

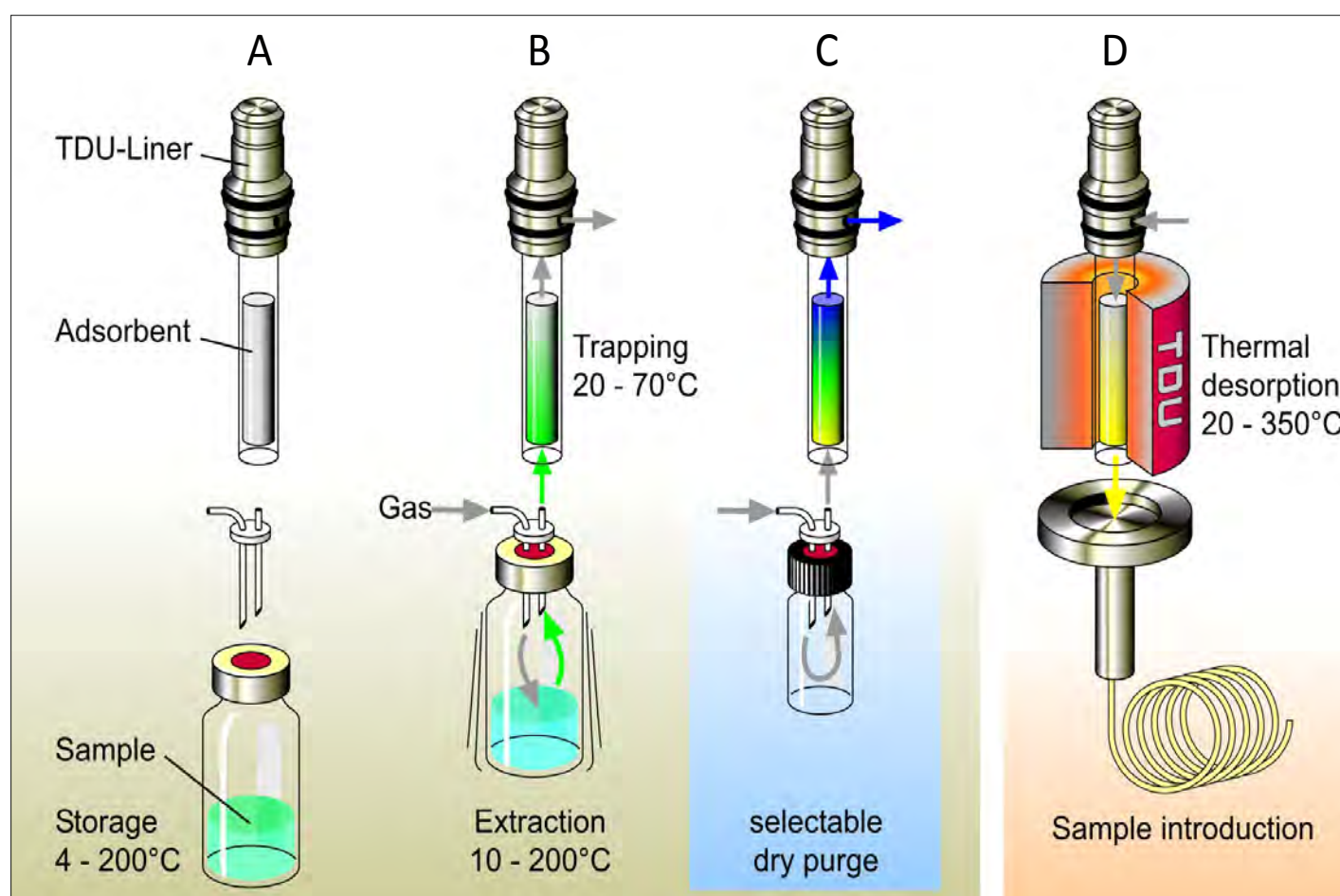
Automatiseret dynamisk headspace

- den letteste vej til høj følsomhed ved analyse af lavmolekylære stoffer.

Af Jens Glastrup, Rikke Bendixen og Tore Vulpius, MSCi Aps

Analyse af stofblandinger med en gaskromatograf forudsætter, at de indgående enkeltkomponenter har en vis flygtighed. Dog kan man med passende valg af injektor og kolonne udmærket analysere stoffer med en molekyelvægt på op mod 1000g/mol.

lige og kunstige aromasammensætninger, og mono- og flerumættede hydroxy- og oxo-forbindelser er nyttige indikatorer for oxidationen af fedtsyrer, og dermed for vores opfattelse af fødevarer som friske eller harske. Organiske svovlforbindelser har stor betydning for aromadannelsen i ost, kaffe og øl, og såmænd også for duften fra såvel råddent tang som fra svine-stalde. Næsten alle indgår i den samlede aroma i lave ppb-ni-



Figur 1. Funktionen af Gerstel Dynamisk Headspace(DHS). A: Vial med prøve (nederst) sammenkobles med adsorptionsrør (øverst) vha. en dobbeltnål. B: Det gyroskopisk ophængte vial omrøres, samtidig skylles vial med purge-gas, typisk 200-500 mL, hvorved flygtige komponenter flyttes over på adsorptionsrøret. C: Hvis nødvendigt kan adsorptionsrøret tørres med tør purge-gas. D: Adsorptionsrøret flyttes til den termiske desorber, og prøven påsættes GC.

I den modsatte ende af skalaen, de helt små komponenter fra C_1 til C_{15} , er det lettere at få stofferne gennem systemet; til gengæld ligger der mange andre udfordringer ved analysen af disse. Netop fordi de har et højt damptryk forsvinder de let fra matrix, og de kan være vanskelige at fange reproducerbart.

Mange af disse stoffer har stor betydning for stofblandingers aroma, såvel god som dårlig. Monoterpener er vigtige i natur-

veauer, i en ofte særdeles kompleks heterogen og/eller emulsionsmatrix. Det vil derfor ofte være nødvendigt at analysere gasfasen over prøven i et forsøg på at karakterisere de vigtige komponenter. Det stiller store krav til analysemetoden, samt til det apparatur som skal anvendes.

Statisk headspace udtager en prøve af gasfasen og analyserer den med GC. Denne metode giver sjældent tilstrækkelig



Figur 2. Gerstel DHS monteret på autosampleren. A: Holder til adsorptionsrør og B: Holder til vial med prøve. Holderen A er monteret på en slæde, ved analyse køres A over B, og dobbeltnålen forbinder de to enheder.

følsomhed til karakterisering af aromakomponenter. Dynamisk headspace (DHS) flytter gasfasen over på et adsorptionsrør, og da ligevægten forskubbes og nye molekyler kommer op i gasfasen kan DHS stort set "tømme" en prøve for flygtige komponenter i løbet af relativt kort tid. Når tømningen er fuldført, flyttes adsorptionsrøret over i den termiske desorber, og komponenterne desorberes over i injektoren og analyseres på almindelig vis.

Specielt i USA har en parallel metode været populær, purge-and-trap, hvor man gennemoblør en væskeformig prøve og dermed river komponenter med over på adsorptionsrøret. Flygtighedsintervallet for analytterne er i begge tilfælde typisk fra C_1 til C_{15} .

I begge tilfælde giver metoderne anledning til lave detektionsgrænser. Akilleshælen ved begge typer af analyse er tendensen til at hvirvle aerosoler og/eller støv (afhængig af matrix) med i bæregassen. Det er helt essentielt for en god DHS-analyse, at det kun er gasserne, der overføres. I denne henseende er DHS typisk lidt mindre kritisk end purge-and-trap, idet gennemoblende bæregas i purge-and-trap næsten altid vil rive små mængder af aerosol med, som efterfølgende vil sætte sig længere inde i systemet. Hvis og når det alligevel sker, er det derfor ligeledes essentielt at systemet er nemt at rense.

Opbygning af DHS-udstyr

GERSTEL DHS-udstyret er opbygget over standard autosampleren (MPS), hvor såvel adsorptionsrør som vials med prøver til analyse står i en tray. Man kan vælge, om man vil bruge samme adsorptionsrør hver gang, eller om der skal anvendes et nyt for hver prøve. Det er typisk nok med 1-2 mL prøve i et 20 mL vial, idet dette normalt giver en følsomhed på 0,1-1 ppb. Der er lagt mange kræfter i at gøre omrøringen så effektiv og samtidig så nænsom som mulig, og vial er derfor ophængt gyroskopisk, med en stillestående top og en bevægelig bund.

Den automatiserede procedure er følgende, se også figur 1.

- Vial til analyse flyttes over i DHS-holder, omrøring og opvarmning til ønsket temperatur starter (A).
- Adsorptionsrør flyttes til DHS-holder og rør og vial sammenkobles, så der kan skylles med inert gas, N_2 eller He. Flygtige komponenter flyttes fra gasfase til adsorptionsrør (B).
- Adsorptionsrør afkobles fra vial og eventuelt vand fjernes med en "tørregas" (C).

- Adsorptionsrør flyttes til den termiske desorber (TDU). TDU opvarmes, CIS holdes kold. Herved overføres analytter til CIS (D).
- Når alle komponenter er overført, adsorptionsrør fjernes, blindrør sættes i, CIS varmes op og analytter kromatograferes.

Selve DHS'en ses i figur 2, holderen til adsorptionsrørene ses øverst (A) og holderen til vial nederst (B). Der er ganske mange trin involveret i processen, men disse udføres, mens GC kører den foregående analyse. Denne vil, under næsten alle omstændigheder, være længere end præparationstiden. Der vil derfor altid være ensartede prøveforberedelsesbetingelser før injektion. Til gengæld skal køletray overvejes til prøverne, hvis der er tale om sensitivt materiale. Der er typisk plads til 30-80 kørsler/døgn, afhængig af analysetiden.

Desorptionen sker i modsat retning af adsorptionen, altså efter sidst-ind-først-ud princippet, og det giver derfor god mening at anvende double- eller triple-bed sorbenter, med en svag adsorbent nederst, en middel adsorbent i midten og en stærk adsorbent øverst. DHS anvendes typisk ved sporanalyser, og der er derfor sjældent brug for høj kapacitet, men ofte for adsorption af vidt forskellige komponenter med forskellig polaritet og molekylvægt. Ved at anvende multi-bed adsorbenter vil de stærkt adsorberende analytter sætte sig på den svage adsorbent, længere oppe vil de svagere adsorberende analytter sætte sig på den stærke adsorbent. Den efterfølgende eluering i TDU, i modsat retning, sikrer, at de stærkt adsorberende analytter aldrig kommer i nærheden af den stærke adsorbent, hvilket ellers kunne give anledning til carry-over-problemer. ►

Intelligent Chemistry

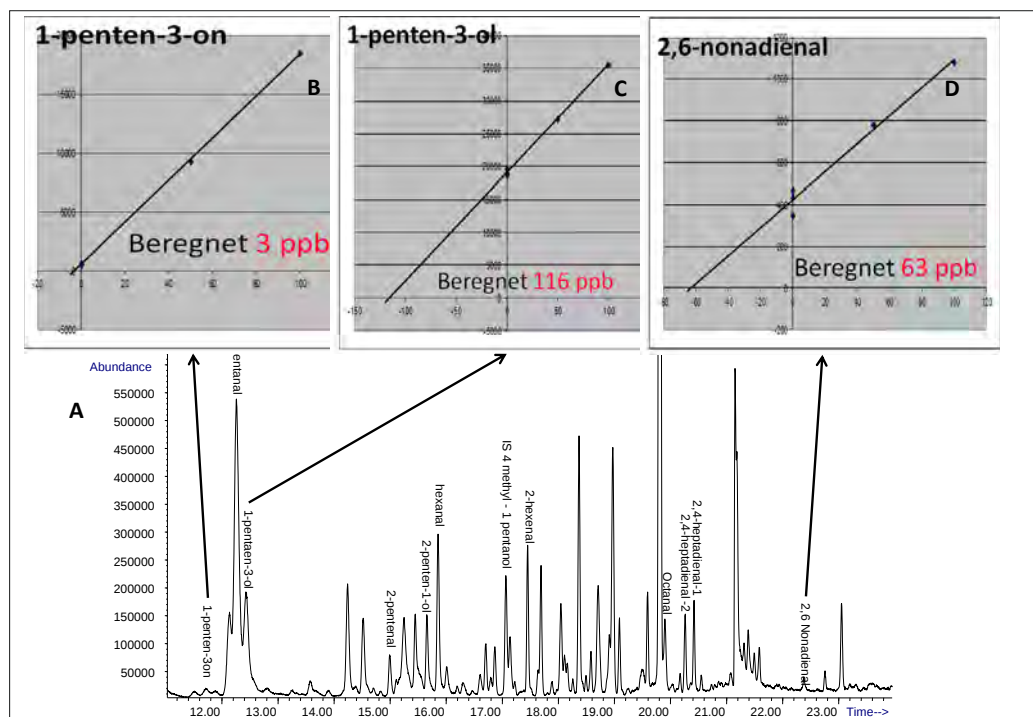
Now available from Biolab A/S: Hands Free Pipetting

Andrew™

The Innovative fully automated Pipetting Robot using Original Gilson Pipetman



Biolab A/S
Sindalsvej 29
DK-8240 Risskov
Telefon 8621 2866
Telefax 8621 2301
E-mail: sales@biolab.dk



Figur 3. Analyse af to-fase-system, 70% olie i mælk. Autosampler GERSTEL MPS med DHS, GC/MS Agilent 6890/5973. Fokus var på aroma- og oxidationskomponenter fra C_5 - C_9 . Adsorptionsrøret var pakket med TenaxTA, mens genfokuseringen i injektoren skete med en Carbotrap pakket liner. Temperatur prøve: 40°C, Temperatur adsorptionsrør: 40°C. Gas skyllevolumen 250 mL. Kolonne: Rested Rx-i-624Sil, 30 m, 0,32 mm i.d., 1,8 μ m. Kromatogrammet er vist i Scan, hvori-mod kvantiseringerne er kørt i SIM-mode.

A: Kromatogram af den analyse-rede prøve, med de vigtigste ana-lytter indskrevet over de respektive toppe. Ovenover kvantisering af tre udvalgte komponenter, alle med standardaddition: 3 prøver uden tilsætning, 1 prøve med tilsætning af 50 ppb og 1 prøve med tilsætning af 100 ppb: B: 1-penten-3-on, C: 1-penten-3-ol og D: 2,6-nonadienal.

Praktiske eksempler

Praktisk erfaring

Vores praktiske erfaring viser, at metoden er specielt velegnet til komponenter fra C_1 til C_{15} . Større komponenter har for lavt damptryk, og vil derfor være vanskelige at få overført med tilstrækkelig stor følsomhed. Her vil almindelig væskeekstraktion, brug af SPME, Twister's eller direkte termisk desorption være at foretrække. Væske-, to-fase-systemer eller faste materialer giver alle gode resultater og god linearitet ved standardaddition.

Metoden er derfor specielt velegnet til aromakomponenter, oxidationsprodukter mv., og vi har i det følgende valgt et par eksempler fra fødevarerindustrien.

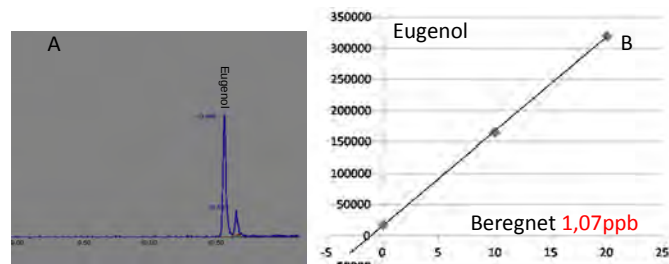
To-fase-system med 70% olie-vand-blanding.

Prøverne skulle undersøges for aromakomponenter, typisk alkoholer og enkelt- eller flerumættede oxo-forbindelser i det lave ppb-område. To-fase-systemer kan være analytisk krævende pga. muligheden for at såvel polære som ikke polære komponenter "helst" vil være i væskefasen. Det kan derfor også være vanskeligt at lave almindelige kalibreringskurver for denne type af analyse. I stedet er der anvendt standardaddition, hvor der er kørt tre analyser af prøven og herefter tilsat 50 ppb og 100 ppb til yderligere to prøver. Der skal altså køres 5 x 1 mL prøve/kvantisering, men også standardadditionen kan automatiseres via autosamleren.

Kromatogrammet af en analyse ses i figur 3A, og tre udvalgte kvantiseringer er taget med som 3B, 3C og 3D. I alle tre tilfælde er der god linearitet på de udvalgte komponenter. Kvantiseringsgrænsen for de analyserede komponenter i prøvematerialet ligger typisk på 0,1-1 ppb. Det skal bemærkes, at kvantiseringen af 2,4-nonadienal var den ringeste af alle kørte kvantiseringer.

Analyse af faste prøver for indhold af reststoffer

En anden type af analyse vi har udført er lave rest-koncentrationer af eugenol i et fast, men meget finkornet pulvermateriale. Udfordringen her var igen at undgå ophejring af matrix, så en forurening af adsorptionsrør blev undgået, og samtidig skulle der udføres en kvantisering af komponenten i den faste matrix. I figur 4A ses kromatogrammet af de ekstraherede komponenter.



Figur 4. Kromatogram af pulverprøve med indhold af eugenol. Prøven er kørt i scan mode, men kun m/z 168 er vist (A), og det er også denne ion, der er kvantiseret på ved standardaddition (B). Betingelser som ovenfor, men der er afvejnet 0,5 g fast prøve til hver analyse. Standardaddition blev foretaget med 10 og 20 ppb

ter samt den beregnede værdi (4B) ud fra standardaddition. Der blev igen anvendt 5 prøver/kvantisering.

Konklusion

Hvad angår analysen af små komponenter i komplicerede matricer har DHS i næsten alle tilfælde levet op til vore ønsker om god følsomhed og muligheden for reproducérbar kvantisering. Pga. de komplicerede og forskelligartede matricer har det for det meste været nødvendigt at undgå almindelige kalibreringskurver og i stedet anvende standardaddition. Det betyder typisk 5 korte prøver pr. analyse. Kvantiseringerne har vist god linearitet i næsten alle de typer af analyser, vi har udført. I alle de udførte analyser har det været muligt at undgå forurening med aerosoler/pulvere fra vial til adsorptionsrør. Det har derfor ikke været nødvendigt at skifte adsorptionsrør under analysen, idet det jo netop bliver udbagt mellem hver kørsel. Det er vores overbevisning, at en god del af grunden til den gode kvantisering såvel som den gode følsomhed ligger i den nænsomme og konstante mekaniske omrøring. Det er sandsynligt, at automatiseret DHS, specielt ved 2-fase systemer og mere eller mindre faste materialer, vil være "håndholdt" dynamisk headspace overlegent, idet den sikrer en mere ensartet prøveforberedelse, end det er muligt ved manuel håndtering.

E-mail
Jens Glastrup: jens@msconsult.dk