



Identifizierung von Pyrazinen und Methional mit multidimensionaler (heart-cut) GC-O/GC-O/MS

Alexander Hässelbarth

FlavoLogic GmbH

Der Geschmack von Kartoffelchips, gegrilltem Gemüse oder Kaffee ist nicht von Pyrazinen und Methional zu trennen. Chemische Verbindungen, die für Röstaromen in Lebensmitteln mitverantwortlich sind. Diese Aromastoffe sind mit der durch Wärme ausgelösten Maillard-Reaktion verbunden, bei der Zucker und Aminosäuren reduziert werden und Gemüse und Fleisch Aroma und Geschmack geben.

Ziel dieser Untersuchungen war es, in einem natürlichen Aromaextrakt koeluerende potenziell geruchsaktive Verbindungen zu identifizieren. Dies wurde durch GC-O erreicht, einer gaschromatographischen olfaktometrischen Methode kombiniert mit zweidimensionaler gekoppelter GC-MS. Die GC-O-Methode ist die perfekte Wahl für die Analyse einzelner geruchsrelevanter Substanzen in komplexen Mischungen. Sie ermöglicht Substanzen zu erkennen, die mit anderen Analysemethoden aufgrund niedriger Nachweisgrenzen nicht identifiziert werden können.

Ein GC-O/GC-O/MS-System (Abbildung 1) wurde verwendet, um diesen Elutionsbereich von der ersten Säule (DB-FFAP) auf eine zweite Säule (DB-5) zu übertragen – mittels eines multidimensionalen (heart-cut) Deans-

Switch-Systems. Die von der zweiten Säule eluierten Verbindungen wurden ebenfalls mit Hilfe simultaner GC-O und GC-MS evaluiert. Die DB-FFAP-Säule hat eine hohe Polarität und ist besonders geeignet für die Analyse von Aromastoff-

fen. Die DB-5-Säule ist eine nahezu unpolare Phase und trennt, was die FFAP-Säule nicht trennen kann. Die grundsätzliche Stärke dieser Vorgehensweise lässt sich am besten an einem Kaffeeextrakt demonstrieren. Im oberen Teil der Abbil-

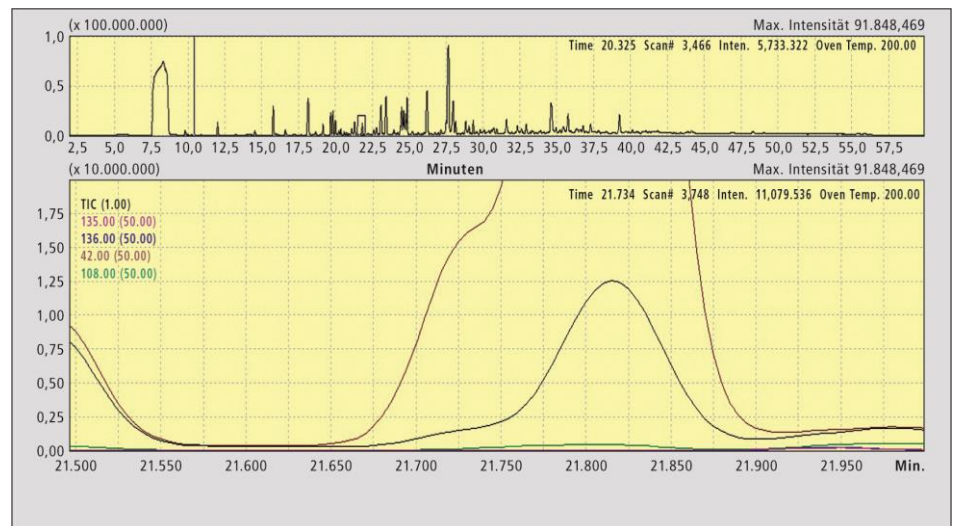


Abb. 2: Oberer Abschnitt: Gesamtchromatogramm des Kaffeearomas; unterer Abschnitt: Peaks, die in einem Zeitfenster von 30 Sekunden eluieren. Die Trennung ist schlecht und das MS-Ergebnis liefert keine sinnvollen Treffer aus der Spektrenbibliothek.

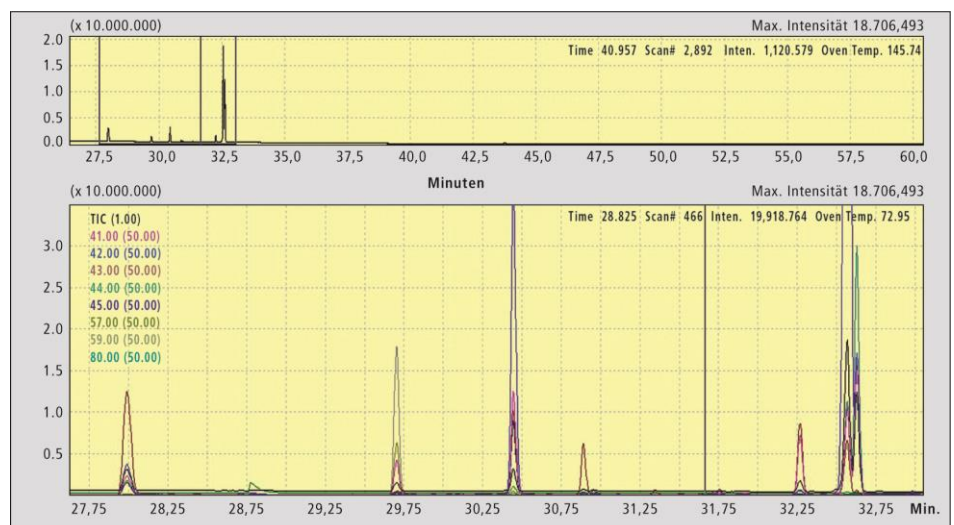


Abb. 3: Oberer Bereich: Kaffee Aroma aus dem ausgewählten Zeitfenster, getrennt auf der zweiten GC-Säule; unterer Bereich: Vergrößerung des entscheidenden Bereichs nach der Trennung auf der zweiten GC-Säule mit gut aufgelösten, scharfen symmetrischen Peaks.

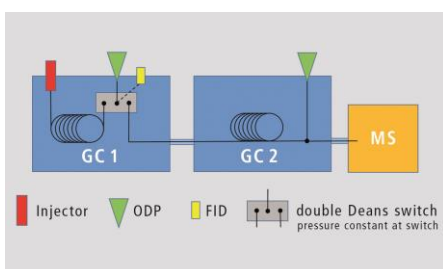


Abb. 1: Instrumenteller Aufbau des GC-O/GC-O/MS-Systems

dung 2 ist ein Gesamtchromatogramm eines Kaffeeextrakts dargestellt, der untere Teil zeigt die Verbindungen, die in einem engen Zeitfenster von 30 Sekunden eluiert wurden. Die Peaks in diesem Fenster sind schlecht geformt und die Suche in MS-Bibliotheken schlägt fehl. Das in diesem Zeitfenster eluierte Gemisch wurde nun auf die zweite Säule übertragen und mit MS analysiert. Abbildung 3 zeigt eine sehr gute Trennung der Verbindung, die in diesem Zeitfenster unter sehr guten Bedingungen für die Identifizierung eluiert wurde, und eine GC-O-Analyse am zweiten „Sniffing-Port.“

Materialien und Methoden

Für die Durchführung der GC-O/GC-O/MS-Methode wurde ein GC-2010 Gas-Chromatograph von Shimadzu verwendet, der mit einem GCMS-QP2020 verbunden war, einem Single-Quadrupol zur Überwachung mikroskopischer Mengen funktioneller Verbindungen. In der ersten Dimension wurde der Extrakt auf einer OPTIMA®-FFAPplus-Säule (Länge: 30 m; Durchmesser 0,25 mm, Filmdicke: 0,5 µm) getrennt. Der chromatogra-



Abb. 4: Olfaktometrische Bestimmung mit dem FlavoLogic-GC-O/GC-O/MS-System

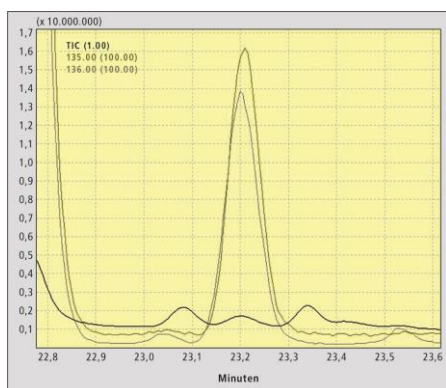


Abb. 5: Asymmetrisch geformter Peak nach Trennung an der ersten Säule

phisch interessante Bereich wurde mittels eines Deans-Switch-Systems auf eine zweite Kapillarsäule übertragen, eine OPTIMA®-5-Säule (Länge: 30 m, Durchmesser: 0,25 mm, Filmdicke: 0,1 µm).

Die olfraktometrische Analyse wurde an FlavoLogic-„Sniffing-Ports“ durchgeführt, die mit einem zusätzlichen Shimadzu-Injektor ausgerüstet sind und beheizt werden können. Die „Sniffing-Ports“ haben eine optimierte Geometrie, mit der eine äußerst empfindliche Detektion ohne Tailing des Geruchs aufgrund rekondensierender Aromaverbindungen möglich ist (Abbildung 4).

Experiment und Ergebnisse

Ein auf einer DB-FFAP-Säule getrennter natürlicher Aromaextrakt zeigte in einem kleinen Zeitfenster um 23,1 und 23,3 Minuten interessante „Sniffing“-Eindrücke (Abbildung 5). Die Gerüche wurden als „geröstet, erdig und gekochten Kartoffeln ähnlich“ wahrgenommen. Referenzdaten zeigten, dass Methional

und einige Pyrazine als potenzielle Aromastoffe in diesem Bereich eluieren.

Die Daten der eindimensionalen GC-MS lieferten jedoch keine zuverlässigen MS-Signale. Es wurde auch angenommen, dass der Peak im interessierenden Bereich das Ergebnis einer schwierigen Koelution ist und dass möglicherweise mehr als ein Pyrazin mit Methional koeluiert.

Nach dem Transfer dieser Peaks auf die zweite Säule wurden drei eng eluierende Peaks in einem Retentionszeitraum von 34,4 bis 34,65 Minuten auf einer DB-5-Säule detektiert, wobei alle drei geröstete, pyrazinähnliche Geruchsnoten aufwiesen, wenn sie am „Sniffing-Port“ detektiert wurden (Abbildung 6). Nach Auswertung der Massenspektren und Vergleich mit Referenzverbindungen konnten Peak 1 (34,45 min) als 3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazin, Peak 2 (34,52 min) als 2,6-Diethylpyrazin und Peak 3 (34,60 min) als 2,5-Diethylpyrazin identifiziert werden.

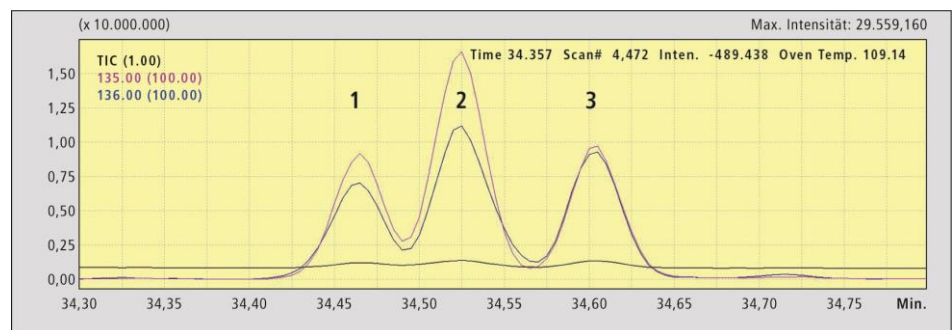


Abb. 6: Drei Pyrazin-Peaks multidimensionaler GC und Trennung auf der zweiten Säule

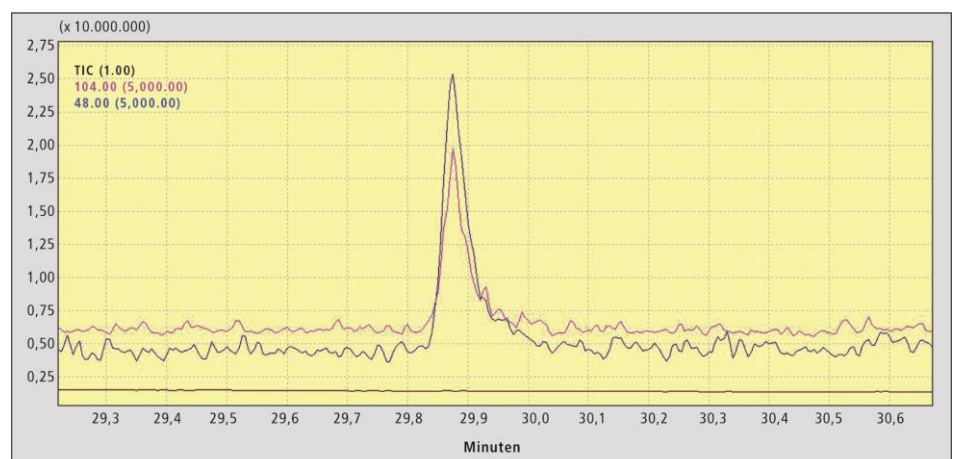


Abb. 7: Identifizierung von Methional mit multidimensionaler GC und Trennung auf der zweiten Säule

Darüber hinaus wurde nach 29,875 Minuten ein kartoffelartiger Geruchs-Peak nachgewiesen, der mit MS als Methional bestätigt wurde (Abbildung 7).

Zusammenfassung

Die Ergebnisse zeigen, dass GCO/GC-O/MS aufgrund ihrer sehr guten Trennung eine geeignete Methode ist, um koeluierende, geruchsaktive Verbindungen in natürlichen Aromaextrakten zu identifizieren. Ein multidimensionales Deans-Switch-System mit Auswertung der Massenspektren und Vergleich mit Referenzverbindungen ermöglicht die genaue Identifizierung bestimmter chemischer Verbindungen.