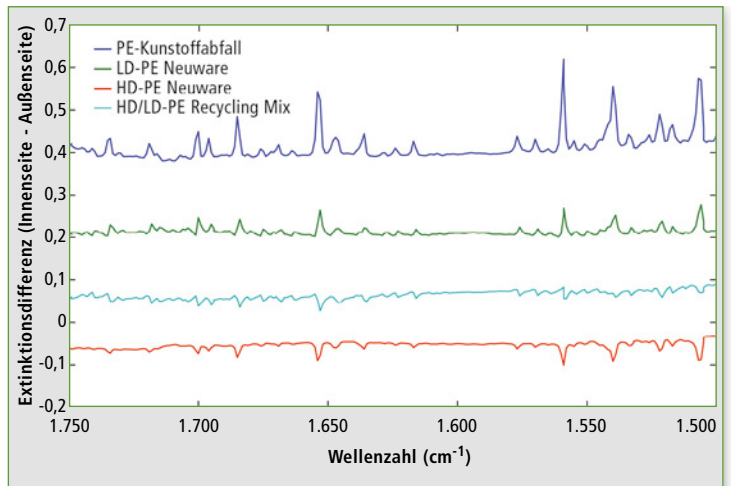


Abbildung 3: FTIR-Subtraktionsspektren (Absorption Innenseite – Außenseite) im Wellenzahlenbereich von 1.750 - 1.500  $\text{cm}^{-1}$  (Wasserabsorption) [2][5]. Der untersuchte Kunststoffabfall zeigt die stärkste Ausprägung der Wasserabsorption, was auf den quantitativ höchsten Wasseranteil schließen lässt. LD-PE zeigt einen leicht erhöhten Wasseranteil im Granulatinneren, während HD-PE sogar weniger Wasser im Kern aufweist. Die Recycling-Probe ist eine Mischung aus den beiden PE-Varianten und liegt zwischen LD-PE und HD-PE.

einem dünnen Film gepresst und kann ohne zusätzliche Auflageflächen gemessen werden.

### Auswertung der Spektren

Die Untersuchung von adsorbiertem Wasser in Polyethylenen mittels FTIR-Mikroskopie erfordert spezielle chemometrische Vorgehensweisen. Dies liegt unter anderem daran, dass im Hintergrundsignal (der Atmosphäre) Wasser in Form von Luftfeuchtigkeit enthalten ist. Außerdem adsorbiert Wasser bei Raumtemperatur an den Oberflächen des Messsystems. Diesen Effekten wird mit der Subtraktion des Hintergrundspektrums sowie mit empirischen Atmosphärenkorrekturen entgegengewirkt. Eine weitere Herausforderung liegt in den komplexen Schwingungsbanden von Wasser. Bei Raumtemperatur liegt es, bedingt durch die Van-der-Waals-Wechselwirkungen, in vielen verschiedenen Schwingungs- und Rotationszuständen vor. Dies bewirkt eine sehr breitbandige und fein aufgespaltene Absorption in den Wellenzahlenbereichen von 4.100 - 3.500  $\text{cm}^{-1}$  und 2.000 - 1.200  $\text{cm}^{-1}$  (Abbildung 1) [2].

In Kombination dieser beiden Effekte empfiehlt sich eine semi-quantitativ vergleichende Gegenüberstellung der Spektren. Bei dieser Methode wird zunächst die

zweite Ableitung der spektroskopischen Daten inklusive einer Savitzky-Golay-Glättung ermittelt. Dies korrigiert die Basislinie und ermöglicht dadurch eine bessere Vergleichbarkeit der einzelnen Proben [3]. Über herkömmliche statistische Methoden wie dem „zwei Stichproben t-Test“ und der „Effektstärke“ können im Anschluss die Bereiche des IR-Spektrums isoliert werden, welche signifikante Unterschiede zwischen Innen- und Außenseite der Probe zeigen (Abbildung 2). Dabei prüft die t-Statistik auf die Signifikanz eines Unterschieds zweier Mittelwerte, während die Effektstärke das Ausmaß des Unterschieds beschreibt [4].

### Ergebnisse und Ausblick

Mittels FTIR-Mikroskopie kann gezeigt werden, dass es bezüglich der Wassereinlagerung signifikante Unterschiede zwischen „low density“ und „high density“ Polyethylen gibt sowie zwischen Neuware bis Kunststoffabfall. In HD-PE finden sich wesentlich kleinere Wassercluster, was auf die erhöhte Kristallinität zurückgeführt werden kann. Es bestätigt sich aber auch die Theorie über den Alterungsprozess von Polyethylen, da in den deutlich gealterten Kunststoffabfällen vergleichsweise viel Wasser nachgewiesen werden kann. Ein Vergleich der Spektren

aller gemessenen Proben sowie einer vergleichenden Gegenüberstellung zeigt die Abb. 3. Die Proben sind mit dem Shimadzu FTIR-Mikroskop AIM-8800 gemessen worden.

Die vorgestellte Methode kann durch den Einsatz eines Mikrotoms für eine verbesserte Ortsauflösung und Reproduzierbarkeit erweitert werden. Zudem ist im Rahmen einer multivariaten Datenanalyse eine Kalibration des Wassergehalts denkbar.

### Die Autoren:

Gerrit Renner, Jürgen Schram  
 Fachbereich Chemie, Frankenring 20,  
 47798 Krefeld, Hochschule Niederrhein  
 Albert van Oyen  
 Research, Harderhook 20,  
 46395 Bocholt, CARAT GmbH

### Literatur

- [1] K. Jansen, Säureeinfluss auf die photochemische Alterung UV-stabilsierter Polyethylenfolien, (2003), 75-93
- [2] T. Bruno, P. Svoronos, Handbook of Basic Tables for Chemical Analysis, CRC, (2003), 351
- [3] B.C. Smith, Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy, CRC, (2011), 69-74
- [4] J. Cohen, Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences, LEA, (1988), 274
- [5] G. Socrates, Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies, WILEY, (2001), 26

## IMPRESSUM

Shimadzu NEWS, Kundenzeitschrift der Shimadzu Europa GmbH, Duisburg

### Herausgeber

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

### Redaktion

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

### Gestaltung und Produktion

m/e brand communication GmbH GWA  
 Düsseldorf

### Auflage

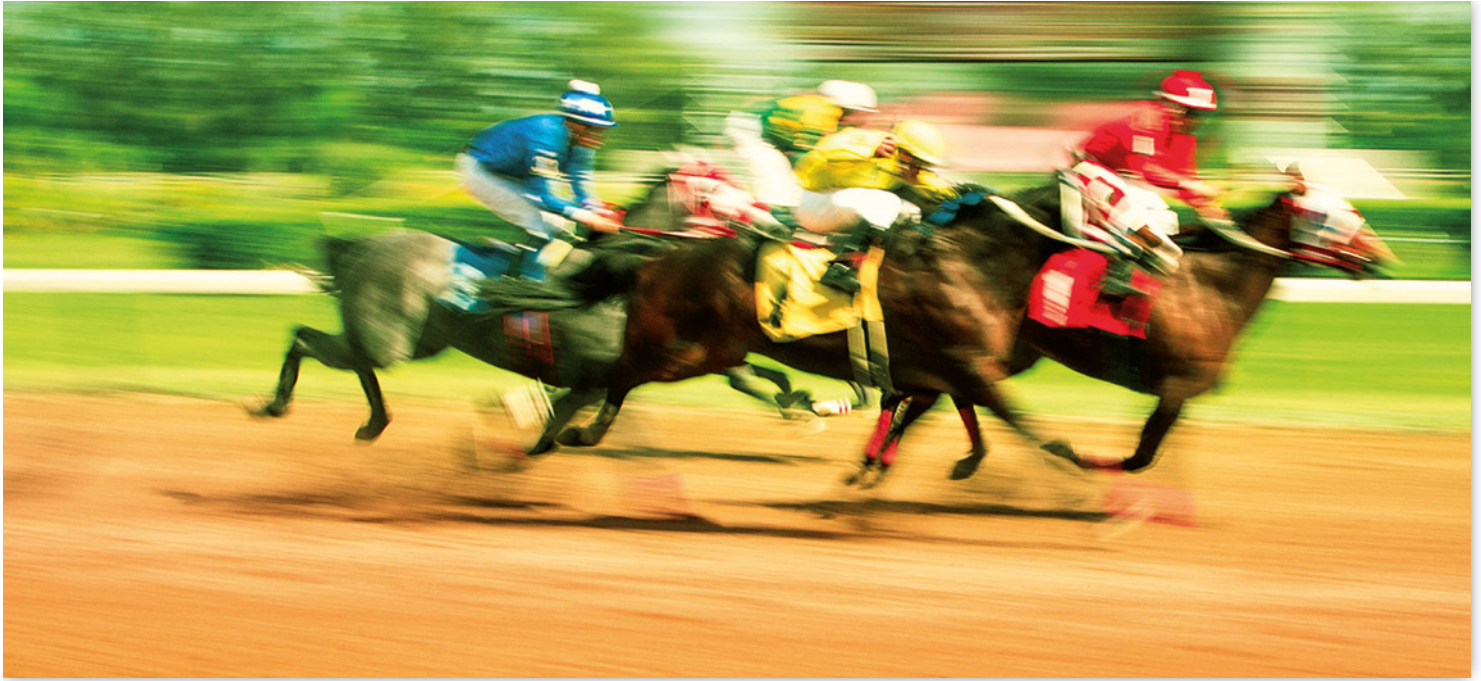
Deutsch: 5.200 · Englisch: 15.920

### © Copyright

Shimadzu Europa GmbH, Duisburg,  
 September 2014. Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit Genehmigung der Redaktion gestattet.

Windows ist Warenzeichen der Microsoft Corporation. ©2014 Apple Inc. Alle Rechte vorbehalten. Apple, das Apple Logo, Mac, Mac OS und Macintosh sind Warenzeichen von Apple.





# Der Albtraum der Dopingsünder

## Analyse von Dopingmitteln mit dem neuen LCMS-8050 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer

Immer schneller, höher, weiter – das Doping begleitet den Sport schon seit vielen Jahrhunderten. Schon bei den olympischen Spielen der Antike stärkten sich die Sportler mit pflanzlichen Spezialdiäten. Jenseits des Sports kauten die Inkas Kokablätter, um sich zu aktivieren, und die Chinesen

wurden Pferde in ihrer Leistung beeinflusst, wie aus einem öffentlichen Dekret einer englischen Kleinstadt hervorgeht. Allerdings hat man Pferde in dieser Zeit zum Beispiel mit Arsen vergiftet, um dann sein Wettgeld auf einen Konkurrenten zu setzen. Da man die illegalen Substanzen aber noch nicht nachweisen konnte, wurde erst 1812 ein Dopingfall entdeckt –

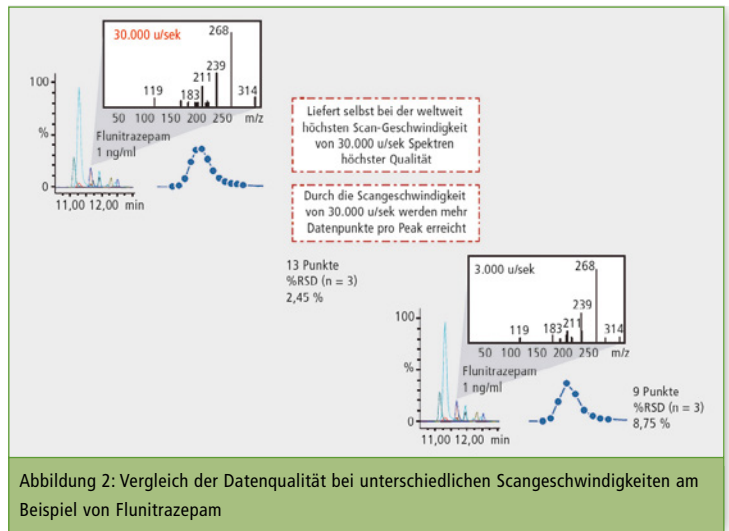


Abbildung 2: Vergleich der Datenqualität bei unterschiedlichen Scangeschwindigkeiten am Beispiel von Flunitrazepam



Abbildung 1: LCMS-8050

sen schworen auf das ephedrinhaltige Kraut Ma-Huang.

weil man den Täter auf frischer Tat erappte.

Mit der Entdeckung der leistungsfördernden Wirkung von Stierhoden begann die Frühform des Testosteron-Dopings. Selbst vor Tieren machte das Doping nicht Halt: Bereits Mitte des 17. Jahrhunderts

### Von der Nahrungsergänzung zum Doping

Im zweiten Weltkrieg lernten die Pharmazeuten, synthetische Abkömmlinge des Testosterons

künstlich herzustellen: anabole Steroide. Zunächst dienten sie dazu, entkräftete Kriegsgefangene zu ernähren. Bald entdeckten Sportler die Präparate, die fortan als „Frühstück für Champions“ galten – nicht nur für menschliche Champions. Das amerikanische Rennpferd Holloway gewann 1941 nach einer Testosteronkur ein Rennen nach dem anderen.

Auch heute kommt es trotz aller Kontrollen immer wieder zu Dopingzwischenfällen. Allein bei den Olympischen Spielen 2008 in Peking wurden gleich sechs Pferde positiv getestet. Ganz aktuell ist die jüngste Doping-Affäre im Distanzsport, eine Wettkampfvariante, die sich besonders im arabischen Raum großer Beliebtheit erfreut. Der Sieger des presti-

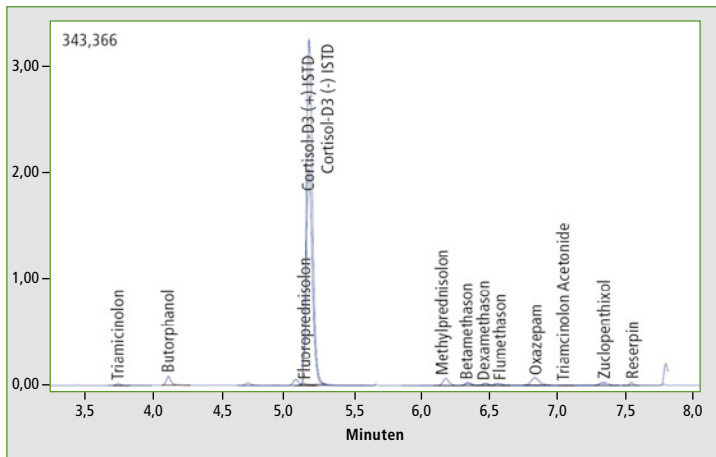


Abbildung 3: Chromatogramm Pferdeurinextrakt – 13 Events / 28 MRMs

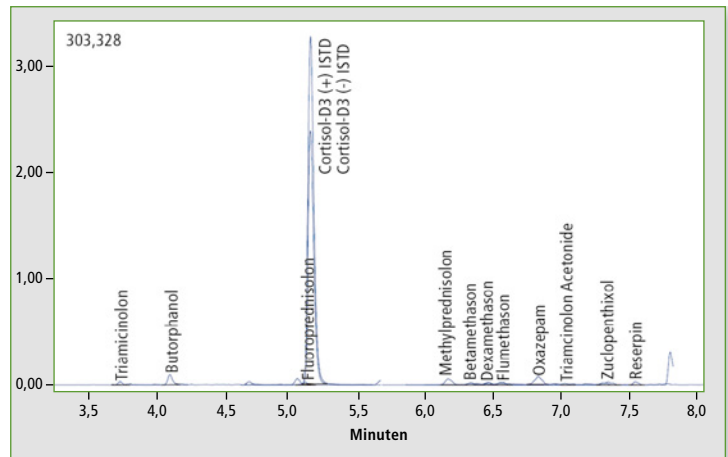


Abbildung 4: Chromatogramm Pferdeurinextrakt – 127 Events / 254 MRMs

geträchtigen UAE President's Cup, der im Frühjahr 2013 in Abu Dhabi stattfand, wurde für zwei Jahre gesperrt, da bei seinem Pferd ein dopingrelevantes Steroid nachgewiesen wurde. Allein rein rechnerisch erfolgte der Ritt durch die Wüste in einem für das Tier gesundheitsschädlichen Tempo.

Die zu Beginn des Jahres erfolgte Beschlagnehmung von über 120 verbotenen und illegal eingeführten Substanzen, darunter Anästhetika, Entzündungshemmer und Antibiotika, in einem englischen Vollblutgestüt verdeutlicht, dass nicht mehr das Wohlergehen und die Gesundheit der Pferde im Vordergrund stehen, sondern die Tiere zu Sportgeräten degradiert werden, die am Wettkampftag Höchstleistungen bringen müssen.

**Was ist Doping?**

Tierschutzorganisationen fordern schon seit Jahren ein konsequentes Vorgehen gegen das lange recht milde geahndete Doping im Pferdesport. In Deutschland gelten seit 2010 die FN-Anti-Doping- und Medikamentenkontroll-Regeln (ADM), die von der Deutschen Reiterlichen Vereinigung (FN) herausgegeben, den internationalen Regeln angepasst und ständig aktualisiert werden.

Über die regelmäßigen Kontrollen während der Turniere hinaus müssen sich die Bundeskaderreiter ab dem 01. April 2011 sogar auf Hausbesuche der Nationalen Anti-Doping-Agentur (NADA) einstellen. Diese Kontrollen bei Pferden außerhalb des Wettkampfs sind

weltweit einmalig und Neuland im Kampf gegen das Doping.

Unter Doping versteht man allgemein die Verwendung von Substanzen aus verbotenen Wirkstoffgruppen sowie die Anwendung verbotener Methoden zur Leistungssteigerung. Im Rennsport spricht man aber auch von Negativ-Doping, d.h. Doping auf Niederlage, oder von unerlaubter Medikation. Bei der unerlaubten Medikation wird als Ausgangspunkt eine Krankheit angenommen, folglich eine vorhandene Leistungsminderung. Das Pferd erhält z.B. zur Behandlung ein Schmerzmittel und kann damit wieder eine „normale“ Leistung erbringen. Es erfolgt wie beim Doping eine Leistungsbeeinflussung und ist im Wettkampf verboten.

Bei unerlaubter Medikation wird jedoch eine gute Absicht unterstellt, was sich in einem geringeren Strafmaß widerspiegelt. So breit gefächert wie die Einsatzmöglichkeiten, so vielfältig sind auch die eingesetzten Substanzklassen. Häufig verwendet werden Stimulantien wie Amphetamin, das die Pferde bis hin zur völligen Erschöpfung rennen lässt. Gegen Ermüdungserscheinungen wirken auch Methylxanthine, zu denen das Coffein gehört. Eine gegenteilige Wirkung wird durch Sedativa erreicht, um hypernervöse Pferde überhaupt startfähig zu machen. Zu den verbotenen Substanzen gehören außerdem die aus dem Human-Doping bekannten Steroidhormone wie Testosteron bzw. Peptidhormone wie EPO.

Während sich Ludger Beerbaum, einer der erfolgreichsten Springreiter der letzten 20 Jahre, noch 2009 gegenüber der Frankfurter Allgemeinen Sonntagszeitung über seine Vorgehensweise im Pferdesport in den vergangenen Jahren folgendermaßen äußerte: „Im Laufe der Jahre habe ich mich darin eingerichtet, auszuschöpfen, was geht ... In der Vergangenheit hatte ich die Haltung: Erlaubt ist, was nicht gefunden wird“ (zitiert nach Wikipedia, Spiegel Online), können heute selbst geringste Spuren von Dopingsubstanzen in Blut und Urin nachgewiesen werden. Prinzipiell gilt im Reitsport inzwischen die Null-Toleranz, das heißt zum Zeitpunkt des Wettkampfs darf keine verbotene Substanz in Blut oder Urin des Pferdes nachgewiesen werden.

**Modernste Analytik erweitert Nachweismöglichkeiten**

Damit sind die analytischen Möglichkeiten des untersuchenden Labors entscheidend für den Nachweis einer Substanz. Aufgrund optimierter Nachweismethoden und konsequent weiterentwickelter Gerätetechnik werden inzwischen Substanzen gefunden, deren Nachweis noch vor einigen Jahren nicht möglich war. Zusätzlich werden die Substanzen über einen viel längeren Zeitraum hinaus nachgewiesen. Oftmals überschreitet gar die Nachweiszeit die Wirkdauer einer Substanz.

In diesen Fällen wird eine Probe nur dann als positiv bewertet, wenn die nachgewiesene Menge noch wirksam ist. So wird Doping

zuweilen unbeabsichtigt und unfreiwillig zum Thema, wenn Karenzzeiten (Wartezeiten beziehungsweise Sperrfristen) nicht richtig eingehalten werden, zumal auch lokal angewendete Salben und Gele zu positiven Testergebnissen führen können.

Ganz aktuell ist die Vorstellung eines höchst empfindlichen LCMS-Geräts, das jüngste Mitglied der UFMS-Familie (Ultra-Fast-Mass-Spectrometry) von Shimadzu, ein Albtraum für alle Dopingsünder. Das Hochleistungs-Triple-Quadrupol-Massenspektrometer LCMS-8050 (Abbildung 1) hat die weltweit schnellsten Datenerfassungsraten und die qualitativ höchste Empfindlichkeit, die zeitgleich quantitative und qualitative Analysen ermöglicht. Dieses Gerät wurde speziell für die wachsenden Anforderungen bei der Quantifizierung im Spurenbereich in der klinischen Forschung, der Lebensmittelanalyse und der Umweltanalytik entwickelt.

Herausragende Empfindlichkeit gepaart mit Hochgeschwindigkeitsanalytik wird durch zwei verbesserte Techniken erreicht: Die neu konstruierte beheizte ESI-Quelle und die weiterentwickelte UFSweeper-III-Kollisionszelle mit effizienterer Fragmentierung. Um die Desolvatisierung zu steigern, verwendet die neu konzipierte ESI-Quelle ein Heizgas (heating gas) in Verbindung mit einem Zerstäubernebel. ♦

**Neue Techniken liefern erstklassige qualitative Daten**

Mit dem folgenden Applikationsbeispiel aus dem Pferdedoping werden die hervorragende Empfindlichkeit sowie der klare Vorteil einer ultraschnellen MS-Technik deutlich. Realproben aus einem Pferdedoping-Labor wurden auf verschiedene Steroidhormone, in Form freier Steroide oder Steroidester, sowie auf kleine Moleküle verbotener Neuroleptika, Benzodiazepine und Opioide untersucht.

Die Proben wurden mit dem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer LCMS-8050 gekoppelt mit einer Nexera X2 UHPLC von Shimadzu analysiert.

Ein herausragendes Merkmal des LCMS-8050 ist die ultraschnelle

Der Vergleich der Standardabweichungen (RSD) für Flunitrazepam berechnet für 3.000 u/sek und 30.000 u/sek, zeigen eindeutig den Vorteil der schnellen Datenaufnahme (Abbildung 2). Bei diesen extremen Scangeschwindigkeiten leiden oftmals Qualität sowie Empfindlichkeit der zugleich aufgenommenen qualitativen Daten, sofern das Gerät überhaupt eine gleichzeitige Aufnahme von MRM und Scandaten erlaubt. Die beiden Massenspektren des Flunitrazepams in Abbildung 2 belegen, dass das LCMS-8050 auch bei höchster Scangeschwindigkeit von 30.000 u/sek erstklassige qualitative Daten liefert.

**Hochwertige Daten ohne Empfindlichkeitsverlust**

Im folgenden Beispiel wurde der Extrakt eines Pferdeurins, gespikt

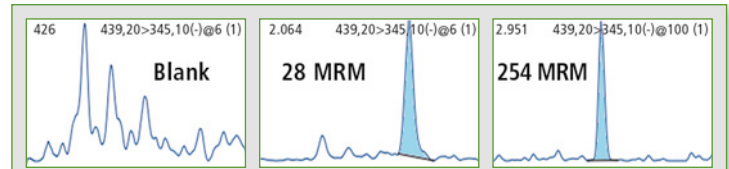


Abbildung 5: Detailausschnitt von Triamcinolone, Chromatogrammvergleich von 28 und 254 MRMs

und Abbildung 4 (254 MRMs). Auch die genauere Begutachtung eines weniger intensiven Peaks (hier: Triamcinolon) im Detail (Abbildung 5) belegt die gleichbleibend hohe Datenqualität trotz wesentlich höherer Anzahl von MRMs.

In weiteren Messungen wurde die Reproduzierbarkeit (als Maß für gute Datenqualität) bei gleichzeitigem Synchronized Survey Product Ion Scan einer Dopingstandardlö-

der Methode bestimmte Massen zu definieren, die einen Scan auslösen. In Tabelle 1 werden die Ergebnisse für Reproduzierbarkeitsmessungen (n = 6) gegenübergestellt – gemessen im MRM-Modus und ein zweites Mal gemessen im MRM-Modus mit einer Dwell Time von 5 msec. für alle Komponenten plus parallelem Synchronized Survey Product Ion Scan (Scangeschwindigkeit 30.000 u/sek). Die Konzentration des injizierten Standards ist äquivalent einer extrahierten Probe mit der Konzentration 2 pg/ml. Auch dieser Vergleich bestätigt, dass gleichzeitige Messungen von quantitativen (MRM) und qualitativen (Synchronized Survey Scan) Daten ohne nennenswerte Verluste in Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit möglich sind (Abbildung 6).

Regelmäßige Kontrollen mit modernen High-End-Analysengeräten wie dem LCMS-8050 machen den Dopingtätern im Pferdesport das Leben schwer, Aussagen wie „... erlaubt ist, was nicht gefunden wird“ gehören definitiv der Vergangenheit an und selbst die Hobbyreiter müssen vorsichtig sein, dass ihre Tiere nicht durch unbedachte Medikation plötzlich positiv getestet werden.

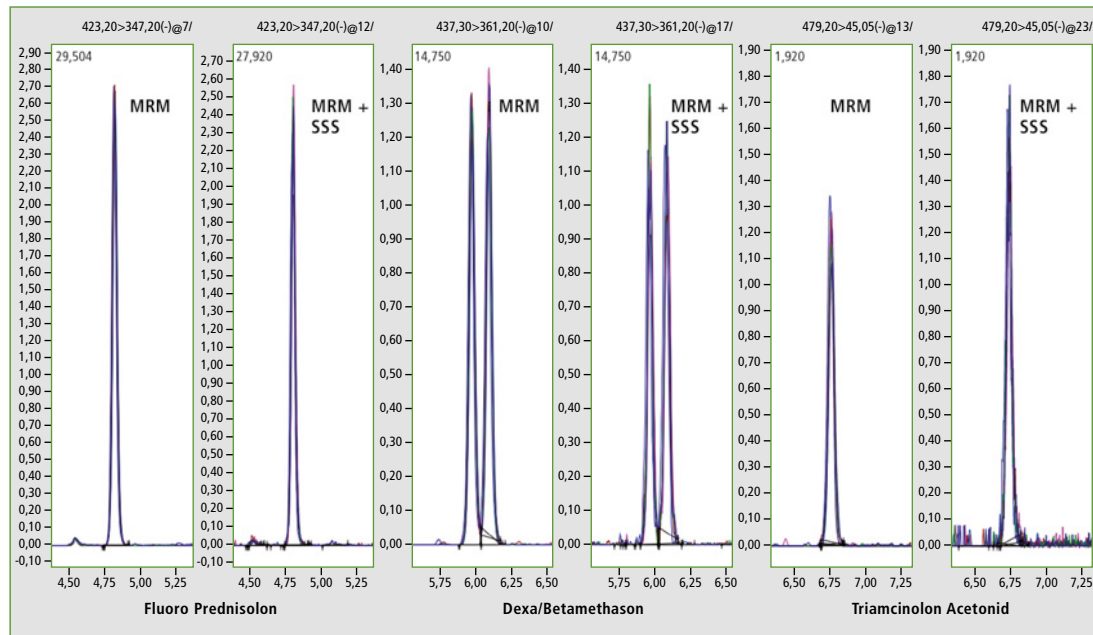


Abbildung 6: Reproduzierbarkeit (6 Injektionen) eines extrahierten Standards bei gleichzeitigem Survey Scan mit 30.000 u/sek

Scanrate, mit der MS-Daten aufgenommen werden können. In Abbildung 2 ist der klare Vorteil eines schnellen Analyseystems verdeutlicht. Mit einer Scangeschwindigkeit von 3.000 u/sek können über den markierten Peak nur neun Datenpunkte aufgenommen werden. Als Faustregel gilt, für eine gute Reproduzierbarkeit der qualitativen und quantitativen Ergebnisse sollten mindestens zehn Datenpunkte aufgenommen werden.

mit 1 pg/µl Standard untersucht – mit einer MS-Screening-Methode auf Dopingsubstanzen in der 254 MRMs hinterlegt sind. Durch die hohe Scangeschwindigkeit des LCMS-8050 ist es möglich, auch bei dieser großen Anzahl von MRMs, Daten in hervorragender Qualität und ohne Verluste in der Empfindlichkeit zu erhalten. Das zeigt deutlich der Vergleich der Chromatogramme, aufgenommen mit zwei verschiedenen Methoden, in Abbildung 3 (28 MRMs)

ung untersucht. Die LabSolution Software von Shimadzu erlaubt, parallel zu den MRM-Messungen einen Product Ion Scan durchzuführen. Dabei läuft der Scan nicht permanent im Hintergrund, sondern wird durch Ansteigen der im MRM hinterlegten Massen über einen bestimmten Schwellenwert ausgelöst.

Der Synchronized Survey Scan ist nicht nur auf die Produktionen beschränkt, es ist auch möglich, in

Weitere Informationen

zu diesem Beitrag:

- Analysis of doping agents using ultrafast LC-MS/MS with scheduled MRM
- Tabelle 1 (Verweis im Text, PDF)



[www.shimadzu.eu/shimadzu-news-2014](http://www.shimadzu.eu/shimadzu-news-2014)





Für Element-Messtechniken in der Instrumentellen Analytik ist Wasser das bekannteste Untersuchungsmedium.

Doch die modernen Gerätetypen wie das AA-7000 (Atomabsorptionsspektroskopie, AAS) oder das ICPE-9800 (optische Emissionsspektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma, ICP-OES) bieten deutlich mehr Einsatzmöglichkeiten.

Aber was ist alles möglich und welche Speziallösungen gibt es? Eine Antwort darauf liefert diese Applikationsübersicht des ICPE-9800, das für jede Anwendung gleichzeitig mehr als 70 Elemente innerhalb kürzester Zeit messen kann (simultane Elementanalytik). Aufgrund des großen dynamischen Messbereichs des ICPE-9800 ist es unerheblich, ob die zu untersuchenden Elemente im unteren ppb-Bereich ( $\mu\text{g/l}$ ) oder im hohen ppm-Bereich ( $\text{mg/l}$ ) vorliegen.

Als ein wahres Multitool bietet das ICPE-9800 flexible Gerätekonfigurationen. So lässt sich der Betrieb zwischen Hydridsystem und Ultraschallzerstäuber sowie den verschiedenen Probenotypen wie Wasser- und Organikproben nach Belieben wechseln.

#### Qualitätssicherung von Schwefelsäure für den Spezialeinsatz

Schwefelsäure ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) spielt bei den synthetisch hergestellten Chemikalien eine übergeordnete Rol-

# Espresso im Bodensee

## Fünf Beispielanwendungen zur Empfindlichkeit der simultanen Elementanalytik



ICPE-9800 – das Multitool

le. Ihr Anwendungsbereich ist weit gefächert und der Anspruch an eine hohe Reinheit ist nicht immer gegeben, wie zum Beispiel bei der Herstellung von Phosphat und Ammoniumsulfatdünger. [1]

Es gibt aber auch viele Spezialgebiete, die hochreine Schwefelsäure erfordern, etwa die Probenvorbereitung für die Instrumentelle Analytik. Hier wird die Säure zum Beispiel zum Probenaufschluss von Polymeren, Fetten oder einiger geologischer Proben wie Aluminiumoxid verwendet. [2]

Mit dem ICPE-9800 wurde eine Schwefelsäure-Probe in einer 1:10- und 1:20-Verdünnung gemessen. Durch die Standardadditions-Methode als Kalibriermodell lassen sich Matrixeffekte ausblen-

den. Sind die Ergebnisse beider Verdünnungsstufen vergleichbar, so ist von einer hohen Richtigkeit der Methode auszugehen. Um sie abschließend bewerten zu können, kann noch zertifiziertes Referenzmaterial gemessen werden. Die Ergebnisse (Auszug) befinden sich in Tabelle 1 und wurden je Element auf mehreren Analysenlinien ermittelt.

Obwohl die 10%-ige Schwefelsäure noch sehr aggressiv ist und sich in der Viskosität von Wasser unterscheidet, kann die Messung in der Standardkonfiguration durchgeführt werden (Minitorch). Neben den übereinstimmenden Ergebnissen der unterschiedlichen Verdünnungsstufen ist die Wiederfindung für Proben mit addiertem Standard ebenfalls sehr gut ( $100 \pm 3\%$ ).



#### Rapsöl für Biodiesel – Bestimmung von Phosphor, Natrium und Kalium

Pflanzenöle in Kraftstoffen tragen zum nachhaltigen Betrieb von Verbrennungsmotoren bei. Jedoch sollen Motorleistung und Wirksamkeit des Katalysators nicht beeinflusst werden, um letztendlich die Umweltfreundlichkeit von Biokraftstoffen zu gewährleisten. [3]

Die Bestimmung von Phosphor in Rapsöl ist daher essenziell, da dieses Element die Katalysatoren beeinträchtigt. Auch hohe Mengen an Calcium und Magnesium sind schädlich, denn mit beiden geht eine erhöhte Ascheablagerung im Rußpartikelfilter einher. [3]

Für die Messung mittels ICP-OES wird die Probe lediglich verdünnt. Der Einsatz von zusätzlichem Verbrennungsgas (Sauerstoff) ist in diesem Falle nicht notwendig. Trotzdem kann die hochempfindliche axiale Plasmabetrachtung verwendet werden. In Tabelle 2 sind Messergebnisse sowie Nachweisgrenzen gegenübergestellt. Bei der Wahl eines empfindlicheren Arbeitsbereichs können weitere ▶

	Verd.-faktor	Cadmium, Cd	Chrom, Cr	Kupfer, Cu	Magnesium, Mg	Nickel, Ni	Zink, Zn
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Probe A	20	n.d.	2,62 ppm	0,052 ppm	0,056 ppm	1,68 ppm	0,032 ppm
Wiederfindung		98 %	102 %	99 %	100 %	100 %	99 %
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Probe A	10	n.d.	2,62 ppm	0,073 ppm	0,038 ppm	1,79 ppm	0,033 ppm
Wiederfindung		97 %	97 %	99 %	98 %	98 %	97 %

Tabelle 1: Analysenergebnisse von Schwefelsäure. Zur Bestimmung der Wiederfindung wurden 0,5 mg/l (ppm) des Elements addiert (n.d. = nicht detektierbar).

sensitivere Wellenlängen hinzugezogen werden, wodurch die Nachweisgrenze weiter herabgesenkt wird. Die Stabilität der Messwerte liegt für die Probenergebnisse bei 100 ± 2 % (Messintervall 1h).



Die Ergebnisse zeigen, dass die Grenzwerte mittels ICPE-9800 äußerst zufriedenstellend erfasst werden können und der große Messbereich es ermöglicht, auch erhöhte Konzentrationen eindeutig und sicher zu ermitteln.

Anhand der Analysenergebnisse kann die Probe bewertet werden und ist eindeutig nicht für den Einsatz in Biokraftstoffen geeignet. Die deutlich erhöhten Gehalte der drei Elemente können z.B. an einem erhöhten Anteil an unreifer Saat liegen, die für die Produktion verwendet wurde. Weitere Einflussfaktoren sind die Schälung der Saat, Anteil an Bruchkorn als auch die Pressparameter wie z.B. die Presskopftemperatur [4].

Sollen mit dem ICPE-9800 andere Formen organischer Proben untersucht werden, wie z.B. aus der petrochemischen Industrie, empfiehlt sich die Verwendung des Ar/O<sub>2</sub>-Mixed-Gas-Supply-Kit.

In eine 4-Wege-Torch wird neben den üblichen Argon-Gasen zum Probenransport und Erhalt des

Plasmas ein weiteres Gas eingeleitet (Ar/O<sub>2</sub>-Mix). Es erhöht die Zersetzung der Matrix und vermindert dadurch das Untergrundrauschen.

Durch Verwendung dieser Gerätekonfiguration kann das Plasma trotz der kohlenstoffreichen Probenmatrix axial und radial beobachtet werden, und Nachweisgrenzen im unteren ppb-Bereich lassen sich realisieren. Zum Beispiel wurde für Zinn in Toluol eine Nachweisgrenze von 2,0 ppb erreicht. Weitere Probentypen für diese Gerätekonfiguration wären zum Beispiel Kerosin, Xylol, Methylisobutylketon (MIBK), Isopropylalkohol (IPA), Ethylalkohol oder auch das leicht flüchtige Tetrahydrofuran (THF).

#### Elementanalyse bei begrenztem Probenvolumen – 1 ml und weniger!

Die ICPE-9800 reduziert dank der Minitorch nicht nur den Argon-



verbrauch, sondern spart durch das intelligente Gerätedesign auch in weiteren Aspekten: Weil ein CCD-Chip durchgängig das gesamte Spektrum detektiert, ermittelt er auch die Informationen

über den Elementgehalt einer Probe deutlich schneller als die frühere, sequenzielle Technik.

Anders als die übliche Probenmenge von 5-10 ml, benötigt das ICPE-9800 je nach Applikation nur 1 ml Probenvolumen. So können kleinste Probenmengen untersucht werden, ohne diese zu verdünnen. Neben dem Effekt, Zeit einzusparen, entfällt durch die nicht notwendige Probenverdünnung die Gefahr von Kontaminationen und auch der Empfindlichkeitsverlust. Innerhalb kürzester Zeit sind aussagekräftige Ergebnisse einer Dreifachbestimmung inkl. axialer und radialer Plasma-beobachtung möglich.

Die Messung kleiner Probenmengen ist nicht nur bei limitierten Volumina sinnvoll. Sollen Testmedien größerer Volumina in der Veränderung der Elementgehalte über einen längeren Zeitraum bewertet werden, ist es auch hier ratsam, jeweils nur kleine Proben zu nehmen und das Testsystem nur möglichst gering zu beeinflussen.

#### Seltene Erden in Elektronikschrott – eine alternative Rohstoffquelle?

Welche Elemente sind eigentlich in Abfall enthalten? Diese Frage ist zentral in einer Welt mit begrenzten Rohstoffmengen und deren stetig steigendem Verbrauch. Engpässe bei der Versorgung mit Seltenen Erden sind nach wie vor Thema in den Medien.

Seltene Erden sind eine Gruppe von Elementen wie Neodym, Dysprosium oder Cer. Sie geben modernen elektronischen Bauteilen ihre besonderen Eigenschaften. Sie ermöglichen, Handys klein und kompakt zu bauen – und gleichzeitig leistungsstark. Aber auch im Tonnen-Maßstab werden diese Elemente eingesetzt, wie z.B. in den Generatoren von modernen Windkraftanlagen.

Bei limitierten Rohstoffquellen rücken Recyclingmöglichkeiten in den Fokus. Vor allem auch, weil die Förderung der Seltenerd-Oxide und die anschließende Aufreinigung zum reinen Metall einen großen Einsatz an Chemikalien erfordern. Die EU hat die Seltenen Erden bereits 2010 als Rohstoff mit hohem Versorgungsrisiko eingestuft. [5]



Ist das Recycling aus Elektronikschrott nun lohnenswert? Hierfür wurden diverse Elektronikbauteile in Labormühlen zerkleinert (homogenisiert) und dann mit einer Labormikrowelle aufgeschlossen. Die Aufschlusslösung kann mit dem ICP-OES gemessen werden und liefert die in Tabelle 3 (siehe S. 17) aufgeführten Ergebnisse.

Diese Untersuchung zeigt, dass die Analyse von Feststoffen mittels ICPE-9800 möglich ist und moderner Schrott Elemente enthält, die auf dem internationalen Rohstoffmarkt stark nachgefragt sind. Zwar enthält nicht jede Probe eine Vielzahl bzw. eine größere Menge an Seltenen Erden, doch nach einer selektiven Vorsortierung wäre das Recycling vor allem alter Mobiltelefone (>1g/kg Nd) durchaus denkbar.

#### Ultraspurenanalytik im ppt-Bereich?

Wenn man bei der Elementanalytik den ppb-Bereich [µg/l] zum ppt-Bereich [ng/l] hin verlässt, so werden die Fragestellungen oft

Element	Grenzwert nach DIN 51627-6	NWG* [mg/kg]	Probenergebnis* [mg/kg]
Phosphor	3,0 mg/kg	0,085 [177,499 nm]	13,6
Calcium	1,0 mg/kg	0,025 [183,801 nm]	17,4
Magnesium	1,0 mg/kg	0,005 [285,213 nm]	1,80

Tabelle 2: Ergebnisse der ICPE-9800 Analyse von Rapsöl sowie Nachweisgrenze und zulässige Höchstgehalte nach DIN 51627-6. \*Der Probenverdünnungsfaktor (6,6) ist berücksichtigt.



mit der ICP-MS beantwortet. Doch auch eine moderne ICP-OES wie das ICPE-9800 ermöglicht es, diesen Bereich abzudecken. So liegen die Nachweisgrenzen in der Standardkonfiguration mit Minitorch für mehr als 10 Elemente bereits im einstelligen bzw. zweistelligen ppt-Bereich (Ba, Be, Ca, Eu, Lu, Mg, Mn, Sc, Sr, Y, Yb). Möchte man weitere Elemente empfindlicher nachweisen, gibt es dafür verschiedene weitere Lösungsansätze.

Spezialzerstäuber, die das Proben-aerosol effizienter und reproduzierbarer mit kleinerer Tröpfchen-größenverteilung generieren, setzen die Nachweisgrenzen auf sehr einfachem Weg herab, ohne die Gerätekonfiguration deutlich zu verändern. Ein weiterer Zerstäuber, der mit dem ICPE-9800 verbunden werden kann, ist der Ultraschallzerstäuber und ermöglicht um bis zu Faktor 20 empfindlichere Messungen. Neben den oben genannten Elementen, die

bereits in der Standardkonfiguration im ppt-Bereich kalibriert werden können, kommen jetzt 27 weitere hinzu, mit Nachweisgrenzen im zweistelligen ppt-Bereich und besser (Ag, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Dy, Er, Fe, Gd, Hf, Ho, La, Li, Mo, Nb, Nd, Pd, Pr, Sm, Ta, Tb, Ti, V, Zn, Zr). Strontium ist dabei das nachweisstärkste Element von 1 ppt (parts per trillion) – das entspricht einer Tasse Espresso im Bodensee (Fläche = 536 km<sup>2</sup>).

Die für den Umweltbereich häufig gefragten Elemente wie Arsen und Quecksilber tauchen in den obigen Aufzählungen nicht auf. Aber auch für diese lässt sich eine Nachweisgrenze im ppt-Bereich erreichen. Hierbei nutzt man die Fä-

higkeit der Elemente aus, dass diese nach einer Umsetzung mit Natriumborhydrid (NaBH<sub>4</sub>) von der Flüssigphase in die Gasphase übergehen. Man leitet den Gasstrom nun anstelle des Aerosols in das Plasma ein, völlig abgetrennt von der Matrix. Auch Antimon, Selen und Zinn können zum Beispiel mit dieser Variante im ppt-Bereich nachgewiesen werden.

Demnach stellt die ICPE-9800 eine gute sowie kostengünstigere Alternative zur ICP-MS dar, Ultrasparen nachzuweisen.

**Literatur**

- [1] Schwefelsäure. In: Römpp Online. Georg Thieme Verlag, abgerufen am 09.05.2014.
- [2] Applikationsdatenbank CEM Corporation

Probe	Nd	La	Pr	Dy	Y	Er	Ce
Mobiltelefon	1.040	107	88	48	4,6	4,6	n.d.
LCD (Display)	33	51	n.d.	n.d.	7,8	n.d.	86
Leiterplatte	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,3	n.d.	32

Tabelle 3: Analysenergebnisse in mg/kg für Seltene Erden in Elektronikschrott (n.d.= nicht detektierbar)

- [3] Remmele, Die neue Norm für Rapsölkraftstoff DIN 51605, Technologie- und Förderzentrum TFZ, Straubingen, [www.duesse.de/znr/pdfs/2010/2010-11-25-biokraftstoffe-03.pdf](http://www.duesse.de/znr/pdfs/2010/2010-11-25-biokraftstoffe-03.pdf)
- [4] Qualitätssicherung bei der dezentralen Pflanzenölerzeugung, 12. Bericht aus dem TFZ, Straubingen [www.tfz.bayern.de/mam/cms08/biokraftstoffe/dateien/12\\_bericht.pdf](http://www.tfz.bayern.de/mam/cms08/biokraftstoffe/dateien/12_bericht.pdf)
- [5] Report of the Ad-hoc Working Group on defining critical raw materials: Critical raw materials for the EU, 2010 [http://ec.europa.eu/enterprise/policies/raw-materials/files/docs/report-b\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/enterprise/policies/raw-materials/files/docs/report-b_en.pdf)

Weitere Informationen zu diesem Beitrag:

- Application Note ICP-OES Spectroscopy (PDF)
  - Poster Rare Earth Elements in Electronic Waste (PDF)
- [www.shimadzu.eu/shimadzu-news-2014](http://www.shimadzu.eu/shimadzu-news-2014)



# Bilirubin-Bestimmung in Hirnflüssigkeit nach einer Subarachnoidalblutung

## Schlaganfall, Aneurysma – UV-Spektroskopie unterstützt schnelles Handeln

Die hier vorgestellte Anwendung der UV-Spektroskopie basiert auf den „National Guidelines for Analysis of Cerebrospinal Fluid for Bilirubin in suspected subarachnoid Haemorrhage“ nach Beetham [1]. Die Ursachen für die Hirnblutung können vielfältig sein, wie ein Schlaganfall oder ein Aneurysma.

Um richtige Maßnahmen zur Behandlung eines Patienten ergreifen zu können, ist es für den Arzt wichtig festzustellen, welche Art von Blut (alt, frisch oder keins) sich in der Hirnflüssigkeit befin-

det. Im Krankheitsfall dringen zunächst rote Blutzellen in die Hirnflüssigkeit ein. Diese Zellen unterliegen enzymatischen Vorgängen, so dass das Oxyhämoglobin der roten Zelle in Bilirubin umgewandelt wird. Neben Bilirubin kann auch Methämoglobin gebildet werden. Dieser Prozess ist zeitabhängig. Daher gibt die Konzentration an Bilirubin und das Vorhandensein der Oxidationsprodukte, wie Oxyhämoglobin, Aufschluss darüber, in welchem Zustand sich der Patient befindet; zudem kann man den Zeitraum des Vorgangs abschätzen. ▶

Die Subarachnoidalblutung ist ein krankhaftes Geschehen im Bereich des zentralen Nervensystems. Es ist dadurch gekennzeichnet, dass freies Blut in den mit Hirnflüssigkeit (Liquor cerebrospinalis) gefüllten Subarachnoidalraum gelangt. Die Subarachnoidalblutung ist für bis zu 10 Prozent der Schlaganfälle verantwortlich.

Ursache für diese spezielle Form des Schlaganfalles ist in den meisten Fällen das Platzen eines arteriellen Gefäßes aufgrund einer Missbildung. Die Subarachnoidalblutung geht mit plötzlichem schwerstem Kopfschmerz und Nackensteifheit einher. Sie kann zu kurzzeitigen Bewusstseinsstörungen, aber auch zu schwersten dauerhaften Gehirnfunktionsstörungen führen (zitiert nach Wikipedia).

Bilirubin-Bestimmung oder auch die CSF-Bilirubin ist eine Analytik aus dem klinischen Bereich. Bei dieser Analytik wird Hirnflüssigkeit auf Blutfragmente untersucht. CSF-Bilirubin = cerebrospinal fluid bilirubin.



Pigment	Absorptionsbereich
Oxyhämoglobin	zwischen 410 und 418 nm
Bilirubin	breite Bande von 450 bis 460 nm oder als Schulter in einem Oxyhämoglobin Signal
Methämoglobin	selteneres Pigment, wenn vorhanden dann als breiteres Signal zwischen 403 bis 410 nm

Tabelle 1: Auflistung der analytischen Wellenlängen für Hämoglobine

Basispunkt A = 350 - 400		Basispunkt B = 430 - 530	
365	0,0289	476	0,021
NBA bei 475 nm		Grenze	Beurteilung
0,00385714		< = 0,007	OK

Tabelle 2: Kalkulation des Netto Bilirubin-Gehalts NBA nach graphischer Auswertung

**Multikomponentenmessung erforderlich**

Die zuvor erwähnten Farbpigmente des Hämoglobins eignen sich für die spektroskopische Analyse im sichtbaren Bereich. Die quantitative, aber auch qualitative Bestimmung sowie die Darstellung der Farbe ist die Domäne der UV-VIS-Spektroskopie.

Mit der Gehirnflüssigkeit liegt eine Mischung vor, die nicht nur durch die Hämoglobine repräsentiert wird. Sie erfordert eine Multikomponentenmessung, weil sich alle Spektren der einzelnen Komponenten bei der Messung überlagern (Superposition). In diesem Fall wird keine gerade Basislinie gemessen, so wie man diese in der Flüssigkeitsanalytik erwartet, sondern eine steigende Basislinie in den UV-Bereich hinein. Dieser Effekt erscheint durch Substanzen, die auf die UV-Strahlung reagieren, wie Proteine oder andere hochenergetische Verbindungen

( $\pi$ -Elektronen) in Materialien, deren Spektren im Anschluss an die Hämoglobin-Spektren zu erwarten sind.

Diese fliehende Basislinie ist eine Herausforderung für die automatisierte Analyse von kleinsten Maxima oder Schultern in einer Signalstruktur. In der Analytik werden diverse Methoden eingesetzt, um diese Pigmente aufzutrennen (HPLC) oder es werden grobe Schnelltests durchgeführt. Mit den Gitter-Spektrometern kann man ein schnelles Screening der Hämoglobine durchführen.

**Definierte Messmethode**

Nach Beetham ist die Messprozedur festgelegt, wonach in dem sichtbaren Bereich von 350 bis 600 nm gemessen werden soll. Die analytischen Wellenlängen für die Hämoglobin-Farbpigmente sind in Tabelle 1 aufgelistet. Die Methode verlangt korrigierte Signalhöhen, was durch die Basislinie/Tan-

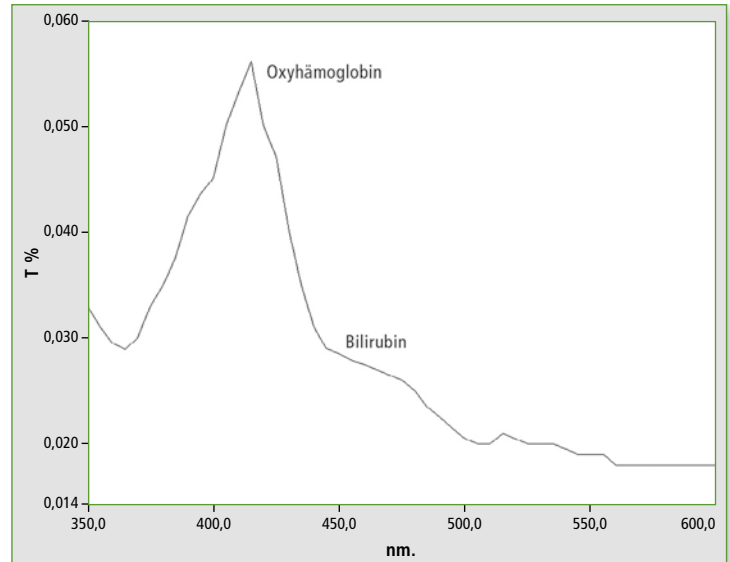


Abbildung 1: Darstellung eines UV-VIS-Absorptionsspektrums einer Bilirubin-Probe, die einen Anteil an Oxyhämoglobin bei 415 nm aufweist und eine Bilirubin-Schulter bei 450 bis 460 nm, aufgenommen mit der UVProbe Software

gente unter den Signalen/Banden realisiert wird. Netto-Bilirubin-Absorption wird an der festen Wellenlänge 476 nm bestimmt.

Beetham gibt die Auswertung der Spektren vor. Eine Angabe ist, dass die Basislinie unter dem Signal niemals das Signal kreuzen darf. Diese strikte Anweisung führt dazu, dass automatisiertes Auswerten nicht zum richtigen Ergebnis führen kann. Es ist eine manuelle Auswertung gefragt, mit der man die Basispunkte unter einem Signal konkret fixieren/korrigieren kann.

Um diese Aufgabenstellung zu lösen, wurde ein Excel-Blatt entwickelt, in dem gemessen, das Spektrum dargestellt und manuell die Basislinie verschoben werden kann. Im Auswertebereich werden alle benötigten Werte der Probe wiedergegeben.

Abbildung 2 zeigt die Sicht des Spektrums aus dem Excel-Blatt. Die Auswertung ist in Tabelle 2 zu finden.

Für die Analyse wurde das Shimadzu UV-1800 Spektralphotometer eingesetzt. Das Spektrum wurde in dem Bereich von 350 bis 600 nm gemessen. Die Probe wurde mit einer 1-cm-Küvette gemessen. Der Grenzwert von 0,007-Abs-Einheiten wurde in diesem Beispiel unterschritten.

**Zusammenfassung**

Mit dem Einsatz einer Excel-Methode kann die Kalkulation des Netto-Bilirubin-Anteils einfach bestimmt werden. Der Einsatz eines Makros macht es einfach, die Bestimmung an lokale Gegebenheiten anzupassen, womit unterschiedliche Ausgabeformate und Anpassung an individuelle Formulare gemeint sind. Andererseits ist es einfach, das Makro um andere Applikationen zu erweitern. Die direkte Instrumentensteuerung des UV-1800 bringt die Daten direkt in die Auswertung. Es können aber auch Ergebnisse aus der UVProbe Software eingelesen werden, die automatisch mit dem UV-1800 geliefert wird.

**Literatur**

- [1] „National Guidelines for Analysis of Cerebrospinal fluid for Bilirubin in Suspected Subarachnoid Haemorrhage“, Draft 1; R. Beetham, M.N. Fahie-Wilson, I. Holbrook, I.D. Watson, P.R. Wenham, P.A.E. White, P. Thomas, A.M. Ward, A. Cruickshank, G. Keir, W. Egner, K. Allen

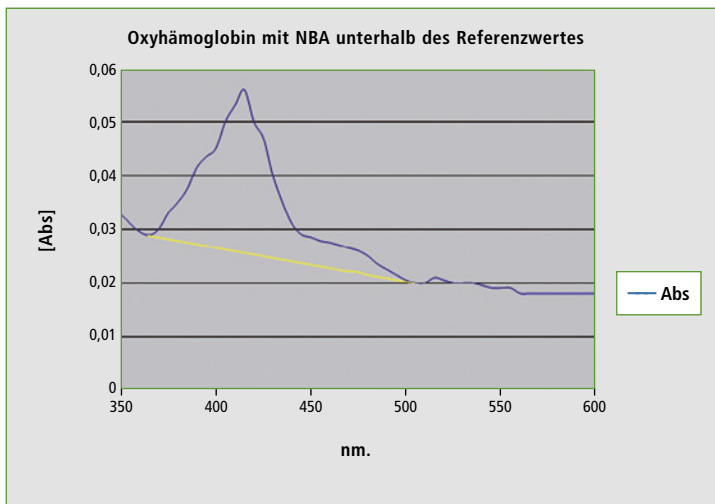


Abbildung 2: Darstellung des Absorptionsspektrums einer Bilirubin-Probe und die Darstellung der zur Bandenkorrektur benutzten Basislinie

# Neu: TOC-Applikationshandbuch, 2. Version

## Online- und Labor-TOCs



TOC-Applikationshandbuch

Als ein führendes Unternehmen in der TOC-Technologie setzt Shimadzu mit seinen Analysatoren seit Jahrzehnten Standards. Der enorme Erfahrungsschatz in der TOC-Analytik fließt kontinuierlich in die Entwicklung der TOC-Systeme ein. Bei online-Analysatoren sowie bei Labor-TOC-Systemen drückt er sich aus durch höchste Flexibilität, hohe Verfügbarkeiten, enorme Robustheit und Stabilität, einfache und intuitive Bedienung und modernste Steuerungs- und Auswertesoftware. Anwender profitieren durch persönliche Unterstützung; viele zusätzliche Funktionen erleichtern ihre Arbeit und schaffen Freiraum für andere wichtige Aufgaben.

2012 hat Shimadzu die verfügbaren Erfahrungen und Informationen in dem ersten TOC-Applikationshandbuch zusammengefasst. Die nun veröffentlichte zweite Revision erweitert die bestehenden Kapitel, so dass nun 50 Applikations- und Informationsschriften auf mehr als 100 Seiten dargestellt sind.

Das TOC-Handbuch umfasst folgende Kapitel:

### 1. Umweltanalytik

Der TOC wird in den unterschiedlichsten Umweltmatrices analysiert – von Grund- bis zum Meerwasser, von Trink- bis zum Abwasser, vom Boden bis zum Klärschlamm. Von den unterschiedlichen Umwelt-Applikationen und ihren ungleichen Herausforderungen handelt dieser Part.

### 2. Pharmazeutische Industrie

Die Bestimmung des „TOC“ ist in der Pharmakopoeia (beispielsweise Europäische Pharmakopoeia = EP) beschrieben. Der Summenparameter dient als Maß der Verunreinigung durch organische Komponenten. Nicht nur das Verfahren selbst ist beschrieben, sondern auch eine Prüfung, um die Eignung eines TOC-Analysators für die Analytik zu belegen. Aktuelle Änderungen in der amerikanischen Pharmakopoeia und ihre Auswirkung auf die Validierung sind in einer neuen Applikationsnote dargestellt. Außerdem werden die unterschiedlichen Probenahmen

für die TOC-Analytik in der Reinigungsvalidierung beschrieben.

### 3. Chemische Industrie

In der chemischen Industrie hat die Wareneingangskontrolle einen hohen Stellenwert. Die Verunreinigungen der Edukte sind oft auch die Verunreinigungen der Produkte. Neben der gezielten Analyse von bekannten Verbindungen helfen Summenparameter dabei, die Einsatzchemikalien hinsichtlich ihrer Verunreinigungen zu beurteilen.

### 4. TOC-Spezialapplikationen

Der Summenparameter TOC ist durch seine Aussagekraft vielseitig einsetzbar. Neben Umwelt, Pharmazie oder chemischer Industrie kommt der TOC in zahlreichen weiteren Applikationen zum Einsatz.

### 5. Rund um den TOC

Dieser Applikationsbereich beschäftigt sich mit den einzelnen Modulen, Kits, Optionen und unterstützenden Funktionen der Shimadzu-TOC-Analysatoren. Aber auch Begrifflichkeiten und

Methoden werden beschrieben. Hinzu gekommen sind hier Informationen über verwandte Summenparameter wie z.B. BSB und CSB.

### 6. TOC-Prozess-Analytik

Gerade in der Prozessüberwachung ist es wichtig, schnelle, kontinuierliche und aussagekräftige Informationen über die organische Belastung von Wässern zu erhalten. Bei der TOC-Prozess-Analytik wird die Probe stetig dem Messgerät zugeführt und gemessen. So kann die Messwerte schnell auf eventuelle Prozessänderungen reagieren.

Der Analysator lässt sich maßgeschneidert jeder Aufgabe anpassen.

Weitere Informationen zu diesem Beitrag:  
• TOC-Applikationshandbuch (PDF)



[www.shimadzu.eu/shimadzu-news-2014](http://www.shimadzu.eu/shimadzu-news-2014)

# Dialog auf Augenhöhe

6. TOC-Anwendertreffen, März 2014



Abbildung 1: Interessiertes Publikum beim TOC-Anwendertreffen in München

## Shimadzu TOC-Expertenkreis – Teilnehmer willkommen

Um die Vernetzung und den Austausch innerhalb der TOC-Community weiter zu fördern, hat Shimadzu auf dem 6. TOC-Anwendertreffen den Shimadzu TOC-Expertenkreis gegründet. Dort werden spezifische Fragen behandelt, aber auch markante TOC-Themen gesetzt. Beide werden dann in einem eigenen TOC-Newsletter beantwortet oder besprochen. Zudem ist geplant, dass die Anwender sich selbst und ihre TOC-Applikationen vorstellen.

Interessenten wenden sich bitte formlos per Mail unter „TOC@shimadzu.de“ an den Expertenkreis.



Abbildung 2: Logo des TOC-Expertenkreises

Den Fachleuten der TOC-Analytik gibt Shimadzu seit 2004 mit den TOC-Anwendertreffen ein regelmäßiges Forum. Der Austausch von Erfahrungen und Applikationen steht im Mittelpunkt. Die TOC-

Methodik kommt zumeist in der Umweltanalytik und in der pharmazeutischen Industrie zum Einsatz.

Der Summenparameter ist aber auch in anderen Branchen äußerst

beliebt. Dadurch, dass der TOC die gesamte Belastung durch organische Verbindungen angibt, ist er ein universeller Parameter – ob bei der Bestimmung der Biomasse oder von Spuren organischer Substanzen.

Im März dieses Jahres hat das TOC-Anwendertreffen zum sechsten Mal stattgefunden – mit 130 Anwendern in Berlin, Duisburg und München.

Gastreferenten aus Industrie und Institutionen sowie Spezialisten von Shimadzu zeigten die Bandbreite der TOC-Anwendungen. Dabei berücksichtigten sie auch die Gerätetechnik mit nützlichen Hinweisen für die tägliche Arbeit. Pointierte Diskussionen und praxisorientierte Vorträge wechselten einander ab und führten zu einem intensiven Erfahrungsdialog.

## Shimadzu live

<b>ISC</b> 14.09. - 18.09.2014 Salzburg, Österreich <a href="http://www.isc2014.at">www.isc2014.at</a>	<b>Composites Europe</b> 07.10. - 09.10.2014 Düsseldorf, Deutschland <a href="http://www.composites-europe.com">www.composites-europe.com</a>	<b>WMF</b> 10.11. - 12.11.2014 Wien, Österreich <a href="http://www.shimadzu.eu/world-mycotoxin-forum">www.shimadzu.eu/world-mycotoxin-forum</a>	<b>EBF</b> 19.11. - 21.11.2014 Barcelona, Spanien <a href="http://www.europeanbioanalysisforum.eu">www.europeanbioanalysisforum.eu</a>	<b>Aeromart</b> 02.12. - 04.12.2014 Toulouse, Frankreich <a href="http://www.bciaerospace.com/toulouse">www.bciaerospace.com/toulouse</a>
---	--	---	---	--

Wenn Sie die Shimadzu News regelmäßig erhalten wollen, senden Sie uns einfach Ihre Post-Adresse an folgende E-Mail: [shimadzu-news@shimadzu.eu](mailto:shimadzu-news@shimadzu.eu)

Registrieren Sie sich für unseren Newsletter: [www.shimadzu.eu/newsletter](http://www.shimadzu.eu/newsletter)



@ShimadzuEurope