



Aroma- und Duftstoffanalyse

Auf Knopfdruck in die zweite Dimension

Je komplexer eine Probe ist, und je weiter die Konzentrationsspanne der Komponenten, desto größer die Herausforderung für den Gaschromatographie-Experten, eine saubere Trennung und schlanke Peaks zu erhalten. Ausweg aus dem Dilemma bietet die mehrdimensionale GC, mit der sich die „Problemzonen“ eines Chromatogramm näher untersuchen lassen. Ein neues patentiertes Komplettsystem ermöglicht leicht und flexibel die ein- und zweidimensionale Gaschromatographie nebst massenselektiver Detektion auf ein und demselben GC/MS-System.

Bestimmung von z.B. Geruchsstoffen und Allergenen in Lebensmitteln, Kosmetika und Körperpflegeprodukten ist alles andere als trivial: Die zu untersuchende Probenmatrix ist komplex und erfordert in der Regel eine Schar unterschiedlicher, teils aufwendiger Probenvorbereitungsschritte, die idealerweise automatisiert verlaufen, um ein hinreichendes Maß an Effizienz, Sicherheit und Reproduzierbarkeit zu gewährleisten. Das aber ist noch lange kein Garant für zufriedenstellende Resultate, denn eine Überlagerung von Signalen lässt sich dadurch nicht verhindern. Sollte eine Überlappung offenkundig sein oder dem olfaktorischen Detektor ein Geruch entströmen, ohne dass im Chromatogramm ein Signal zu erkennen ist, müssen Anwender in die Trickkiste greifen. In diesem Fall kann die multidimensionale Gaschromatographie (GC) das Mittel der Wahl sein, um klar zu sehen.

Bislang erfordert die multidimensionale Gaschromatographie den Einsatz zweier miteinander gekoppelter Gaschromatographen.

Aufgrund der hohen Anschaffungskosten und meist geringen Auslastung kann hierbei nicht in allen Fällen, wie die Laborpraxis zeigt, tatsächlich von einer wirklich rentablen Lösung gesprochen werden. Unser Ziel war es, eine effektive und zuverlässige multidimensionale Gaschromatogra-

phie auf einem einzigen Gerät zu realisieren, das die Option bietet, bei Bedarf eine zweite Säule anderer Polarität einzuklinken und, wenn nötig, Komponenten anzureichern. Dieses System sollte ferner für alle Dimensionen dieselbe selektive Detektion erlauben und gleichzeitig den Anschluss weiterer Detektoren zulassen, ohne eine Modifikation der Hardware zu erfordern.

Unser Ziel haben wir mit dem „Selectable-1D/2D-GC/MS“-System erreicht: Mit diesem Analysensystem lässt sich nach Bedarf sowohl die ein- als auch die zweidimensionale Trennung (1D/2D) auf einem einzigen Gerät realisieren, und der Wechsel zwischen der ersten und zweiten Dimension erfolgt sozusagen auf Knopfdruck, genauer gesagt per Mausklick. Die Funktionsweise des Selectable-1D/2D-GC/MS-Systems lässt sich vereinfacht wie folgt beschreiben: Sobald die eindimensionale GC/MS-Messung einen rätselhaften Bereich offenkundig macht, kann der Anwender das interessante Intervall im zweiten GC-Lauf aus dem Chromato-

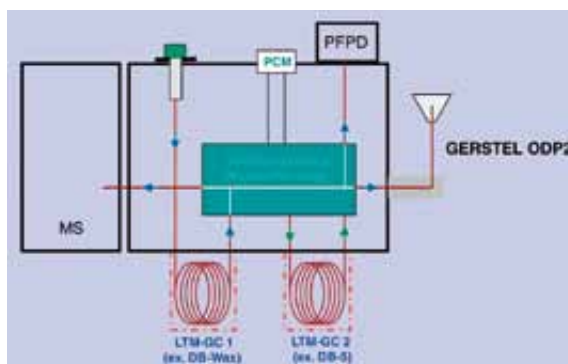


Abbildung 1: Schematische Darstellung des GERSTEL-Selectable-1D/2D-GC/MS-Systems. Zwischen Säule 1 (1D) und Säule 2 (2D) befindet sich eine Kühlzelle (GERSTEL-Cryotrap-System, CTS), mit der sich interessante „Problemzonen“ des 1D-Chromatogramms (Heart-Cut) einfrieren und anreichern lassen, falls nötig über eine Vielzahl von Injektionen. Die 2D-Trennung erfolgt im Anschluss daran auf der zweiten Säule, die Bestimmung der Analyten in beiden Fällen mit ein und denselben Detektoren, etwa MSD, OlfactoryDetectorPort (ODP), PFPD u. a.

Abbildung 2: TIC von Bucchuketon, bestimmt mit dem patentierten Selectable-1D/2D-GC/MS-System, in der ersten Dimension (A) und kombiniert mit der 2D-Trennung des zwischen der 10. und 11. Minute im 1D-TIC entnommenen Heart-Cuts (B). 0,1 µg/L Bucchuketon in Wasser.

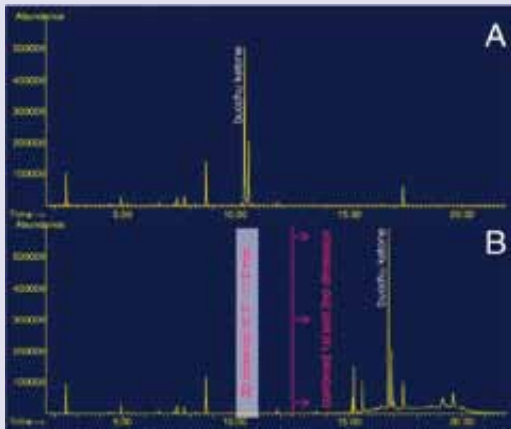


Abbildung 3: Vermessung einer realen Probe von Pfirsicharoma. TIC der ersten Dimension (A) und des zweiten Laufs mit 2D-Analyse des Heart-Cuts, entnommen zwischen der 10. und 11. Minute (B).

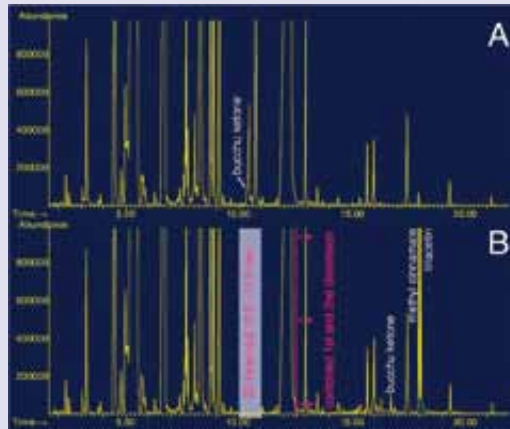
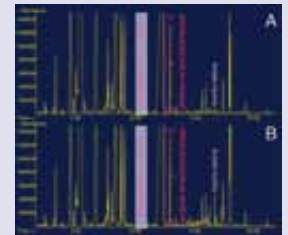


Abbildung 4: Signifikante Steigerung der Sensitivität. Vergleich zweier 1D/2D-Trennungen nach Extraktion der Pfirsicharomaprobe mit dem GERSTEL-Twister ohne Anreicherungsschritt (A) und mit Anreicherung (fünf Twister, fünf GC-Läufe) im GERSTEL-CryoTrap-System (CTS), das der 1D-Säule und 2D-Säule zwischengeschaltet ist.



gramm schneiden (Heart-Cut) und unmittelbar auf eine zweite, im selben GC installierte Kapillarsäule zur weiteren Auftrennung überführen. Um die Aufzeichnung des 2D-Chromatogramms nicht zu stören, kann die Restprobe nach dem Heart-Cut entgegen der Injektionsrichtung aus dem System gespült werden (Backflush), für den Fall, dass sie nicht von Interesse sein sollte. Um zwei Säulen unabhängig voneinander und mit unterschiedlichen Parametern heizen und kühlen zu können, werden sie nicht im GC-Ofen montiert. Sie sind von außen am GC angebracht und lassen sich unter Einsatz der sogenannten Low-Thermal-Mass-Technologie (LTM) unabhängig voneinander sehr schnell heizen und kühlen; weder der GC-Lauf wird dabei unterbrochen noch die Aufzeichnung des Chromatogramms.

Die Vermessung des auf der zweiten Säule aufgetrennten Heart-Cuts erfolgt in Minutenschnelle wiederum auf demselben Detektor beziehungsweise denselben Detektoren: MSD, olfaktorischer Detektor, PFPD usw. unmittelbar im Anschluss an die 1D-Trennung. Bei Bedarf lässt sich das fragliche Intervall, etwa aufgrund einer ungenügenden Sensitivität der Messung, im Verlauf beliebig vieler Injektionen auf einer zwischengeschalteten Kühlfalle (GERSTEL-CryoTrap-System, CTS) sammeln und anreichern. Wird die zweite Dimension schließlich aktiviert, ist mit hinreichend verwertbaren qualitativen und quantitativen Analyseergebnissen zu rechnen.

Analysetechnik und Probenvorbereitung im Blick

Um seine Leistungsfähigkeit auszuloten, wurde das Selectable 1D/2D-GC/MS-System unter den Alltagsbedingungen eines Aroma- und Duftstofflabors eingesetzt. Dieser Anwendungsbereich hat häufig mit komplexen Probenmatrices zu

gun, deren Analyse durchaus vom Einsatz der mehrdimensionalen Gaschromatographie profitiert, etwa um Komponenten, die coeluiieren können, zu identifizieren oder Gerüche aufzuklären, die aus dem angeschlossenen Olfactory Detector strömen, ohne dass im Chromatogramm ein Signal in ausreichender Intensität zu erkennen ist. Bestimmt wurden mit dem Selectable-1D/2D-GC/MS-System zu Testzwecken u. a. Bucchuketon, die Hauptkomponente des Pfirsicharomas, sowie Gin.

Das Selectable-1D/2D-GC/MS-System besteht im Wesentlichen aus folgenden Komponenten: GC 7890, versehen mit einem GERSTEL-KaltAufgabeSystem (KAS), zwei Low-Thermal-Mass-Modu-

len (LTM), einem 5975C inert XL MSD (beide Agilent Technologies), dem GERSTEL-ThermalDesorptionSystem (TDS) mit Probengeber TDS-A beziehungsweise der GERSTEL-ThermalDesorptionUnit (TDU) in Verbindung mit dem GERSTEL-MultiPurpose-Sampler (MPS) sowie dem GERSTEL-CryoTrap-System (CTS).

Die Extraktion der Analyten erfolgte im Fall des Pfirsicharomas wie des Gins mittels StirBarSorptiveExtraction (SBSE), sprich: dem GERSTEL-Twister. Hierbei handelt es sich um ein spezielles Rührstäbchen für Magnetrührer, das eingehüllt ist mit einem Mantel aus Polydimethylsiloxan (PDMS), in dem die Analyten sor-

Analysenbedingungen

TDS Splitlos
30 °C – 60 °C/min – 250 °C (5 min)

KAS Liner, gepackt mit Glaswolle
Solvent venting (50 mL/min)

Pfirsicharoma: Split (10:1)

Gin: Splitlos
-150 °C – 12 °C/s – 280 °C (3 min)

Pneumatik Konstanter Druck

GC-Ofen 250 °C dauerhaft

Säule 1 (1D) 10 m Rtx-5 (Restek), LTM-Format,
Innendurchmesser: 0,18 mm (d_i), 0,18 µm Filmdicke (d_f)

Pfirsicharoma:
40 °C (1 min) – 10 °C/min – 260 °C (0,8 min) – 100 °C/min – 40 °C

Gin:
40 °C (1 min) – 10 °C/min – 160 °C (0,8 min) – 140 °C/min – 300 °C

CTS **Pfirsicharoma:**
-50 °C (11,2 min) – 20 °C/s – 240 °C (2 min)

Gin:
-50 °C (17 min) – 20 °C/s – 240 °C (2 min)

Säule 2 (2D) 10 m DB-Wax (Agilent), LTM-Format
Innendurchmesser: 0,18 mm (d_i), 0,18 µm Filmdicke (d_f)

Pfirsicharoma:
40 °C (11,2 min) – 20 °C/min – 230 °C (1,5 min) – 50 °C/min – 40 °C

Gin:
40 °C (17 min) – 10 °C/min – 210 °C – 170 °C/min – 40 °C

MSD-Modus Full scan, 40-350 amu



Abbildung 5: 1D-TIC der mit dem Selectable-1D/2D-GC/MS-System untersuchten Ginprobe.



Abbildung 6: Kombination der 1D-Trennung und 2D-Trennung des Heart-Cuts (9,36-10,35 min) der Ginprobe.

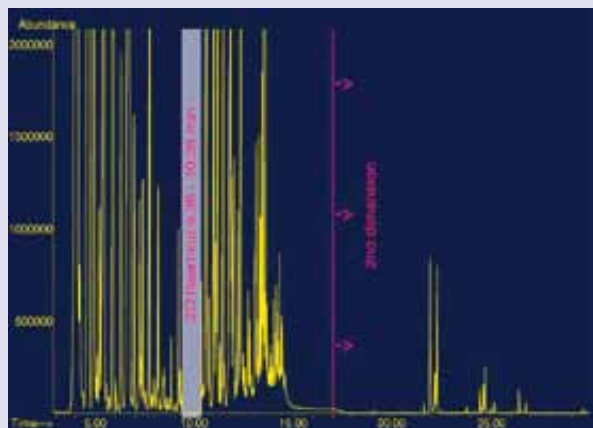
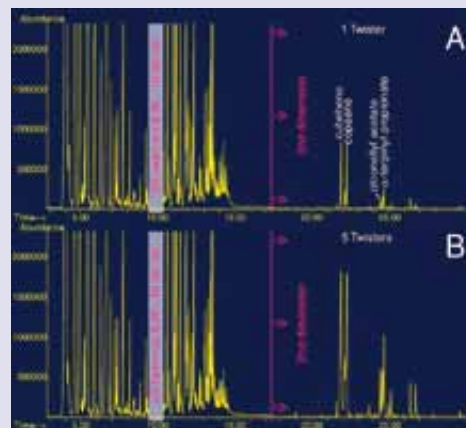


Abbildung 7: Möglichkeit der Sensitivitätssteigerung unter Beweis gestellt. Vergleich zweier 1D/2D-Trennungen nach Extraktion der Ginprobe mit dem GERSTEL-Twister ohne Anreicherungsschritt (A) und mit Anreicherung (fünf Twister, fünf GC-Läufe) im GERSTEL-CryoTrap-System (CTS).



biert werden, wenn der Twister die Probe durchmischt. Die Dicke des PDMS-Mantels lässt sich frei wählen – und damit auch seine Sorptionskapazität. Diese ist von Fall zu Fall um bis zu 1000-fach höher als bei einer mit PDMS beschichteten SPME-Faser.

Erfolgreicher Einsatz in der Laborpraxis

Die Proben haben wir für die SBSE wie folgt präpariert: Das Pfirsicharoma wurde aufgestockt, um eine Gesamtkonzentration des Bucchuketons von 1 µg/mL zu erreichen. 200 µL der Probe wurden in ein mit 9,8 mL Wasser gefülltes, verschraubbares Headspace-Vial pipettiert. Die Konzentration des Bucchuketons sank somit auf 0,02 µg/mL. Von der Ginprobe wurde eine 0,5 mL Aliquote in ein 10-mL-Headspace-Vial pipettiert und mit 4,5 mL Wasser aufgefüllt. Die Identifizierung und Quantifizierung der Peaks erfolgte über den Vergleich mit einer Standardlösung.

Die Vials wurden mit je einem konditionierten Twister-Rührstäbchen bestückt, verschlossen und für die Dauer von einer Stunde bei Raumtemperatur durchmischt. Anschließend wurden die Twister den Vials entnommen, trockengetupft und in konditionierte TDS-Röhrchen überführt. Mit deren Platzierung auf dem TDS-A war die manuelle Probenvorbereitung abgeschlossen; alle weiteren Schritte verliefen automatisiert.

Zunächst wurden die wässrigen Standardlösungen analysiert. Hierbei zeigte sich das Bucchuketon im 1D-Chromatogramm zwischen der 10. und 11. Minute. Der Heart-Cut dieses Bereichs und seine Überführung auf die zweite Säule (2D) brachte eine Schar coelulierender Komponenten zum Vorschein, die in der ersten Dimension zu keiner Zeit hätten getrennt werden können (Abbildung 2). In ähnlicher Weise verfahren wir schließlich mit

der Pfirsicharomaprobe: Der Heart-Cut erfolgte zwischen der 10. und 11. Minuten. Auf die zweite Säule überführt, zeigten sich die überlappenden Signale; sie ließen sich schließlich identifizieren.

Die 2D-Trennung erfolgt unmittelbar auf den Heart-Cut bzw. unmittelbar nach dem Ende der 1D-Trennung, die Aufzeichnung folglich auch im selben Chromatogramm. Um zu verhindern, dass weitere Analyten die Trennung auf Säule 2 behindern und Signale überlagern, lassen sich die Rückstände im Rückflussverfahren (Backflush) aus dem System spülen. Im Fall des Pfirsicharomas war das nicht erforderlich, da keine Komponenten der ersten Dimension mit denen der zweiten Dimension coeluierten (Abbildung 3). Für den Fall, dass die Analyse des Heart-Cuts keine zufriedenstellenden Resultate liefert, lassen sich diese Zonen auf der zwischengeschalteten Kühlfalle fokussieren und anreichern. Um die Wirksamkeit dieser Art der Probenanreicherung zu überprüfen, haben wir fünf Heart-Cuts cryofokussiert und in Summe auf die Säule gegeben. Der Vergleich mit dem Resultat der Messung eines Twisterextrakts bestätigte den Erfolg der Anreicherung und die hohe Effizienz des Selectable-1D/2D-GC/MS-Systems (Abbildung 4).

Was abschließend zu sagen wäre

Die Analyse der Ginprobe mit dem Selectable-1D/2D-GC/MS-System erbrachte ähnlich zufriedenstellende Resultate. Aus dem Total-Ionen-Chromatogramm (TIC) (Abbildung 5) wurde ein Heart-Cut zwischen Minute 9,36 und 10,35 herausgetrennt (Abbildung 6) und auf die zweite Säule überführt. Wurden nun die Ladungen von fünf Twister-Extraktionen im CTS angereichert und in Summe auf die zweite Säule überführt, brachte auch dieser Schritt eine signifikante Steigerung der Sensitivität (Abbildung 7).

Bislang wurde der Selectable 1D/2D-GC/MS insbesondere in der Aroma- und Duftstoffanalytik mit Erfolg eingesetzt, sowohl für Lebensmittel als auch für Getränke, Körperpflegeprodukte und Kosmetika. Zu der Aromaanalytik gehört in diesem Fall auch die Bestimmung von Fehlgerüchen in den besagten Produkten und in deren Verpackung. Das System gewährleistet aufgrund einer intelligenten Verknüpfung zweier unterschiedlich polarer Kapillarsäulen auf einem GC-System eine effiziente multidimensionale Chromatographie mit hoher Trennleistung bei gleichzeitig geringen Anschaffungskosten. Ferner lassen sich die Analyten des Heart-Cuts auf Säule 2 (2D) auf ein und demselben selektiven Detektor vermessen, der für die 1D-Trennung genutzt wurde; die Detektion kann auf Wunsch auf mehreren Detektoren wie MSD, ODP und PFPD zeitgleich erfolgen. Ein unspezifisches Monitoring, wie es bei herkömmlichen Säulenschaltungen etwa mittels FID erfolgt, braucht es nicht: Das im ersten Lauf resultierende TIC liefert umfassende und exakte Daten für die anschließende 2D-Trennung. Noch eine Bemerkung zur Bedienerfreundlichkeit: Steuern lässt sich das Selectable 1D/2D-GC/MS-System wie im Übrigen alle GERSTEL-Geräte und -Systeme einfach und komfortabel per Mausclick.

Autoren

Nobuo Ochiai und Kikuo Sasamoto, GERSTEL K.K., 2-13-18, Nakane, Meguro-ku, Tokyo 152-0031, Japan
John R. Stuff und Jacqueline A. Whitecavage, GERSTEL, Inc., 701 Digital Dr. Suite J, Linthicum, MD 21090, USA