

L. W. Kroh / R. Matissek / S. Drusch

Angewandte instrumentelle Lebensmittelanalytik

BEHR'S...VERLAG

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.dnb.de> abrufbar.

ISBN 978-3-95468-651-3

© Behr's GmbH · Averhoffstraße 10 · 22085 Hamburg

Tel. 0049/40/22 70 08-0 · Fax 0049/40/220 10 91

E-Mail: info@behrs.de · Homepage: <http://www.behrs.de>

4. Auflage 2020

Bei der 4. Auflage handelt es sich um die Fortsetzung des von Werner Baltes begründeten und mit Lothar W. Kroh gemeinsam herausgegebenen Buches zu Lebensmittelanalytik unter dem Titel „Schnellmethoden“.

Alle Rechte – auch der auszugsweisen Wiedergabe – vorbehalten. Herausgeber und Verlag haben das Werk mit Sorgfalt zusammengestellt. Für etwaige sachliche oder drucktechnische Fehler kann jedoch keine Haftung übernommen werden.

Geschützte Warennamen (Marken) werden nicht besonders kenntlich gemacht. Aus dem Fehlen eines solchen Hinweises kann nicht geschlossen werden, dass es sich um einen freien Warennamen handelt.

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird auf die gleichzeitige Verwendung männlicher und weiblicher Sprachformen verzichtet, sondern die männliche Sprachform gewählt. Sämtliche Personenbezeichnungen gelten selbstverständlich gleichermaßen für alle Geschlechter.

4.2 Gaschromatographie (GC)

4.2.1 Klassische GC und GC-MS

Th. Fiedler, M. Hofsommer

Dieses Buch richtet sich an analytisch interessierte und praktisch erfahrene Leser, bei denen eigene Grund- und Fachkenntnisse zur Gaschromatographie (GC) durchaus vorausgesetzt werden können. Aus der Sicht eines praktisch arbeitenden Analytikers in einem Handelslabor kann jedoch nachfolgende Erklärung zur erwähnten Thematik hilfreich sein und auch Fachleuten mit einem anderen Wissenshintergrund einen schnellen Einstieg in das nachfolgende Kapitel „Trenntechnik und Anwendungen in der Gaschromatographie“ geben. Humoristisch möge folgender Vergleich die Grundlagen der Gaschromatographie veranschaulichen: „Man stelle sich den Gaschromatographen als eine Sauna vor, die viele Personen gemeinsam besuchen (Injektor). Dort werden sie mehr oder weniger konstant hohen oder steigenden Temperaturen (Temperaturprofil) ausgesetzt und in Abhängigkeit Ihrer Konstitution (vgl. der Verdampfungseigenschaften von Analyten) verlassen sie die Sauna nach und nach (chromatographische Trennung) und werden am Ausgang gezählt (Detektion)“.

4.2.1.1 Grundlagen

Einleitung

Die Grundlagen zu analytischen Methoden bezüglich der Trennung von Substanzgemischen, wie sie für Lebensmittel und ihren Rohstoffen typisch sind, gehören in ein Fachbuch. Um Doppelungen und Wiederholungen zu vermeiden, wird die Theorie

zur Chromatographie im Kapitel 4.3.1 ausführlich behandelt und der geneigte Leser wird gebeten, sich dort, oder in der überaus umfangreichen Fachliteratur zu informieren [1–4, 23, 25]. Im vorliegenden Kapitel wird zunächst ein Überblick über das Funktionsprinzip der GC und über verschiedene Detektoren gegeben. Der Fokus dieser Betrachtung liegt hier auf der anwendungspezifischen Sicht der GC: welche Parameter, welche Geräteeinstellungen, welche Hard- und Softwareausstattung die Analyse beeinflussen und vom Analytiker als Anwender bei der Methodenentwicklung oder bei analytischen Problemen berücksichtigt werden müssen, soll in den nachfolgenden Abschnitten aufgezeigt und diskutiert werden. Aufgrund der enormen Vielfalt und Variationen an Gerätetechniken, die inzwischen auf dem Markt sind, kann dieses Kapitel nur einen kleinen Ausschnitt hierüber geben.

Wie findet man nun den Einstieg in die Grundlagen der Gaschromatographie, wenn es bereits hunderte von fachspezifischen Grundlagenbüchern zu diesem Thema gibt. In Abbildung 4.2.1-1 ist der Aufbau, sowie die entsprechenden Komponenten der Gaschromatographie dargestellt.

Der Aufbau von Gaschromatographen ist vergleichsweise immer gleich und setzt sich aus dem Injektor, Gaschromatographen und Detektor zusammen. Grundvoraussetzung für die Bestimmung von Analyten mit der GC ist die Eigenschaft, dass Moleküle unter den Messbedingungen unzersetzt verdampfbar, besser „gaschromatographisch flüchtig“ sind. An dieser Stelle sei insbesondere darauf

hingewiesen, dass oftmals der Siedepunkt von Stoffen herangezogen wird um Rückschlüsse zum Verhalten im Injektor oder in der Trennsäule zu ziehen. Die Siedetemperatur gibt hier zwar einen guten Anhaltspunkt, in der Praxis muss jedoch der Analyt lediglich „verdampfen“ und mit dem permanenten Trägergastrom auf die Trennsäule transportiert werden. Auch hierzu wieder ein sehr profanes Sinnbild: „Pfützen trocknen auch ohne dass Wasser siedet“.

Injektionssysteme und Liner

Am Anfang der Gaschromatographie steht die Injektion und die Verdampfung der Analyten. Beispielsweise sind die wichtigsten Injektionstechniken/Injektorsysteme aufgelistet:

- split/splitless Injection; im split Modus wird ein Teil des Trägergastrom inkl. der

verdampften Probe und der Überschuss an Lösungsmittel vor der analytischen Säule abgetrennt, wohingegen im splitless Modus die gesamte Probe auf die Säule gelangt.

- large volume injection; Injektionsvolumen bis zu 100 μl (üblicherweise beträgt das Injektionsvolumen 1–5 μl).
- PTV – programmed temperature vaporizing und CIS – cooled injection system; Erläuterungen folgen in nachfolgenden Anwendungsbeispielen.
- PME – solid phase micro extraction; die Injektionsnadel beinhaltet eine Faser, an die Analyten selektiv adsorbiert werden können und anschließend mittels Thermodesorption (Ablösen/Verdampfen der Analyten durch Hochtemperatur) auf die Chromatographie Säule gelangen.

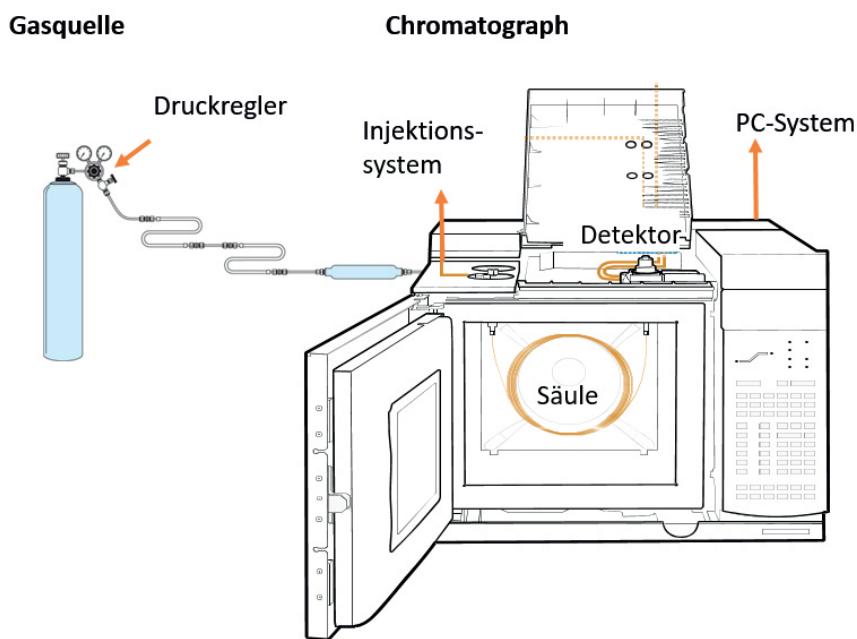


Abb. 4.2.1-1 graphische Darstellung – Gaschromatographie, Agilent GmbH.

- Headspace – statisch oder dynamisch; flüchtige Analyten werden aus dem Kopfraum des Vial direkt in den GC überführt – bei einem dynamischen System werden die Kopfraumanalyten an einem Adsorbens oder einer Kühlfaule angereichert.
- purge and trap Techniken; hierbei wird ein Inertgas durch die flüssige Phase im Vial geleitet und so die Analyten in die Gasphase getrieben. Anschließend werden sie ebenfalls an einem Adsorbens oder in einer Kühlfaule angereichert und gelangen nachfolgend über Thermodesorption auf die Säule.

Die Pyrolyse-GC soll als Spezialanwendung nicht vergessen werden. Die Varianten sind zahlreich und multiplizieren sich darüber hinaus in der Vielzahl der verschiedenen programmierbaren Injektionsbedingungen. Die jeweilige Anwendungstechnik kann sich alleine schon aus der Verfügbarkeit in einem Labor, aber natürlich in erster Linie durch die analytische Fragestellung ergeben. PTV oder CIS Systeme finden beispielsweise in der Aromaanalytik Anwendung. Bei hochkomplexen Stoffgemischen, wie sie in Lebensmitteln vorliegen, kann durch eine temperaturgesteuerte Injektion (PTV) bereits im Injektor eine „Vortrennung“ der Analyten, noch vor der eigentlichen chromatographischen Auftrennung, erzielt werden und so die Trennleistung deutlich erhöht werden.

Der eigentliche Verdampfungsvorgang im Injektor findet in einem so genannten Liner statt. Hierbei handelt es sich vereinfacht um ein Glasrohr, in welches die Probe injiziert wird und den Verdampfungsprozess kontrolliert und reproduzierbar ablaufen lässt. Die Wahl der verwendeten Liner kann einen enormen Einfluss auf den Erfolg der analytischen Fragestellung haben. Je nach Anwendung und Problemstellung stehen

beispielhaft gepackte, glatte, „baffled“ Liner mit großem und kleinem Innendurchmesser sowie zahlreiche weitere Variationen zur Verfügung. Darüber hinaus werden Liner zur Erhöhung der chemischen Inertheit deaktiviert (s. Abb. 4.2.1-2). Hierbei werden die „aktiven“ Si-OH Gruppen der Glasoberfläche im Liner z. B. mit Hexamethyldisilazane silyliert. Dieser Schritt kann neben der analytischen Notwendigkeit auch die Standzeiten erhöhen und damit den Zeitaufwand für die Wartung des GC/Injektors reduzieren. Die nachfolgende Abbildung 4.2.1-2 soll einen Eindruck über die verschiedenen Linerarten geben, aber vor allem verdeutlichen, wie und in welchem Zustand Liner verwendet werden.



Abb. 4.2.1-2 In der Praxis verwendete GC-Liner unterschiedlicher Bauart.

So kann der optisch saubere Liner ganz links nicht zu einer erfolgreichen Verdampfung führen, weil dieser für die spezielle Anwendung nicht deaktiviert wurde. Auf der anderen Seite kann der stark verschmutzte Liner ganz rechts immer noch eingesetzt werden,

weil er nicht in der Spurenanalytik, sondern z. B. für eine qualitative Fingerprintmethode zur Identifizierung von Fremdzuckerzusatz in Fruchtsäften (Oligosaccharidspektrum – Low-GC, IFU Rec 4; International Fruit and Vegetable Juice Association (IFU)) verwendet wird.

Trennsäulen und Temperaturprogramm

Nach dem Injektionssystem erfolgt die eigentliche Auftrennung des Stoffgemisches in der analytischen Trennsäule. Je nach Fragestellung kommen hier verschiedenste Polaritäten und Dimensionen zum Einsatz. Eine Besonderheit von GC- gegenüber LC-Säulen ist die nahezu international Vereinheitlichung der Säulenmaterialien und damit der Säuleneigenschaften. Im Bereich der Pestizidanalytik wird üblicherweise auf die relativ unpolaren „5er Säulen“ zurückgegriffen, wobei jeder Hersteller noch einen Präfix (DB, ZB, ...) verwendet. Das Säulenmaterial ist ausgehend vom Namen „5“ aus 5 % Phenyl und 95 % Dimethylpolysiloxan zusammengesetzt. Für die Untersuchung von aromatischen Kohlenwasserstoffen (BTEX) werden „1er“ Säulen verwendet, die meist aus 100 % Dimethylpolysiloxan zusammengesetzt sind und entsprechend eine sehr geringe Polarität aufweisen. Für die Bestimmung von Alkoholen, z. B. nach IFU No 2, werden so genannte polare WAX Säulen verwendet, die sich vor allem dadurch auszeichnen, dass sie wasserstabil sind und somit Analysen direkt aus einem Getränk ermöglichen. Das Filmmaterial setzt sich z. B. aus Polyethylenglycol zusammen. Bei der Auswahl, welche Säule für die aktuelle analytische Fragestellung auszuwählen ist, kann es durchaus hilfreich sein neben vorhandener Fachliteratur auch auf zahlreiche Applikationsbeispiele von Säulen- und Geräteherstellern zurückzugreifen. Typische Säulendimensionen sind 30–60 m, 0,25–0,32

mm Innendurchmesser (wide bore Säulen 0,5–1 mm) und Filmdicken von 0,1–0,5 µm.

Die Trennung des Stoffgemisches erfolgt im Zusammenspiel zwischen der Wechselwirkung Analyt und stationärer Phase und dem entsprechenden Temperaturprogramm im GC Ofen. Sowohl isotherme Anwendungen, als auch sehr komplexe Temperaturführungen finden ihre Verwendung und sind prinzipiell nur durch die maximale Betriebstemperatur der Trennsäule bzw. der minimalen Temperatur der Verdampfung der Analyten begrenzt. Wobei immer ein Kompromiss zwischen Analysenzeit, Trennschärfe und Auflösung gefunden werden muss.

Aus der Praxis sei beispielhaft eine etwas speziellere Trenntechnik, die so genannte „Säulenkondensation“ von Analyten genannt, die beispielsweise in der Aromaanalytik zur Trennung von hochkomplexen Substanzgemischen angewendet werden kann. Hierbei werden durch die Wahl der Temperaturführung im Säulenofen die Analyten zum Teil wieder auf der Trennsäule kondensiert und mit ansteigender Säulentemperatur gehen die Analyten wieder in die Gasphase über. Dieses Anwendungsbeispiel soll aufzeigen, dass es neben den Trenneffekten durch die unterschiedlichen Verdampfungseigenschaften im Injektor, sowie der anschließenden Wechselwirkung mit der stationären Phase der Säule und der Ofentemperatur, noch zahlreiche Möglichkeiten gibt, Analyten aus einem Stoffgemisch/Matrix zu trennen.

Der Trend in der modernen GC geht bereits seit geraumer Zeit in Richtung fast bzw. ultra-fast Anwendungen, bei denen z. B. ein klassisches Fettsäurespektrum innerhalb < 5 min mit hoher Auflösung und Trennschärfe analysiert wird. Die Technik findet auch im Bereich der Petrochemie oder auch in der Drogen- und Dopinganalytik Anwendung. Für solche Anwendungen sind

selbstverständlich spezielle Bauweisen des GC-Ofens als auch der Trennsäulen notwendig, um Aufheizraten im msec Bereich reproduzierbar zu gewährleisten [27].

Neben der klassischen GC, die bei Drucken im Bereich von 1,5–2 bar betrieben wird und nahezu in der gesamten chromatographischen Säule konstant ist, wird die low-pressure GC als Weiterentwicklung im Bereich der Pestizid Analytik beschrieben [14, 15]. Bei dieser GC-Variante werden zwei stark unterschiedliche Säulendurchmesser miteinander gekoppelt, wobei die erste so genannte Restriktionssäule einen Innendurchmesser von 0,18 mm aufweist und die zweite eigentliche Trennsäule einen Innendurchmesser von 0,53 mm besitzt und nur 15 m lang ist. Aufgrund der Differenz der Innendurchmesser, liegt der Druck in der zweiten Säule deutlich niedriger. Diese besondere Arbeitsweise führt zu signifikant kürzeren Laufzeiten – um ca. den Faktor 4 – und sehr stabilen Retentionszeiten, was es wiederum ermöglicht, die Auswertung stark zu automatisieren (s. Abschnitt 4.2.1.3.).

Detektoren

Das dritte Modul der Gaschromatographie ist der Detektor. Bei einem Blick in aktuelle Veröffentlichungen [6] oder Tagungsbänder [7, 8] könnte man den Eindruck gewinnen, dass selbst „single quad“ Massenspektrometer kaum noch Anwendung finden bzw. nicht mehr von Bedeutung sind. Klassische Detektoren wie ein FID (flame ionization detector) oder NPD, sind nahezu nicht mehr existent, wobei gerade der FID universell einsetzbar ist und direkte quantitative Signale liefert. Unbestritten ist, dass an ihre Stelle hochmoderne Massenspektrometer wie MSⁿ, TOF-MS oder Q-Trap (Ionenfalle) getreten sind, die in heutiger Zeit vor allem im Bereich der Spurenanalytik nicht mehr wegzudenken sind. Zudem zeichnet sich ein analytischer Trend, insbesondere in der Grundlagenforschung dahingehend ab, dass sich die Messung von der strengen Target Analytik hin zu non-targeting Techniken verlagern. Hierzu zählen die so genannten OMIC-Analysenstrategien (Metabolomics, Proteomics, ...) die zum Beispiel in der Feststellung der Authentizität von Lebensmitteln

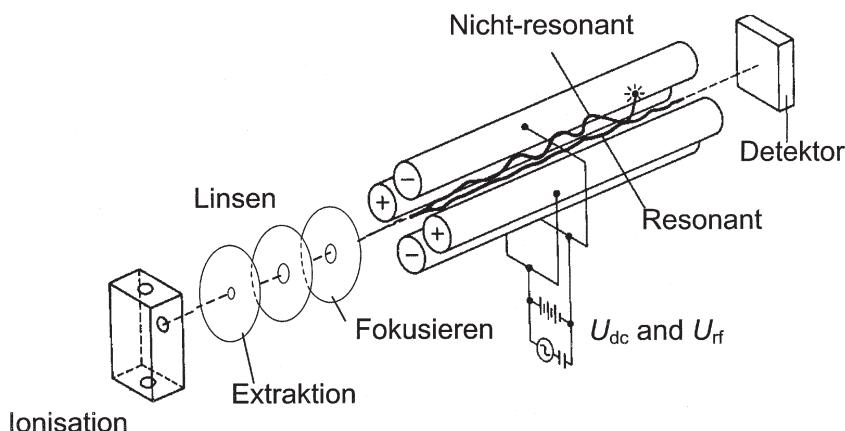


Abb. 4.2.1-3 Schematische Darstellung zum Aufbau eines Quadrupol-Massen-Spektrometers [25].

im Zusammenhang mit dem Problem von Food Fraud Anwendung finden und hochmoderne Messtechnik unabdingbar machen.

Dennoch finden klassische Detektoren wie beispielhaft der FID, ECD (electron capture detector) oder TCD (thermal conductivity detector) in vielen Routineaboren immer noch Anwendung. Sie sind robust, wartungsfreundlich und häufig gibt es auch keine analytische Notwendigkeit, extrem teure Detektoren für einfache analytische Fragestellungen wie beispielhaft für die Bestimmung einer Fettsäureverteilung, die Cholesterinbestimmung oder aber die Analyse von Alkohol/Gärungsnebenbestanteilen, zu verwenden.

An dieser Stelle soll kurz auf die grundlegende Technik der Massenspektrometrie am Beispiel eines single quad eingegangen werden.

Das Grundprinzip (s. Abb. 4.2.1-3) der massenspektroskopischen Detektion eines Analyten mit einem Quadrupol beruht auf der hochspezifischen Fragmentierung, die in der Regel durch Elektronenstoßionisation (EI bei 70 eV) erreicht wird. Anschließend werden die Molekülfragmente in einem elektrischen Feld eines Quadrupols entsprechend ihres Massen zu Ladungsverhältnis (m/z) auf einer stabilen Flugbahn im Hochvakuum selektiert und anschließend über den Sekundärelektronenvervielfacher (SEV), auch Multiplier genannt, nacheinander detektiert. Aufgrund der weltweit einheitlichen Fragmentierungsenergie bei der EI von 70 eV sind die Massenspektren vergleichbar und ermöglichen eine umfangreich abgleichbare Datenbank. Neben der EI gibt es noch die so genannte weiche, chemische Ionisation (CI), bei der das Analytmolekül nicht in spezifische Fragmente, sondern mittels eines Reaktandgases z. B. Methan oder aber auch Wasser, als ionisiertes Molekül erhalten bleibt.

Bei der Massenspektrometrie muss zwischen zwei Messtechniken, dem Full Scan (TIC, total ion chromatogram), bei dem alle m/z Fragmente im Messbereich registriert werden und dem SIM (selected ion monitoring), der Aufnahme ausgewählter charakteristischer m/z Massenfragmente, unterschieden werden. Der TIC liefert hierbei die gesamte Fragmentierungsinformation über den gesamten GC-Lauf, im SIM Modus ist dies eingeschränkt, ist dafür aber aufgrund der höheren Messzeit pro Ion (dwell time) um 10 bis 100fach empfindlicher.

Für die Peakidentifizierung unter Verwendung eines Massenspektrometers als Detektor gelten die gleichen „Grundregeln“ wie bei klassischen Detektoren: Retentionszeit, Signal/Noise-Verhältnis aber auch die Peakform. Zusätzlich müssen gemäß SANTE [9] die Ionenverhältnisse der charakteristischen m/z Fragmente im Vergleich zur Referenzsubstanz übereinstimmen. Einer der wichtigsten Entscheidungen bei der Massenspektrometrie ist hierbei die Auswahl der charakteristischen Massenfragmente, die weder durch coeluiierende Analyten, noch durch Matrix gestört sein dürfen. In der Praxis können die Selektivität und Sensitivität durch Derivatisierung deutlich erhöht werden. Als Beispiel seien hier die Pentafluorbenzylester von Phenoxykarbonsäuren im Bereich der quantitativen Analyse von Pflanzenschutzmittel erwähnt [10], wobei in diesem Fall neben der massenspektrometrischen Selektivität zusätzlich die Flüchtigkeit der Analyten und damit die gaschromatographische Eigenschaft deutlich erhöht wird. Mit modernen triple quad Massenspektrometern sind solche „analytischen Kniffe“ aufgrund der erhöhten Empfindlichkeit häufig nicht mehr notwendig. Das Beispiel soll aber dennoch zeigen, dass mit methodischen Strategien, wie einer zusätzlichen

Derivatisierung, das analytische Ergebnis deutlich verbessert werden kann.

Bei allen Modulen der Gaschromatographie, der Injektion, Säulenofen/Trennsäule und beim Detektionssystem gibt es zahlreiche Gerätevarianten, die nahezu alle miteinander kombinierbar sind und die Frage berechtigt ist, wie der Anwender die richtige Zusammenstellung findet. Dies hängt natürlich vor allem von der Ausstattung des Labors und der analytischen Fragestellung ab. An dieser Stelle muss auch deutlich zwischen Routine Laboranalytik, die in der Regel auf offizielle Methodennormen, wie DIN, ASU, AOAC oder IFU zurückgreifen und zwischen Methodenentwicklungen zur Bestimmung von Analyten und der Verbesserung analytischer Verfahren im Bereich der Forschung differenziert werden. Nicht zuletzt ist bei jeder neuen Fragestellung, insbesondere im Forschungsbereich die Fachkenntnis des Analytikers gefragt.

Abschließend soll im Teil der Grundlagen noch eine aktuelle Entwicklung in der Anwendung der GC aufgegriffen werden. Die eigentliche Zielstellung der Chromatographie allgemein besteht darin, eine möglichst gute Trennung/Auflösung von zwei und mehr Peaks zu erhalten, die von störender Matrix abgetrennt sind und mit einem ausreichenden Signal/Rauschverhältnis, entsprechend einer möglichst geringen Bestimmungsgrenze detektiert werden können. Die Abtrennung von der Matrix und die Auf trennung von Stoffgemischen wird heutzutage, sicher aber auch zukünftig, immer mehr durch die Anwendung hochmoderner Massenspektrometer zurückgedrängt. Aufgrund der Leistungsfähigkeit – Massenauflösung und Geschwindigkeit der Datenaufnahme – ist es „beinahe“ möglich auf vorgeschaltete Trenntechniken zu verzichten. Diese Aussage ist sicher provokant, aber der Trend lässt sich bereits ablesen [7, 11]. So

werden heutzutage polare Pestizide (QuPPe, EURL-SRM, M 1.3) nur noch mit angesäuertem Methanol 1:1 verdünnt und direkt gemessen, ohne dass der Extrakt einer weiteren Aufreinigung unterzogen wird.

Beachtet werden sollte jedoch, dass nicht nur aufgrund der hohen Investitions-, Wartungs- und Instandhaltungskosten moderner Massenspektrometer, es auch sicher nicht immer sinnvoll ist, für jede analytische Fragestellung „mit Kanonen auf Spatzen zu schießen“ und klassische bewährte Methoden zu ersetzen.

4.2.1.2 Gaschromatographie im Routinelabor

Eine wichtige Fragestellung in der Analytik ist sicher die, wo wird welche Messtechnik und mit welchem Ziel eingesetzt bzw. gebraucht. Das Anwendungsbereich der Methoden reicht von der einfachen Extraktbestimmung am Weinberg mit einem Handrefraktometer, mit dem effektiv und schnell der Zuckergehalt der Trauben bestimmt werden kann, bis hin zu hochkomplexen instrumentell basierten Analysen in dafür spezialisierten Laboren.

Die Anwendungsfelder reichen vom universitären Umfeld und der Grundlagenforschung über staatliche Überwachungsbehörden, wie beispielsweise die Lebensmittelüberwachung [2], Zollbehörden, oder Polizei und Feuerwehr [12], private Auftragslabore, medizinische Diagnostik, Analytik im Pharmabereich aber auch zentrale Betriebslabore in Fabriken, bis hin zu GC-MS Systemen, die im Weltall eingesetzt werden [13]. Jedes der genannten Anwendungsgebiete hat zwar das Ziel einer Qualifizierung und/oder Quantifizierung von Analyten, aber natürlich ganz unterschiedliche Anforderungen an die GC, GC-MS und an das personelle Know-how.

4 Chromatographische Methoden und fortschrittliche Kopplungen

Ein Blick in typische Betriebslabore in der Lebensmittelindustrie zeigt, dass dort in nur wenigen Fällen der Bedarf an GC, GC-MS besteht und auch allein aufgrund der Praktikabilität auf einfache Analysen zurückgegriffen wird. So reichen hier neben der sensorischen Beurteilung z. B. refraktometrische Messungen, die Bestimmung des pH-Wertes oder des Säuregehaltes in Getränke produzierenden Betrieben bereits zur einfachen Prozess- und Qualitätskontrolle im ersten Schritt häufig aus. Zentrale Betriebslabore hingegen haben durchaus zur internen Qualitätskontrolle GC Systeme vor Ort. Aufwendige GC-MS/MS Analysen werden jedoch häufig extern vergeben, weil die Probenanzahl für eine ausreichend ökonomische Auslastung oftmals nicht ausreicht, aber nicht zuletzt auch, weil Betriebslabore üblicherweise nicht nach DIN EN ISO/IEC 17025 akkreditiert sind, was insbesondere bei Rechtsstreitigkeiten von Bedeutung sein kann.

Ein Beispiel ganz anderer Art wurde kürzlich in der Nachrichten aus der Chemie publiziert [24], bei dem ein multidimensionales Prozess-GC-MS System direkt in einem Kraftstoff produzierenden Betrieb entwickelt und installiert wurde. Hierbei handelt es sich um ein hochkomplex verschaltetes modulares System, das die unterschiedlichsten Injektions-, Trenn- und Detektionsvarianten kombiniert, um Analysenergebnisse möglichst direkt aus dem Prozess der Kraftstoffherstellung online zu erhalten und entsprechend gegebenenfalls zeitnah reagieren und nachsteuern zu können. Die Kopplung verschiedener GC Systeme zur Analyse von hochkomplexen Stoffgemischen ist eine Entwicklungsrichtung, die in großen Routine-laboratorien zum Teil schon Eingang gefunden haben – mehrdimensionale GC im Bereich der Aromaanalytik oder LC-GC Kopplung zur Bestimmung von Mineralölkohlenwasserstoffen (MOSH/MOAH).

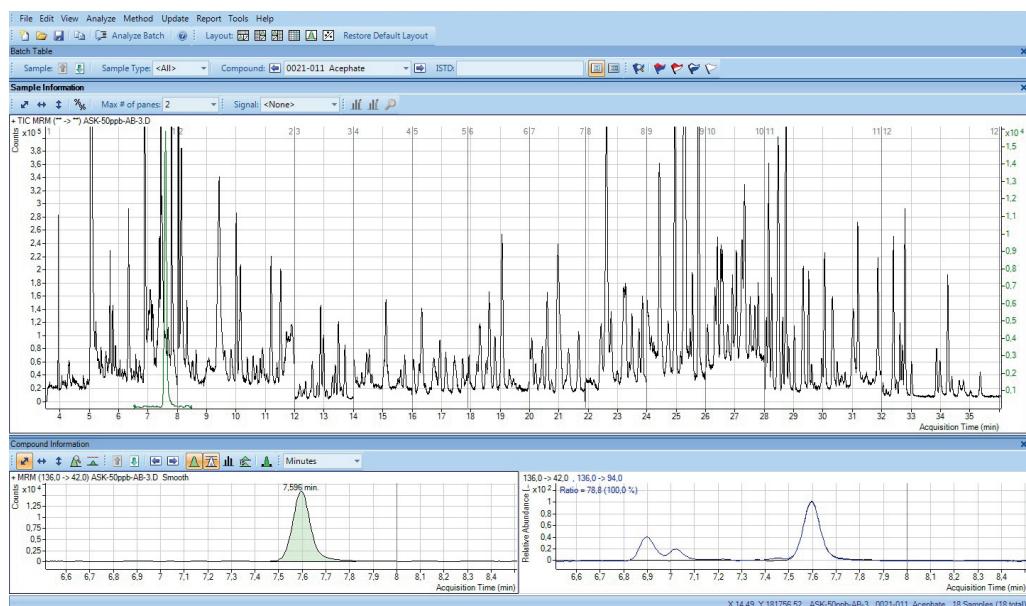


Abb. 4.2.1-4 Beispielchromatogramm Pestizid Multi-Screening mit zwei Massenübergängen.

Nachfolgend sollen exemplarisch einige typische Anwendungsbereiche der Gaschromatographie an ausgewählten Beispielen für ein Routineelabor aufgezeigt werden.

Ein komplexes, sehr anspruchsvolles und bedeutendes Einsatzgebiet der GC ist die Rückstandsanalytik, wobei hier neben zahlreichen Spezialmethoden wie z. B. die Bestimmung von Organozinn-Verbindungen (DFG-S24), Dithiocarbamaten (DFG-S15), die Screening-Multimethoden (ASU L 00.00-34, DFG S-19 und ASU L 00.00-115/1, QuEChERS) immer noch im Fokus stehen. Hierbei werden Pflanzenschutzmittelrückstände mittels flüssig/flüssig Extraktion aus dem Lebensmittel isoliert, die Extrakte aufgereinigt und via GC-MS/MS gemessen. Ein Beispielchromatogramm ist in Abbildung 4.2.1-4 dargestellt, aus dem die Komplexität einer Multi-Screening Methode mit zahlreichen Signalen verdeutlicht wird.

Mit der Einführung der GC-MS/MS Messtechnik und der daraus deutlich erhöhten Sensitivität und Selektivität wurden die modularen Techniken einzelner Säulenfraktionen mit anschließender GC-MS, GC-ECD, GC-NPD Messung weitgehend abgelöst. Aber selbst mit hochauflösenden GC-MS/MS Massenspektrometern sind, wie bereits in vorangestellten Abschnitten angeführt, Matrixeinflüsse immer noch eine der größten Herausforderungen in der quantitativen Analyse. Diese beeinflussen auf unterschiedlichste Weise die Bestimmung, was mit der Störung bei der Injektion beginnt und bis zu negativen Einflüssen auf die Ionisierung im Massenspektrometer reicht. Letztendlich kann es dazu führen, dass der Analyt gar nicht mehr, oder nur noch mit einer sehr hohen Bestimmungsgrenze, bzw. einer sehr schlechten Wiederfindung, detektiert werden kann. Moderne Massenspektrometer sind zwar so empfindlich, dass gesetzliche Grenzwerte in den meisten Fällen

analytisch kein Problem mehr darstellen und der gewonnene Extrakt direkt – „dilute and shoot“ – gemessen werden könnte. Durch die hohe Matrixfracht können jedoch Störmassen auftreten und vor allem Verunreinigungen ins Messsystem gelangen, die die Performance verringert und die Standzeiten deutlich reduziert. Da insbesondere bei Massenspektrometern die Reinigung oftmals eine Belüftung des Systems mit anschließender Evakuierung und Neukalibrierung nach sich zieht, sollten solche Messzeitausfälle auf ein Minimalmaß reduziert werden. Aus diesen Gründen kann auf eine vorgeschaltete Extraktreinigung, insbesondere bei der GC, auch heute immer noch nicht verzichtet werden.

In der Praxis gibt es zahlreiche Varianten zur Matrixabtrennung, von denen im Abschnitt 4.2.1.3 neben einer vollautomatischen Lösung über die Gelpermeation eine alternative Methode über Festphasenextraktion (SPE, Solid Phase Extraktion) beschrieben wird.

Ein weiterer Anwendungsbereich der GC ist die Aromaanalytik. Hier ergeben sich in der Praxis zahlreiche Fragestellungen, beginnend mit der Authentizität von Aromastoffen, über den Nachweis fruchtfreiem Aromastoffe, bis hin zur Fragestellung der Rearomatisierung von Fruchtsäften aus Fruchtsaftkonzentraten [16, 17]. Weiterhin wird beispielsweise die Enantiomerenverteilung von α -Ionon zur Fruchtidentifikation von Himbeererzeugnissen herangezogen, wobei in diesem Fall das R-Enantiomer deutlich im Überschuss vorkommt. Die Bestimmung der γ - und δ -Lactone sind für viele Früchte ebenfalls sehr charakteristisch, so z. B. liegt natürlicherweise das γ -Decalacton in der Aprikose in einem R/S Enantiomerenverhältnis von 93/7 % vor. So kann nicht nur über abweichende Enantiomerenverteilungen Fremdfrucht nachgewiesen werden,

sondern auch über die Anwesenheit von synthetischen Lactonen, die üblicherweise als Racemat (R/S Verhältnis 50:50) vorkommen [18].

In den wenigsten Fällen werden Aromastoffe direkt aus der Probe bestimmt, weil auch hier Matrixeinflüsse die Detektion stören. Daher werden im Bereich Fruchtsaft Aromastoffe auf verschiedenste Weise aus der Probe extrahiert, z. B. mit der SDE (Simultane Wasserdampfdestillation und Extraktion) und via GC-MS analysiert (ASU L 00.00-106). Am Beispiel dieser Routineanalytik soll kurz auf die Problematik der Analytdiskriminierung eingegangen werden. Bei Multimethoden, bei denen also eine Vielzahl an chemisch unterschiedlichen Analyten erfasst werden soll (Pestizide, Aromastoffe), wird durch die Wahl der Extraktionsmethode nicht nur die Matrixabtrennung, sondern auch immer der Umfang der Analyten beeinflusst. Auf dem Gebiet der Aromaanalytik müssen unterschiedliche Aufarbeitungsschritte für leichtflüchtige Verbindungen und für schwerflüchtige Aromastoffe gewählt werden. So trivial sich dies anhört, besteht aber gerade im Zusammenspiel der optimalen Auswahl der Extraktionsmethode und der Messmethode mit der richtigen chromatographischen Säule die Herausforderung für den Analytiker, um die analytische Fragestellung bestmöglich beantworten zu können. Wobei es durchaus sein kann, dass je komplexer die Fragestellung ist, mehrere Extraktionsvarianten und Detektionsmethoden durchgeführt werden müssen. Zur Aromaextraktion hat sich die SDE als eine robuste und für ein breites Spektrum an Aromastoffen geeignete Methode etabliert. Im Prinzip handelt es sich um ein Destillationssystem, bei dem im Gasraum eine Wasserdampfphase und eine Lösemittelphase (Diethylether/Pentan) zusammengeführt werden. Aromastoffe, die sich durch Sieden in der Wasserdampfphase

befinden, werden je nach Löslichkeit in die organische Phase überführt und auf diese Weise extrahiert. Dieser Extrakt kann direkt, oder nach Konzentrierung an einer Vigreux Kolonne mittels GC-MS gemessen werden. Neben den „klassischen“ GC Säulen, werden insbesondere in der Aromaanalytik auch chirale Trennsäulen (z. B. Cyclodextrin-Phasen, 60m x 0.25 mm, 0.25 µm film) eingesetzt, mit denen auch die Bestimmung der Enantiomerenverteilung von Aromastoffen möglich ist und somit Rückschlüsse auf eventuelle Verfälschungen gezogen werden können [22]. Insbesondere im Bereich der Aromaerforschung werden zudem mehrdimensionale GCxGC Systeme, aber auch die GC-Olfaktometrie eingesetzt, die an dieser Stelle nur erwähnt, im Kapitel 4.2.4 des Buches ausführlich betrachtet werden soll.

Die Authentizitätskontrolle gewinnt unter den Anforderungen von internationalen Standards wie beispielhaft dem IFS (International Food Standard) und für den Verbraucher eine immer größere Bedeutung. Neben den im Bereich der Aromaanalytik eingesetzten GC-Methoden, sollen nachfolgend noch weitere Anwendungen der Gaschromatographie kurz vorgestellt werden. Die Analyse von Gärungsnebenbestandteilen/Aromastoffen als auch der Nachweis/die Abwesenheit von der Vergällungssubstanz Methylethylketon mittels GC-FID ermöglichen zum Beispiel die Überprüfung der Authentizität von Spirituosen. So ist der Gehalt an Benzaldehyd für Amaretto und Carvon für Aquavit und Kümmel charakteristisch. Darüber hinaus weist jede Spirituose unterschiedliche Gehalte und Verhältnisse von z. B. 2- und 3-Methylbutanol sowie weiterer Alkohole auf, die ebenfalls zur Authentitäts- und Qualitätsbeurteilung herangezogen werden. Der Nachweis eines Zuckerzusatz kann neben der Stabilisotopenanalyse (s. auch Kapitel 3.2) auch über die

so genannte Low-GC Methode (IFU Rec 4) erfolgen, wobei die über Transglycosidierung bei der Invertzuckerherstellung erzeugten Diglycoside als Markersubstanzen spezifisch für Invertzuckersirup nach Derivatisierung mittels GC-FID nachgewiesen werden können. Auch die klassische Methode der Fettsäureverteilung (ASU 23.04-1 II/4) erfolgt nach Derivatisierung mit alkalischer Methyllierung (MeOH/KOH) mittels GC-FID. Sie ist neben der Bestimmung des Anteils an gesättigten Fettsäuren, die für die Angabe der Nährwertkennzeichnung gemäß LMIV benötigt wird, auch zur Fettidentifikation und damit ebenfalls zur Authentizitätskontrolle eine durchaus bedeutende Methode. Alternative Derivatisierungen wie z. B. die TMSH-Methode werden heutzutage oftmals in Kombination mit automatisierten Probengebern, siehe Abschnitt 4.2.1.3., angewendet.

Ein weiteres aktuelles Anwendungsbeispiel ist die zur Authentizitätskontrolle von Olivenöl und Honig im Bereich der anwendungsorientierten Forschung eine Kopplungstechnik von Headspace-Gas-chromatographie und Ionenmobilitäts-Massenspektrometrie (HS-GC-IMS Headspace) [19]. Diese 2-D-Trenntechnik, bei der Ionen in einer sogenannten Driftzelle in der Gasphase entlang eines elektrischen Feldes wandern und nach Größe, Form und Ladung getrennt werden, kann einen bedeutsamen Beitrag in diesem analytischen Umfeld leisten.

4.2.1.3 Automatisierung

Es gibt mehrere Gründe automatisierte Prozessschritte in einen Analysengang zu implementieren. Selbstständig arbeitende Systeme sind in der Regel reproduzierbarer und zudem kosteneffizienter. Hierbei dürfen jedoch trotz bzw. gerade wegen einem hohen apparativen Einsatz qualitätssichernde

Maßnahmen (siehe hierzu Abschnitt 4.2.1.4) nicht vernachlässigt werden. Wo beginnt die Automatisierung, wo hört sie auf? Im medizinischen Bereich, wie beispielhaft bei der „Blutbildanalyse“, kommen Analysenstraßen von mehreren 10 Meter Länge zum Einsatz, bei denen nur noch barcodierte Probenröhrchen dem System zugeführt werden müssen und sämtliche nachfolgende Schritte vom zentrifugieren, homogenisieren, aliquotieren bis hin zu den verschiedenen Messtechniken, vollautomatisch ablaufen. In der Lebensmittelanalytik sind solche Analysenstraßen kaum bzw. nicht im Einsatz, weil oftmals die Matrices zu verschieden sind, die Probenanzahl nicht die Dimensionen erreicht, die im klinischen Bereich vorliegen und sich damit letztendlich auch die hohen Investitionskosten wirtschaftlich nicht darstellen lassen.

Im Bereich GC haben rückblickend viele Laboranten und Studenten noch an GC-Systemen gelernt und gearbeitet, die keinen Autosampler besaßen und stattdessen eine Handinjektion durchgeführt wurde, was heutzutage kaum noch vorstellbar ist. Automatische Probenerkennung über Barcode-scanner, die gleichzeitig die gewünschte Messmethode hinterlegt haben, sind in Routinelaboren schon im Einsatz. Automatisierungsritte sind an dieser Stelle jedoch nicht allein auf den rein vollautomatisierten apparativen Einsatz beschränkt, sondern können auch in ganz kleinen, effizienz-steigernden Maßnahmen liegen. Beispielsweise kann der Einsatz einer Schüttelmaschine dem Mitarbeiter die händische Arbeit bei einem Extraktionsschritt erleichtern oder die Anwendung von Multipipetten, wie sie in der Bioanalytik etabliert sind, den Labormitarbeiter bei seiner tagtäglichen Arbeit unterstützen.

Auf den Bereich der GC bezogen, können solch kleine Schritte beispielhaft darin bestehen, dass anstatt der üblichen händischen

Septumerneuerung am Injektor, septumfreie Aufgabesysteme verwendet werden. Diese reduzieren nicht nur den zeitlichen Aufwand beim klassischen Septumwechsel, sondern erhöhen durchaus auch die Reproduzierbarkeit, weil sie die Tendenz der Undichtigkeit mit zunehmender Injektionszahl nicht bzw. erst sehr viel später aufweisen.

Ein deutlich höherer apparativer Aufwand wird bei einem automatischen Linerwechselsystem benötigt, der mit einem xyz-Autosampler realisiert wird und somit eine 24-Stunden-Arbeitsweise ohne personellen Eingriff ermöglicht. Ein typisches Beispiel

für einen mehrdimensionalen Autosampler ist in Abbildung 4.2.1-5 dargestellt, wobei die genannten Funktionen nur beispielhaft sind. Mit solchen Systemen können vollautomatische Probenvorbereitungen, Derivatisierungen, Kalibrierungen/Verdünnungsschritte durchgeführt werden. Ein zusätzlicher, herausragender Vorteil automatisierter Probenvorbereitungsschritte ist auch die Tatsache, dass die Arbeitsschritte zeitlich verschachtelt und damit unter Umständen in Summe deutlich schneller abgearbeitet werden können.

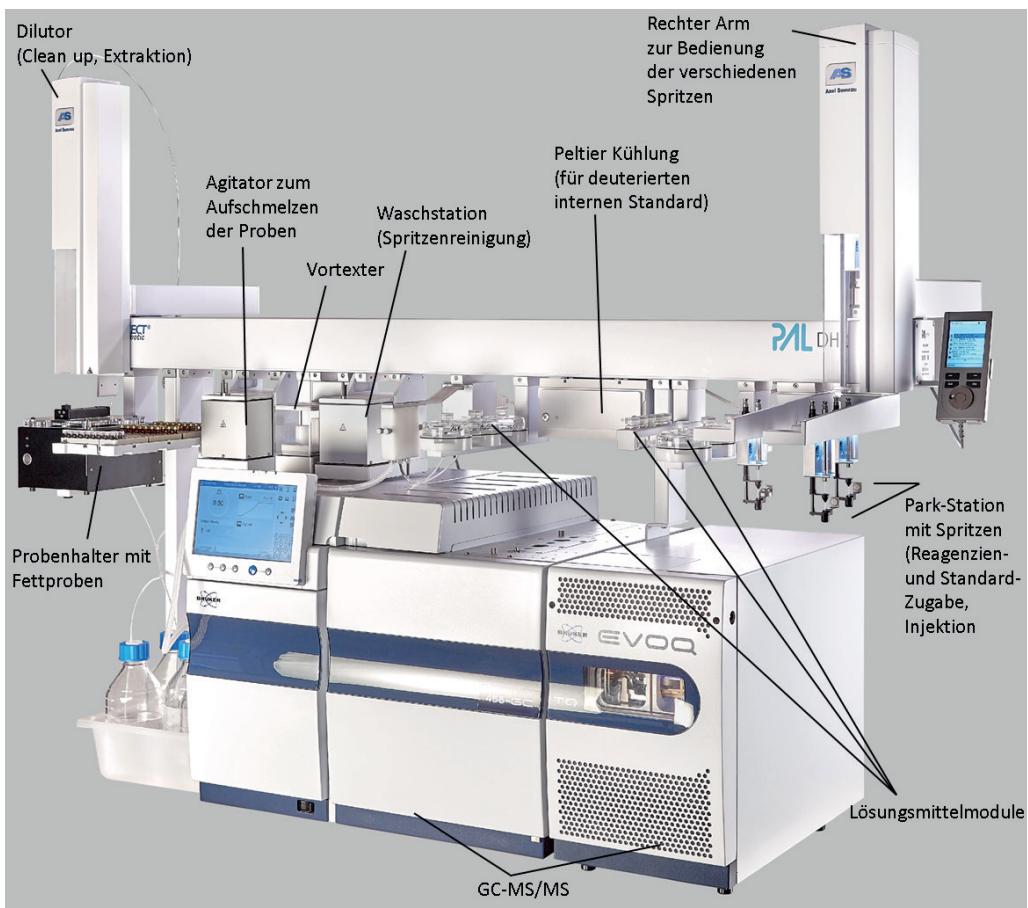


Abb. 4.2.1-5 XYZ-automatisiertes Probenvorbereitungssystem, Axel Semrau GmbH & Co. KG.

Eine alternative Methode der Probenaufarbeitung für GC-MS Pestizid Analysen ist in Abbildung 4.2.1-6 dargestellt. Hierbei wird der Rohextrakt über eine Gelpermeationssäule vorgereinigt und kann anschließend automatisch wahlweise aufkonzentriert, aliquotiert oder aber auch das Lösungsmittel in einer Vakuumverdampfungskammer gewechselt werden. Dies wird beispielsweise in der Praxis, mit dem Ziel die analytische Säule zu schonen, genutzt, indem ein QuEChERS Acetonitril Extrakt in Ethylacetat/Cyclohexan umgelöst wird.

Darüber hinaus bieten solche Probenvorbereitungssysteme die Möglichkeit, verschiedenste SPE Aufarbeitungsschritte durchzuführen. Ein 24-Stunden-Betrieb ist hierbei selbstverständlich. Viele andere,

nicht zwingend automatisierte Prozesse, können darüber hinaus den zeitlichen Personaleinsatz einsparen. Hierbei muss insbesondere bei der GC-MS auf Wartungs- und damit Stand- und Ausfallzeiten hingewiesen werden. Je matrixärmer der zu messende Extrakt, umso weniger Störeffekte treten auf und weniger Verunreinigungen gelangen in das gesamte Messsystem. Neben den erwähnten, zum Teil recht aufwendigen Extraktreinigungsschritten, können auch so genannte Säulenrückspülungssysteme im GC, spezielle Säulenschaltungen, aber auch neue Geometrien im Massenspektrometer dazu führen, dass weniger Störmatrix das System belastet bzw. an geeigneter Stelle abgeleitet werden. In der Summe kann auch dies die Effektivität enorm steigern.



Abb. 4.2.1-6 Probenvorbereitungsplattform PrepLinc, mit automatisierter Gelpermeationschromatografie (GPC), Festphasenextraktion (SPE) und Probenkonzentration. ANTEC GmbH, Sindelfingen.

4.2.1.4 Qualitätssicherung

Im nachfolgenden Abschnitt sollen nicht die theoretischen Grundlagen der Qualitäts- sicherung [20] diskutiert werden, sondern Fallbeispiele und evtl. Stolpersteine aus der täglichen Praxis exemplarisch beschrieben werden.

Nachdem für eine analytische Fragestellung die geeigneten chromatographischen Bedingungen in Kombination mit einem Detektor- system im Hinblick auf die geforderte Selektivität und Sensitivität evaluiert wurden, muss eine Methode heutzutage gerade im Bereich der Auftragsanalytik nicht nur schnell und kosteneffizient sein, sondern selbstverständlich auch immer „sichere Ergebnisse“ liefern. Zwischen diesen Bedingungen muss die richtige Balance gefunden werden. Die beiden Punkte „schnell“ und „kosteneffizient“ werden bereits während der Methodenentwicklung, bzw. der Methodenoptimierung im Rahmen des kontinuierlichen Verbesserungsprozesses, durch z. B. den Einsatz von automatisierten Probenvorbereitungsschritten, berücksichtigt.

Hierbei muss immer das analytisch richtige/ genaue Ergebnis an oberster Stelle stehen, wobei die Genauigkeit (accuracy) einer Messung/Methode sich aus der Präzision (precision) und Richtigkeit (trueness) zusammensetzt [20]. Die Präzision einer Messung ist umso größer, je geringer die Streuung ist. Die Richtigkeit ergibt sich im Vergleich und Übereinstimmung mit einem Zielwert, wie z. B. über die Messung von zertifiziertem Referenzmaterial oder der Teilnahme an Ringversuchen. Die Genauigkeit muss im Routinebetrieb (innerhalb der Forschung, oder im Bereich der Auftragsanalytik) fort- dauernd überprüft und dokumentiert werden. Dies gelingt nur, wenn die Schwachstellen, oder in Anlehnung an das HACCP Konzept aus der Lebensmittelproduktion [21], die kritischen Kontrollpunkte des

gesamten Analysenganges bekannt und entsprechende Kontrollmaßnahmen definiert sind. Die Vorgehensweise und die Kontrolltiefe, eine Methode im täglichen Gebrauch zu überwachen, ist sehr unterschiedlich, sollte sich jedoch immer an einem risiko- basierten Qualitätsmanagement orientieren. Diese Aussagen sind auf den ersten Blick ziemlich abstrakt und sollen im Folgenden an praktischen Beispielen erörtert werden.

Die gaschromatographische Bestimmung des Methanolgehaltes in Erfrischungsgetränken wird zur Dosageüberprüfung des Kaltentkeimungsmittels Dimethyldicarbonat (Velcorin®) angewendet. Hierbei handelt es sich um einen Zusatzstoff, der gemäß VO (EG) 1333/2008 mit einer Höchstmenge von 250 mg/l für beispielsweise die erwähnten Erfrischungsgetränke geregelt ist. Die Besonderheit besteht darin, dass Dimethyldicarbonat (DMDC) in Kontakt mit Wasser sofort zu Methanol und CO₂ zerfällt und selbst nicht mehr im Produkt nachweisbar ist. In Anwesenheit von Methanol reagiert DMDC jedoch auch zu Dimethylcarbonat (DMC) und in Anwesenheit von Ethanol zu Ethylmethylcarbonat (EMC). Der analytische Nachweis einer Velcorin Anwendung kann somit über die Abbauprodukte DMC, EMC erfolgen [26]. Auch die Bestimmung des Methanolgehaltes, insbesondere im verarbeitenden Betrieb, kann als „einfache“ Messgröße herangezogen werden. Auf den ersten Blick erscheint die Messung recht simpel, betrachtet man jedoch die Tragweite einer evtl. Unterdosierung und damit einer nicht ausreichenden Entkeimung, oder aber eine Überdosierung und damit einer Höchstmengeüberschreitung, erhält die Qualitätskontrolle eine deutlich höhere Bedeutung. Nicht zu vernachlässigen ist hierbei die Tatsache, dass eine nicht optimale Dosage auch einen finanziellen Verlust bedeutet.

Wie lässt sich nun die Qualität/Genauigkeit der Messung überprüfen? Reicht es aus, das eigentliche Messgerät, den Gaschromatograph, einmal im Jahr vom Service warten und überprüfen zu lassen? Was ist in diesem Fall mit den Messungen zwischen den Serviceintervallen? Was passiert, wenn innerhalb einer Wartung festgestellt wird, das Gerät hat einen Fehler? Welche zurückliegenden Messungen sind hiervon betroffen? Anhand dieses kleinen Gedankenspiels ist erkennbar, dass die jährliche Wartung sicher nicht ausreichend sein kann. Zur täglichen Kontrolle kann eine Kalibrierung durchgeführt werden. Woran erkennt der Anwender, dass die Standards richtig verdünnt und gemessen wurden? Ein weiteres bewährtes Kontrollmittel ist die Messung von Referenzmaterial, welches für zahlreiche Messmethoden käuflich zu erwerben ist und einen definierten Zielwert mit der entsprechenden Messtoleranz aufweist. Über den Abgleich des eigenen Messwertes mit dem Referenzwert kann die Genauigkeit der Methode überprüft werden. Die Reproduzierbarkeit einer Methode kann ebenfalls mit einem Referenzmaterial überprüft werden, welches an verschiedenen Tagen von verschiedenen Personen bei der Routinearbeit mitgemessen wird. Die Messwerte werden in einer Qualitätsregelkarte dokumentiert und gemäß NordTest TR 569 [20] überprüft. Anhand von Regelkarten lassen sich sehr schnell so genannte Außer-Kontroll-Situationen erkennen, bspw. Messwert außerhalb der Kontrollgrenze (3x Standardabweichung), 2 von 3 aufeinanderfolgende Werte oberhalb der Warngrenze (2x Standardabweichung), 7 aufeinanderfolgende Werte stetig steigend oder fallend. Bei Auftreten von Außer-Kontroll-Situationen muss die Qualitätssicherung den Ursachen nachgehen und gegebenenfalls Korrekturmaßnahmen einleiten. Diese kann von der Veranlassungen einer Wiederholungsmessung, über

eine frisch angesetzte Kalibrierung, bis hin zur Sperrung der Methode führen. In jedem Fall muss jedoch sichergestellt werden, dass kein Wert das Labor verlässt, welcher unter Außer-Kontroll-Situation gemessen wurde.

Zurückkommend auf die gaschromatographische Bestimmung des Methanolgehaltes kann über den Einsatz von Referenzmaterial und führen einer Regelkarte die Methode tagaktuell kontrolliert werden. Diese Qualität sichernde Maßnahme lässt sich auf sehr viele Methoden auch im Bereich GC und GC-MS anwenden.

Als externes Überprüfungstool eignet sich zusätzlich die Teilnahme an Ringversuchen, die für akkreditierte Analysenlabore gemäß DIN EN ISO/IEC 17025 vorgeschrieben sind.

Bezogen auf die gaschromatographische Analyse, stellt sich nicht selten die analytische Frage, ob es sich bei dem registrierten Peak wirklich um den zu bestimmten Analyten handelt, oder um eine andere coelzierende Substanz. Neben dem Abgleich der Retentionszeit, können auch relative Retentionszeiten zur Peakzuordnung herangezogen werden. Bei der Verwendung eines Massenspektrometers ist das Spektrum bzw. die Ionenverhältnisse ausschlaggebend. Zur Absicherung von unklaren Befunden wird auch eine zweite chromatographische Säule mit anderen Trenneigenschaften, und/oder einem zweiten Detektor herangezogen. Ein ebenfalls probates Mittel zur Befundabsicherung ist die Dotierung des Analyten in die Messlösung. Hierbei kommt es entweder zu einem Signalanstieg oder zu einem Zusatzpeak bzw. einer Peakschulter. Eine weitere Absicherungsvariante, vor allem für eine quantitative Bestimmung, ist das Standardadditionsverfahren, bei dem der Analyt in verschiedenen Konzentrationen vor der Probenaufarbeitung zugesetzt wird und somit

den gesamten Analysengang mit allen evtl. Störmatrixeinflüssen ebenfalls durchläuft.

Für eine effektive Methodenkontrolle ist auch der Einsatz von einem oder mehreren sogenannten Surrogate-Standards [10] üblich. Diese zusätzliche QS Anwendung kann vor allem bei Methoden mit einer mehrstufigen Probenaufarbeitung und aufwendiger Messtechnik, wie beispielhaft im Bereich der Aromaaanalytik (s. auch Abschnitt 4.2.1.2) oder der Rückstandsanalytik sinnvoll sein. Bei einem Surrogate-Standard handelt es sich, vergleichbar mit einem internen Standard, um eine Substanz, die selbst nicht im Analysenspektrum enthalten ist, dennoch vergleichbare chemische Eigenschaften aufweist und sich daher möglichst vergleichbar wie die Analytmoleküle während der Probenaufarbeitung und der Chromatographie verhält. Bei hochkomplexen Substanzgemischen kann es durchaus sinnvoll sein, mehrere Surrogate Standards so auszuwählen, dass diese im Chromatogramm im vorderen, mittleren und hinteren Retentionsbereich eluieren. Der Surrogate-Standard dient jedoch in erster Linie zur Überprüfung der Wiederfindung und somit zur möglichen Identifikation von Fehlern in Teilausschnitten

oder im gesamten Analysengang. Am praktischen Beispiel bedeutet dies, dass der Surrogate, welcher zu Beginn der Probenaufarbeitung dotiert wird, die gesamte Methode durchläuft, ein zweiter Surrogate, dotiert erst vor dem chromatographischen Schritt, nur den zweiten Analysengang. Diese Vorgehensweise lohnt sich jedoch nur bei sehr aufwendigen Probenaufarbeitungen.

Zuletzt sei noch die Verwendung von Isotopen markierten Standards als die bestmögliche Quantifizierungsvariante genannt. Meist sind Sie jedoch sehr teuer oder müssen gar extra synthetisiert werden und sind daher nicht in der Breite im Einsatz. Ein Beispiel aus der Praxis sei mit der Verwendung von D6-Benzol als interner Standard zur Benzolbestimmung (DIN EN ISO 38407/9-4) in Erfrischungsgetränken genannt.

Sehr einfache QS-Maßnahmen, wie die Verwendung von Referenzmaterial, können bereits einen großen Beitrag auf dem Weg zu „sicheren“ Analysenergebnissen liefern. Welche weiterführenden Maßnahmen und in welchem Umfang zur Kontrolle von Methoden noch angewendet werden, kann nur erfolgen, wenn der Anwender die kritischen Kontrollpunkte der Methode kennt.

Literatur

- [1] Skoog, D. A.; Leary, J.J.: Instrumentelle Analytik. Springer-Verlag, 1996.
- [2] Wittkowski, R.; Matissek, R.: Capillary Gas Chromatography in Food Control and Research. Behr's Verlag, 1992.
- [3] Hübschmann, H.-J.: Handbuch der GC/MS. VCH Verlagsgesellschaft mbH, 1996.
- [4] Gross, H. J.: Mass Spectrometry. Springer-Verlag, 2011.
- [5] McLafferty, F. W.; Turecek, F.: Interpretation von Massenspektren. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, 1995.
- [6] Krätschmer, K.; Cojocariu, C.; Schächtele, A.; Malisch, R.; Vetter, W.: Chlorinated paraffin analysis by gas chromatography Orbitrap ultra-high resolution mass spectrometry: Method performance, investigation of possible interferences and analysis of fish samples. *J Chromatogr A*, 2018, 1539, 53-61.
- [7] Pulkrabová, J.; Tomaniová, M.; Nielen, M.; Hajslová, J.: Book of Abstracts, 7th International Symposium on RECENT ADVANCES IN FOOD ANALYSIS. UCT Prague Press, 2015.
- [8] Pulkrabová, J.; Tomaniová, M.; Nielen, M.; Hajslová, J.: Book of Abstracts, 8th International Symposium on RECENT ADVANCES IN FOOD ANALYSIS. UCT Prague Press, 2017.
- [9] Guidance Document on Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues and Analysis in Food and Feed. European Commission, SANTE/11813/2017.
- [10] Heberer, TH.: Identifizierung und Quantifizierung von Pestizidrückständen und Umweltkontaminanten in Grund- und Oberflächenwässern mittels Kapillargas-chromatographie-Massenspektrometrie, Dissertation, Technische Universität Berlin, 1995.
- [11] 12th European Pesticide Residue Workshop (EPRW), Munich, 2018.
- [12] Schillings, A.: Weitbereichsverfahren mit Gaschromatograph-Massenspektrometer zur schnellen Vor-Ort-Analyse von Gefahrstoffen. VDI Verlag GmbH, Düsseldorf, 2002.
- [13] Schurig, V.: Enantiomere auf Mars, Monden und Kometen. Nachrichten aus der Chemie, 2015, 660-664.
- [14] Lehotay, S. J.; Han, L.; Sapozhnikova, Y.: Automated Mini-Column Solid-Phase Extraction Cleanup for High-Throughput Analysis of Chemical Contaminants in Foods by Low-Pressure Gas Chromatography – Tandem Mass Spectrometry. *Chromatographia*, 2016, 1113-1130.
- [15] Koesukwiwat, U.; Lehotay, S. J.; Leepipatpiboon, N.: Fast, Low-Pressure Gas Chromatography Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry for Analysis of 150 Pesticide Residues in Fruits and Vegetables. *J Chromatogr A*, 2011, 1218 (39), 7039-7050.
- [16] Datensammlung zur Bestimmung von Beurteilungskriterien für die Rearomatisierung von Apfelsaft aus Apfelsaftkonzentrat. Flüssiges Obst, 2011, 404-414.
- [17] Wolter, C.; Gessler, A.; Winterhalter, P.: Aspekte zur Beurteilung des Apfelsaftaromas. Flüssiges Obst, 2008, 122-134.
- [18] Lehmann, D.; Dietrich, A.; Schmidt, S.; Dietrich, H.; Mosandl, A.: Stereodifferenzierung von γ (δ)-Lactonen und (E)- α -Ionon verschiedener Früchte und ihrer Verarbeitungsprodukte. *Z Lebensm Unters Forsch*, 1993, 196:207-213.
- [19] Gerhardt, N.; Rohn, S.; Weller, P.: Headspace-GC-IMS und chemometrische Datenanalyse als schnelles Screening-Tool zur Authentizitätsbestimmung von Lebensmitteln. *Lebensmittelchemie*, 2018, 72, 3-4.
- [20] Funk, W.; Damman, V.; Donnevert, G.: Qualitätssicherung in der Analytischen

4 Chromatographische Methoden und fortschrittliche Kopplungen

- Chemie. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005.
- [21] Pierson, M. D.; Corlett, Jr.; Donald, A.: HACCP Grundlagen der produkt- und prozeßspezifischen Risikoanalyse. Behr's Verlag, 1993.
- [22] Schumacher, K.: Methoden zur Authentizitätskontrolle von Fruchtaromen. Dissertation, Shaker Verlag GmbH, 1999.
- [23] Schomburg, G.: Gas Chromatography. VCH Verlagsgesellschaft mbH, 1990.
- [24] Ziogas, A.; Lenz, M.; Kolb, G.: Aufbau eines multidimensionalen Prozess-GC-MS.
- Nachrichten aus der Chemie, 2017, 65, 897–902.
- [25] Baltes, W.; Kroh, L. W.: Schnellmethoden von Lebensmitteln und ihren Rohstoffen. Behr's Verlag, 2004.
- [26] Unterweger, H.; Valenta, M.; Bandion, F.: Zum Nachweis von Pyrokohlensäuredimethylester (Dimethyldicarbonat) – Zusätze bei Fruchtsäften, fruchtsaftähnlichen Getränken und „entalkoholisiertem Wein“. Mitt. Klosterneuburg, 1990, 40.
- [27] Boeker, P.: Gaschromatogramm in einer Minute. Nachrichten aus der Chemie, 2019, 40-42