

SOLUTIONS BY



BESTIMMUNG VON PAK mittels GPC mit on-line EVAporation und HPLC-FLD-Messung

Bestimmung von PAK mittels GPC mit on-line EVaporation und HPLC-FLD-Messung

Grundlage der Methode

Extrahierte Proben, z. B. Lebensmittel, werden vollautomatisiert mit dem FREESTYLE GPC mit anschließender on-line Evaporation im EVaporations-Modul bearbeitet und fertig zur Injektion in ein HPLC-Glas abgefüllt bzw. vollautomatisiert über das FREESTYLE HPLC Direct Injection-Modul in die HPLC Probenschleife injiziert, sodass die Probe vollautomatisiert vom Rohextrakt bis zum Chromatogramm bearbeitet und analysiert wird.

Vorgehensweise

Der extrahierte, getrocknete und filtrierte Rohextrakt wird auf 10,0 mL eingestellt und in einem 16 mL Probenvorlageglas mit Deckel/Septum verschlossen in das FREESTYLE-System gestellt.

Dort wird die Probe anhand der im Methodenreport vorgestellten Methode (s. Seite 4 bzw. Seite 6 mit HPLC Direct Injection-Modul) abgearbeitet.

Dies läuft in Kürze dargestellt folgendermaßen ab:

Über eine kalibrierte Probenschleife werden 5,0 mL auf die GPC-Säule gegeben. Die Matrix wird abgetrennt und der Hauptlauf mit den PAK on-line, d. h. während die GPC noch aktiv ist, bereits im EVaporations-Modul konzentriert. Nach der Konzentrierung erfolgt ein automatischer Lösungsmittelaustausch zu Acetonitril/1% 1-Butanol. Danach wird die EVaporationskammer gespült, das Konzentrat präzise auf 1,0 mL eingestellt und in ein HPLC-Glas abgefüllt bzw. über das FREESTYLE HPLC Direct Injection-Modul direkt in die 20 µL Probenschleife des HPLC Systems injiziert.

Die Messung der Analyten erfolgte auf einer Thermo 3000 Ultimate mit Fluoreszenzdetektor.




Geräte und Materialien

- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. FREESTYLE Basic | Best.-Nr. 12663 |
| 2. FREESTYLE EVaporation | Best.-Nr. 13841 |
| 3. FREESTYLE GPC | Best.-Nr. 12664 |
| 4. FREESTYLE Direct Injection | Best.-Nr. 13890 |
| 5. GPC-Säule | Best.-Nr. GPC10011 |
| 6. Rahmen für Rack 11933 | Best.-Nr. 11915 |
| 7. Rack für 16 mL-Gläser | Best.-Nr. 11933 |
| 8. Rahmen für Rack 11920 | Best.-Nr. 11915 |
| 9. Rack für GC-Gläser | Best.-Nr. 11920 |
| 10. 16 mL-Gläser | Best.-Nr. V0016 (100 St./Pkg.) |
| 11. Schraubverschluss 16 mL-Gläser | Best.-Nr. V0016-SL (100 St./Pkg.) |
| 12. Septen | Best.-Nr. V0016-D (100 St./Pkg.) |
| 13. GC-Gläser | Best.-Nr. V0001 (100 St./Pkg.) |
| 14. Crimp-Deckel für GC-Gläser
mit Dichtscheibe | Best.-Nr. V0001-B (100 St./Pkg.) |
| 15. Kühler | Best. Nr. 12060, 230 V AC, 50 Hz |
| 16. Ethylacetat/Cyclohexan für die Spurenanalytik | |
| 17. Aceton p.a. | |
| 18. Acetonitril p.a. mit 1 % 1-Butanol | |
| 19. Standard Laborglasware und -ausrüstung | |



On-line Verbindung von GPC
direkt in die
EVaporationskammer –
Möglichkeit bis auf 0,2 mL
präzise einzuengen.

Parametrierung der Methode im FREESTYLE-System

	
LCTech FreeStyle - Bericht zu Methoden: GPC -> EVA Datum: 08.10.2014 Zeit: 10:07:09	
Name: PAK_Flex.fmt	
GPC - Methode: PAK.gpc	Online =====>
EVA - Methode: PAK50mL_Flex.evp	
GPC: Typ: Schleifen-Überfüllung	
Aufgabe der Probe: aus Glas / Gläsern	Transfer Geschw.: 10 ml / min.
Volumen der Probenschleife: 5 ml	
Fluss: 5 ml/min	
Min. Druck: 0.3 bar	
Max. Druck: 12 bar	
Vorlaufzeit: 30 min.	
Hauptlaufzeit: 20 min.	
Nachlaufzeit: 0.2 min.	
UV Aufzeichnung: AUS	
Säule: D25_1.cfm	
Methode der Fraktionierung: GPC Pumpe AUS	
Liste der Aufgabegläser:	
Nr.: 1 1 x 5.5 ml -> Type1@18	Sediment-Position: 0 mm
Liste der Ergebnisgläser:	
Nr.:1 1 x 240 ml -> Type1@240	Abfall: nein Online: ja
EVA: Temperatur Wasserheizung 40 °C	Temperatur Zapfenheizung 50 °C
Probenaufgabe: Online von GPC oder SPE Prozess	
Batchvolumen = Grenze, ab der der Konzentrationsprozess beginnt: 5 ml (fix) + Wartezeit: 10 min.	
Vakuum während der GPC Online - Probenaufgabe: 200 mbar	
Phase 1 - Konzent. bis Schwelle: 1 ml	
Vakuum absolut: 180 mbar	
Spülvolumen nach Phase 1: 5 ml	Spülschritte: 1 x Lösung aus Port: 8 (Acetonitril-Butanol)
Überspringe Phase 2	
Zeitüberwachung für Vakuumprozess: nein	
zur Trockene: nein	
Abblasen Stickstoff: nein	
Entnahme Aliquot: nein	
Lösemitteltausch: ja	
Bei Erreichen von Schwelle: 2 ml	
Lösemittelzugabe pro Austausch: 5 ml Lösung aus Port: 8 (Acetonitril-Butanol)	
Anzahl Lösemittelaustausch: 1	Endvolumen nach Austausch: 0.5 ml
Vakuumstartwert: 180 mbar abs.	Vakuumgradient: -20 mbar/min Vakuumendwert: 100 mbar abs.
Spülen, Auffüllen und Transfer in Gläser:	
Spülvolumen Ende: 0.5 ml	Spülschritte: 1 x Lösung aus Port: 7 (Acetonitril)
Auffüllen bis Volumen:	<input type="text" value="1 ml"/> Art des Mischvorgangs: Aufsaugen u. Ausstossen
Konzentrat: in Gläser	
Nr.: 1 1 St.	Typ: Type1@1 ml Volumen pro Glas: 1 ml
Abfüllen Quantitativ: nein	
1. Reinigung	
Spülvolumen: 5 ml	Spülschritte: 1 x Lösung aus Port: 7 (Acetonitril)
2. Reinigung	
Spülvolumen: 5 ml	Spülschritte: 1 x Lösung aus Port: 1 (EA/CH)

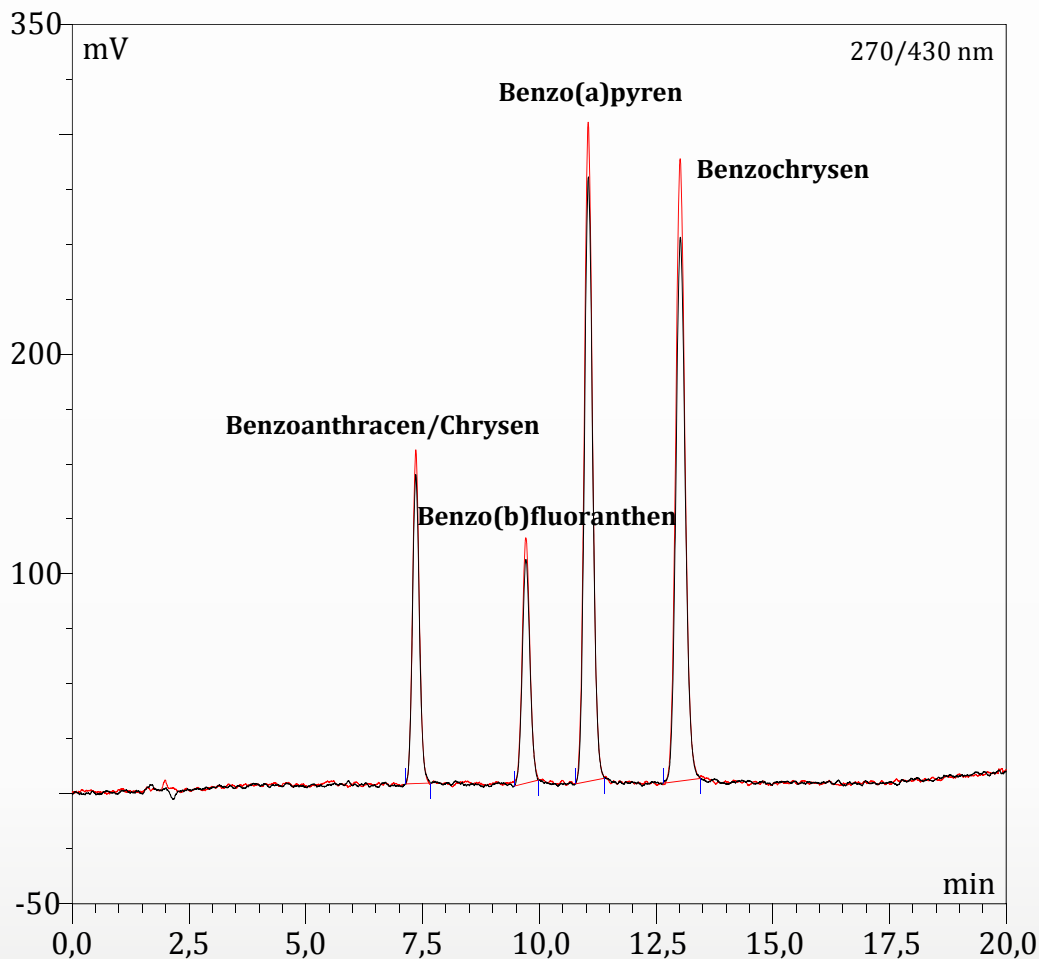
Ergebnisse ohne HPLC Direct Injection-Modul

Die Bearbeitung einer Probe inklusive Lösungsmittelaustausch und Überführung in ein GC-Vial dauert nur 1 h 35 min.

Anmerkung: Wird die Probe in einem GC gemessen, reduziert sich die Laufzeit um mindestens 10 Minuten, da der Lösungsmittelaustausch entfällt.


Wiederfindungen eines exemplarischen Experiments (n=3)

Bezeichnung	Wiederfindungen
Benzoanthracen/Chrysen	91 ± 4 %
Benzo(b)fluoranthen	90 ± 4 %
Benzo(a)pyren	85 ± 5 %
Benzochrysen	83 ± 8 %



Die Abbildung zeigt die Überlagerung von zwei Fluoreszenzchromatogrammen eines externen PAK-Standards (rot) und einer bearbeiteten Probe (schwarz).

Parametrierung der Methode im FREESTYLE-System mit HPLC Direct Injection-Modul

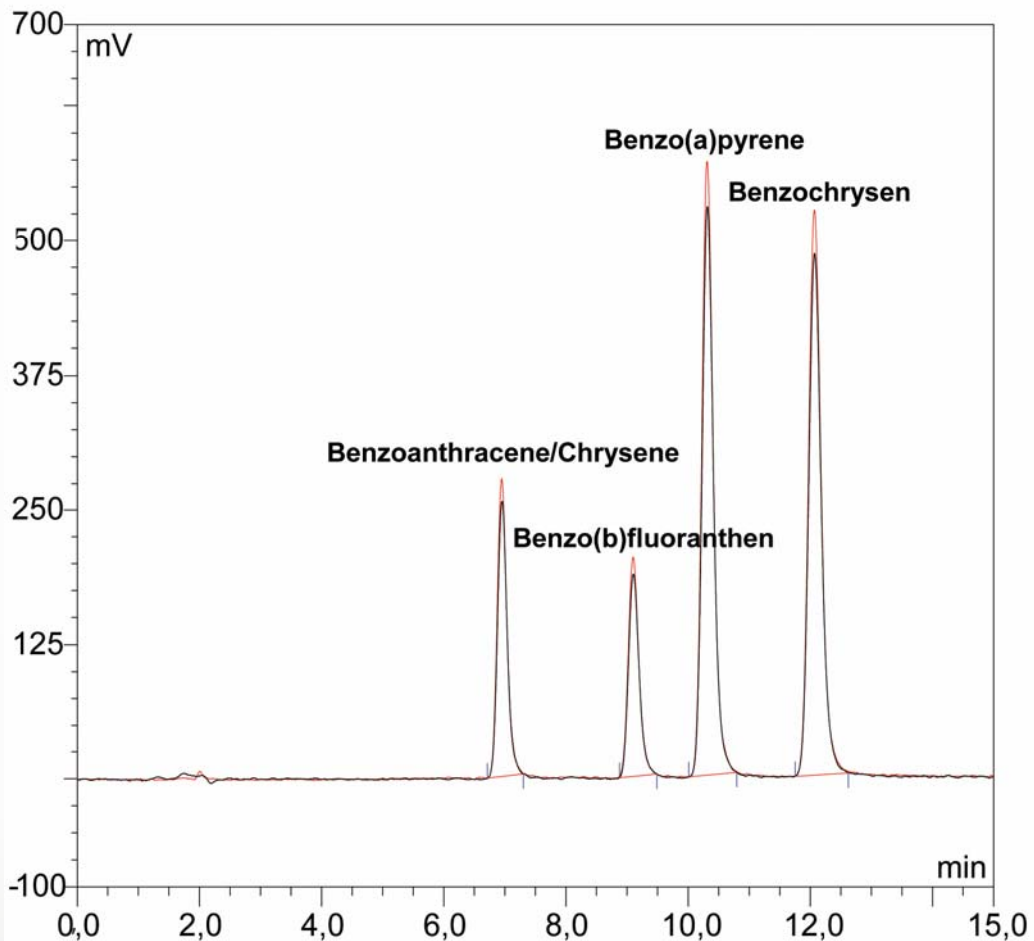
	
LCTech FreeStyle - Bericht zu Methoden: GPC -> EVA Datum: 27.02.2015 Zeit: 16:13:15	
Name: PAK_Flex_Direct.fmt	
GPC - Methode: PAK_GPC.gpc	Online =====>
EVA - Methode: PAK_EVA.evp	
GPC: Typ: Schleifen-Überfüllung	
Aufgabe der Probe: aus Glas / Gläsern	Transfer Geschw.: 10 ml / min.
Volumen der Probenschleife: 5 ml	
Fluss: 5 ml/min	
Min. Druck: 0.3 bar	
Max. Druck: 12 bar	
Vorlaufzeit: 30 min.	
Hauptlaufzeit: 20 min.	
Nachlaufzeit: 0.2 min.	
UV Aufzeichnung: AUS	
Säule: D25_1.olm	
Methode der Fraktionierung: GPC Pumpe AUS	
Liste der Aufgabegläser:	
Nr.: 1 1 x 5.5 ml --> Type1@16	Sediment-Position: 0 mm
Liste der Ergebnisgläser:	
Nr.:1 1 x 240 ml --> Type1@240	Abfall: nein Online: ja
EVA: Temperatur Wasserheizung 40 °C	Temperatur Zapfenheizung 50 °C
Probenaufgabe: Online von GPC oder SPE Prozess	
Batchvolumen = Grenze, ab der der Konzentrationsprozess beginnt: 5 ml (fix) + Wartezeit: 10 min.	
Vakuum während der GPC Online - Probenaufgabe: 200 mbar	
Phase 1 - Konzent. bis Schwelle: 1 ml	
Vakuum absolut: 180 mbar	
Spülvolumen nach Phase 1: 5 ml	Spülschritte: 1 x
Lösung aus Port: 11 (Acetonitril-Butanol)	
Überspringe Phase 2	
Zeitüberwachung für Vakuumprozess: nein	
zur Trockene: nein	
Abblasen Stickstoff: nein	
Entnahme Aliquot: nein	
Lösemitteltausch: ja	
Bei Erreichen von Schwelle: 2 ml	
Lösemittelzugabe pro Austausch: 5 ml	Lösung aus Port: 11 (Acetonitril-Butanol)
Anzahl Lösemitteltausch: 1	Endvolumen nach Austausch: 0.5 ml
Vakuumstartwert: 180 mbar abs.	Vakuumgradient: -20 mbar/min
Vakuumendwert: 100 mbar abs.	
Spülen, Auffüllen und Transfer in Gläser:	
Spülvolumen Ende: 0.5 ml	Spülschritte: 1 x
Lösung aus Port: 9 (Acetonitril)	
Auffüllen bis Volumen:	<input type="text" value="1 ml"/>
Art des Mischvorgangs: Aufsaugen u. Ausstossen	
Konzentrat: in Gläser	
Nr.: 1 1 St.	Typ: HPLC ml
Volumen pro Glas: 0.5 ml	
Abfüllen Quantitativ: nein	
1. Reinigung	
Spülvolumen: 5 ml	Spülschritte: 2 x
Lösung aus Port: 1 (EA/CH)	
2. Reinigung	
Spülvolumen: 5 ml	Spülschritte: 1 x
Lösung aus Port: 1 (EA/CH)	

Ergebnisse mit HPLC Direct Injection-Modul

Die Bearbeitung einer Probe inklusive Lösungsmittelaustausch und Überführung direkt in das HPLC System via FREESTYLE Direct Injection-Modul dauert nur 1 h 45 min (Prozesszeit FREESTYLE) und läuft von der Aufgabe des Rohextrakts bis zum Erhalt des Chromatogramms vollautomatisch, d.h. ohne manuellen Arbeitsschritt, ab.

Wiederfindungen eines exemplarischen Experiments (n=3)

Bezeichnung	Wiederfindungen
Benzoanthracen/Chrysen	94 ± 2 %
Benzo(b)fluoranthen	93 ± 3 %
Benzo(a)pyren	93 ± 2 %
Benzochrysen	94 ± 2 %



Die Abbildung zeigt die Überlagerung von zwei Fluoreszenzchromatogrammen eines externen PAK-Standards (rot) und einer bearbeiteten Probe (schwarz).

Kontakt

LCTech GmbH
Daimlerstraße 4
84419 Obertaufkirchen
Deutschland

Tel.: +49 8082 2717-0
Fax: +49 8082 2717-100
E-Mail: info@LCTech.de

www.LCTech.de
www.LCTech-online.com

SOLUTIONS BY

