

Analyse komplexer Proben mit multidimensionaler (Heart-Cut) GC-GCMS und LC-GCMS

Dr. Margit Geißler, Susanne Böhme

Shimadzu Europa GmbH, Duisburg

info@shimadzu.de · www.shimadzu.de

Das Problem von Co-Elutionen kennt jeder Anwender in der Chromatographie. Besonders in der Lebensmittel- und Aroma-Industrie sowie bei Proben aus den Bereichen Naturstoff-, Umwelt- und Drogenanalytik ist man bei der täglichen Arbeit häufig mit Co-Elutionen konfrontiert. Sie können auf verschiedenen Ursachen beruhen, etwa auf unvollständiger Trennung von Matrix-Verbindungen, auf Struktur- oder lediglich auf Siedepunkt-Ähnlichkeit von Zielkomponenten. Zwei Probleme gilt es für Analytiker zu meistern:

- die sichere Identifikation der Komponenten
- die präzise Quantifizierung der Komponenten.

Multidimensionale Chromatographie

Um Co-Elutionen zu trennen, wird eine zweite Säule mit anderen Trenneigenschaften der ersten Säule nachgeschaltet. Die Zielkomponenten auf der zweiten Säule zeigen dann Retentionszeiten, die sich von denen auf der ersten Säule unterscheiden. Somit können zwei Peaks, die auf der ersten Säule co-eluieren, auf der zweiten Säule völlig unabhängig voneinander identifiziert und quantifiziert werden. Man erhöht also die Peakkapazität des Gesamtsystems.

Heart-Cut-GC

Im Falle der Multidimensionalen GC nutzt der Analytiker für den Transfer auf die zweite Säule einen so genannten „Deans Switch“-Aufbau, der anhand von Druckunterschieden Komponenten entweder direkt zum Detektor schickt oder in die zweite Säule leitet. Dies wird in der Literatur auch als „Heart-Cut-GC“ bezeichnet.

Bisher hatte diese Methode jedoch einen Nachteil: Sobald eine Zielkomponente aus dem ersten Chromatogramm transferiert wird, verschieben sich die Retentionszeiten der nachfolgenden Peaks gegenüber einem Durchlauf ohne „Heart-Cut“. Die Erklärung liegt im Druckunterschied am Ende der ersten Säule, der nötig ist, um den interessierenden Peak auf die zweite Säule zu übertragen. Damit ist der Aufwand immens und es erfordert viele Chromatographie-Durchläufe, die korrekten Transferzeiten für mehr als einen oder zwei interessierende Peaks zu ermitteln.

Die Multi-Deans-Switch-Technologie

Einen neuen Ansatz bei der Anwendung der Deans-Switch-Technologie bietet das multidimensionale System MDGC-2010 von Shimadzu mit multipler Heart-Cut-Technik. Unterschiedliche Restriktoren im System und ein Ventil außerhalb des Probenstroms halten den Druck am Ende der Säule konstant – ganz gleich, ob ein Transfer (Cut) genutzt wurde oder nicht. Eine Retentionszeitverschiebung bei Übertragung der Komponenten in die zweite Säule ist damit ausgeschlossen. Damit kann der Anwender entsprechend seines Bedarfs so viele Transfers durchführen wie er möchte, ohne dass sich eine Verschiebung der Retentionszeiten ergibt. Mit dem MDGC-2010 ist die Trennung, Identifizierung und Quantifizierung von Co-Elutionpeaks sehr einfach:

- 1) Trennung des Standards der Zielkomponenten mit dem ersten GC (nur ein Lauf)
- 2) Bestimmung der Transferzeiten (so viele wie nötig, ohne Beschränkung)
- 3) Trennung der Probe und Transfer der interessierenden Peaks entsprechend der zuvor ermittelten Transferzeiten
- 4) Quantifizierung der Zielkomponenten im von der 2. Säule erhaltenen Chromatogramm.

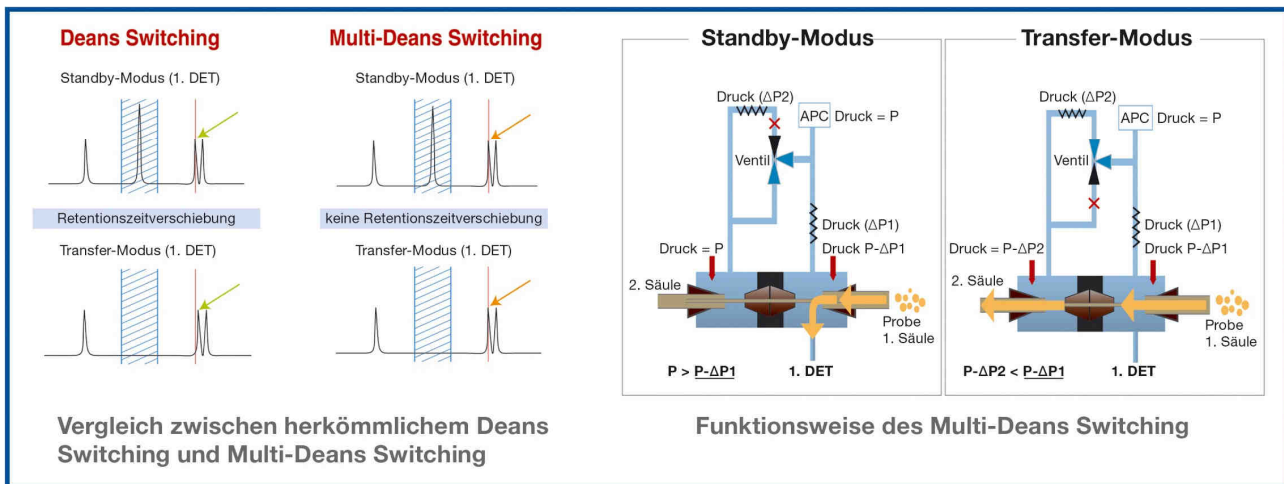


Abbildung 1: Multi-Deans Switch ohne Retentionszeitverschiebung (Shimadzu Corporation)

Säulenauswahl für die Multidimensionale GC

In der Multidimensionalen Heart-Cut-GC wird in der ersten Dimension üblicherweise eine unpolare Säule eingesetzt mit einer Standardsäulenlänge von 30 m und in der zweiten Dimension eine polare Säule. Die Dimensionen der zweiten Säule können dabei völlig unabhängig von denen der ersten Säule gewählt werden. Es können sowohl Fast-GC-Säulen mit 10 m Länge, als auch – für schwierige Trennprobleme – Säulen mit Längen von 100 oder 200 m. Selbstverständlich kann auch in der ersten Dimension eine polare Säule und in der zweiten Dimension eine unpolare Säule eingesetzt werden. Die Dimensionen können immer unabhängig gewählt werden.

Quantifizierung der Co-Elutionspeaks

Eine Kalibrationskurve mit Standardproben unterschiedlicher Konzentrationen lässt sich unter denselben Bedingungen und mit denselben Transferzeiten aufnehmen, und Kalibrationskurven lassen sich in üblicher Weise durch Integration der Peaks im Chromatogramm von Säule 2 aufstellen.

Probenaufgabe für die MDGC

Die MDGC-Proben können über einen konventionellen Split/Splitlos-Injektor, einen temperaturprogrammierbaren Injektor (z.B. Optic-3) oder auch über Thermodesorption oder Pyrolyse aufgegeben werden. Natürlich sind auch Headspace oder SPME geeignete Techniken für die Probenaufgabe bei der MDGC. Es können also eine Vielzahl von Proben aus unterschiedlichsten Anwendungsgebieten mit der MDGC gemessen werden (Tabelle 1). Abbildung 2 zeigt als Beispiel die Trennung von C18 *cis/trans* FAMES (Fettsäuremethylestern) in der 2. Dimension mit Quadrupol-MS-Detektion.

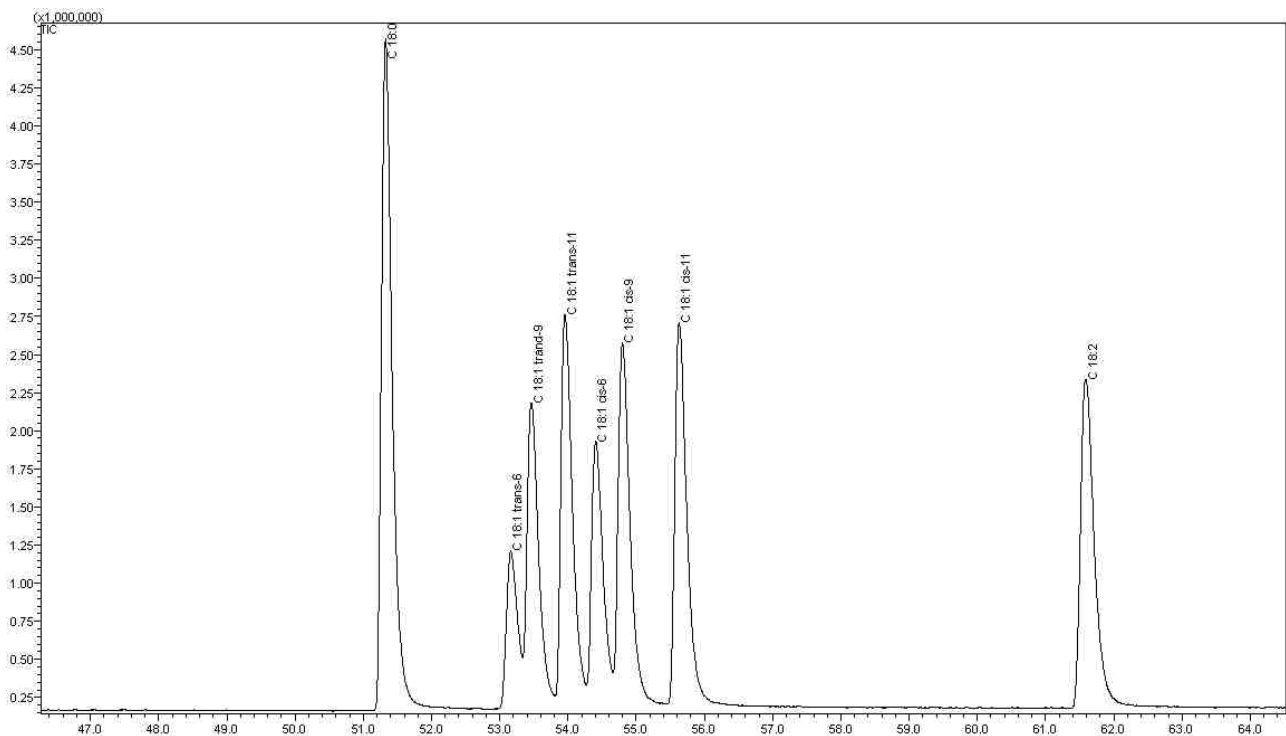


Abbildung 2: Trennung von C18 *cis/trans* FAMES

Duft-, Aromastoffe, Kosmetika	z.B. Allergene
Lebensmittelanalytik	z.B. Fettsäuren
Petrochemische Industrie	z.B. sauerstoffhaltige Verbindungen
Umweltanalytik	z.B. PCBs
Forensische Analytik	z.B. Brandbeschleuniger
Klinische Analytik	z.B. Drogen

Tabelle 1: Typische Einsatzgebiete der Multidimensionalen GC

Multidimensionale LC-GC Kopplung

Bei komplexen Proben ist es u.U. nicht ausreichend, zwei Säulen verschiedener Polarität einzusetzen, um alle Komponenten einer Probe zu charakterisieren. In diesem Fall kann auch die Flüssig-Chromatographie (LC) mit der Gas-Chromatographie (GC) gekoppelt werden. Während in der LC nach der Polarität oder Größe von Molekülen getrennt wird, wird in der GC mit unpolaren Säulen nach Siedepunkt getrennt. Diese sehr unterschiedlichen Trennmechanismen lassen sich für die Trennung von Co-Elutionen nutzen.

Unterschiedliche Kopplungsarten

Im Prinzip können LC und GC auf zwei unterschiedliche Arten miteinander gekoppelt werden. Zum einen können Fraktionen der LC in fest eingestellten Intervallen in den GC injiziert werden. Dabei werden alle Komponenten sowohl auf der LC wie auch auf der GC getrennt (so genannte Comprehensive Chromatographie). Zum anderen kann man nur bestimmte Bereiche des LC-Chromatogramms zur weiteren Trennung in den GC injizieren (Heart-Cut-Methode). In diesem Fall dient die LC als Probenvorbereitung für die GC.

Der Transfer der Probe von der LC zur GC erfolgt über eine spezielle Sprizentechnik (Abbildung 3). Anwendung kann die Kopplung von LC und GC in vielen Bereichen finden, z.B. bei so unterschiedlichen Fragestellungen wie der Charakterisierung von Olivenöl oder Polymeren sowie der Bestimmung von Pestiziden in komplexen Matrices, wobei die LC in letzterem Fall als Probenvorbereitungsmethode eingesetzt wird. Selbstverständlich wird auch bei der LC-GC-Kopplung im Normalfall ein Quadrupol-Massenspektrometer für die korrekte Identifizierung und Quantifizierung nach der GC-Trennung eingesetzt.



Abbildung 3: Spezielle Spritze für den Transfer der Probe von der LC zur GC

Software für die Multidimensionale Chromatographie

Sowohl bei der Multidimensionalen GC als auch bei der Kopplung von LC und GC werden alle Parameter über eine einzige Software-Oberfläche (Shimadzu) gesteuert, was die Entwicklung von Methoden sehr einfach macht, da der Anwender nicht zwischen verschiedenen Softwarepaketen hin- und herspringen muss.

Fazit

Die Multidimensionalen Trennungen bieten eine Vielzahl von Möglichkeiten, auf einfache Weise komplexe Proben zu charakterisieren. Es können sowohl zwei GC-Trennsäulen unterschiedlicher Polarität eingesetzt werden als auch die LC gekoppelt mit einer GC-Methode. Zur Detektion bietet sich die Kombination des GC mit einem Quadrupol-MS für die sichere Identifizierung durch Bibliothekssuche (z.B. in Kombination mit Linearem Retentionsindex) und anschließende Quantifizierung an.