

Application Note

► GPC Cleanup von Olivenölproben



Kategorie	Lebensmittel
Matrix	Olivenöl
Methode	Online SPE, HPLC
Schlagwörter	Probenaufreinigung, GPC Cleanup Unit 6500, Pestizide
Analyten	Pestizide
ID	VFD7, Dezember 2007

Zusammenfassung

Dieser Beitrag beschreibt die praktische Anwendung einer Probenreinigungsmethode zur Analyse von Pestizidrückständen in Olivenöl mit der HPLC. Die Pestizide werden von der Ölmatrix nach US EPA SW-846 Methode 3640A durch Größenausschluss-Gelpermeationschromatographie abgetrennt. Als GPC Material wurden Bio-Beads SX-3 verwendet und das GPC-Lösungsmittelsystem war Cyclohexan/Ethylacetat (1:1, v/v). Die optimierte GPC-Reinigung wurde mit einer KNAUER Smartline GPC Cleanup Unit 6500 zur automatischen Probenreinigung durchgeführt.

Einleitung

Die GPC ist eine sehr häufig angewendete Technik für die Reinigung von Probenextrakten von hochmolekularen Begleitstoffen wie Lipiden, Pigmenten, Proteinen und Polymeren. Die Effektivität von Bio-Beads SX-3 zusammen mit einem organischen Lösungsmittel zur Abtrennung von Pestizidrückstandsgemischen ist vielfach dokumentiert [1-3]. Die GPC-Technik ist sowohl für polare als auch für unpolare Analyten geeignet und kann erfolgreich zur Extraktreinigung eines breiten Bereichs an Verbindungsklassen genutzt werden. Um die Flexibilität der Probenreinigungsmethode zu unterstreichen, wurden die Olivenölproben mit verschiedenen Typen organischer Verbindungen (PAHs, Phthalate, Phenole und Triazine) gezielt verunreinigt. Die Wiederfindung sollte für alle diese Verbindungsklassen über 70 % liegen.

Experimentelles

Eine mit 7 g vorgequollenem Sorbens gepackte Glassäule wurde über längere Zeit mit Cyclohexan/Ethylacetat (1:1, v/v) bei einer Flussrate von 5 ml/min gespült. Zur Bestimmung des Elutionsprofils der GPC-Säule wurde eine Kalibrierlösung in Cyclohexan/Ethylacetat hergestellt, die Maiskeimöl (25.000 mg/l), Bis(2-ethylhexyl)phthalat (1.000 mg/l), Methoxychlor (200 mg/l), Perylen (20 mg/l) und Schwefel (80 mg/l) enthält. Die Löslichkeit des Schwefels wurde dadurch verbessert, dass er in warmes Maiskeimöl eingewogen wurde, bevor er den anderen Standards zugesetzt wurde. Nach einer Stabilisierungsphase für Fluss und Druck wurde die Kalibrierlösung injiziert. Basierend auf der UV-Spur wurde die Eluatsammlung nach der Elution des Maiskeimöls und kurz vor der Elution des Bis(2-ethylhexyl)phthalats gestartet und direkt nach der Perylenelution beendet. Die Probenschleifen des GPC-Cleanup-Systems wurden für die automatische Reinigung mit etwa 1:1 verdünnten Ölproben bei einem Fluss von 1,5 ml/min gefüllt. Die einzelnen gesammelten Ölprobenfraktionen wurden vorsichtig unter Stickstoffstrom abgedampft und mit einem geeigneten Lösungsmittel auf ein Volumen von 1 ml gebracht und durch ein 0,45 µm Spritzenfilter geleitet. Die gereinigten Proben waren damit bereit für die hier nicht behandelte Analyse mittels GC, DC oder HPLC.

Systemausstattung

Die Untersuchungen wurden mit einer KNAUER GPC Cleanup Unit 6500 durchgeführt, die den GPC-Reinigungsprozess automatisiert. Das System verfügt über einen Festwellenlängen UV Detektor der bei 254 nm misst und mit einer semi-präparativen Messzelle mit 3 mm Schichtdicke ausgestattet war. Eine analytische Messzelle wäre für diesen Zweck ungeeignet, da sie deutlich verdünntere Lösungen erfordern würde. Die Anordnung der 15 Probenschleifen und einer Waschschleife verhindert eine Probenverschleppung. Bis zu 15 Ölproben können in 1 ml oder 5 ml Probenschleifen geladen werden. Diese sind über zwei 17-Port/1-Kanal Schaltventile ansteuerbar. Die Pestizidfraktion wird nach der Elution des Maiskeimöls und vor der Schwefel elution über ein drittes 17-Port/1-Kanal Schaltventil in einem Rundkolben gesammelt. Abbildung 1 zeigt das Chromatogramm des mit Cyclohexan/Ethylacetat (1:1, v/v) eluierten GPC-Kalibrierungsstandards und Abbildung 2 das Elutionsprofil einer Olivenölprobe, die verschiedene Pestizidtypen enthält.

Smartline GPC Cleanup Unit 6500, Systemparameter

Säule	Glassäule mit einstellbarer Bettlänge (300 x 15 mm ID), 7 g Bio-Beads SX-3
Eluent	Cyclohexan/Ethylacetat (1:1, v/v)
Flussrate	1,5 ml/min
Druck	12 bar
Detektion	UV bei 254 nm
Temperatur	Raumtemperatur
Probenvolumen	1 ml

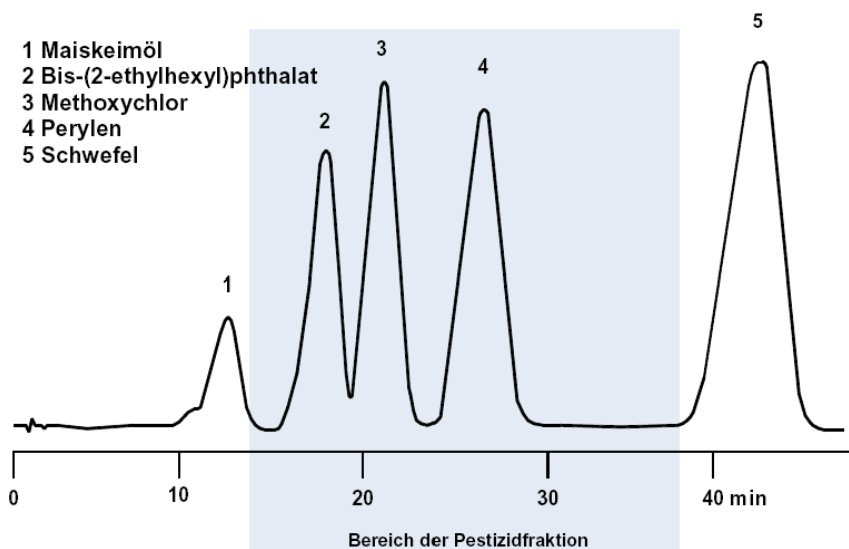


Abb. 1

Chromatogramm des Kalibrierungsstandards gemäß US EPA Methode 3640A mit Cyclohexan/Ethylacetat (1:1, v/v)

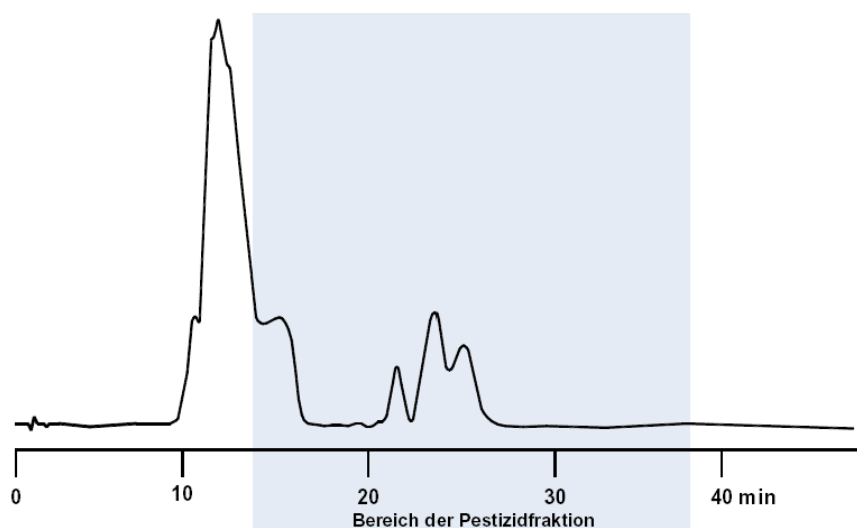


Abb. 2

Chromatogramm einer mit Pestiziden versetzten Olivenölprobe

Schlussfolgerung

Die Probenaufbereitung mit der GPC ist für die Abtrennung von kleinen Pestizidmengen aus höhermolekularen Matrices wie Olivenöl eine sehr nützliche Technik. Die KNAUER Smartline GPC Cleanup Unit 6500 ist für die automatisierte Probenaufbereitung bei der Pestizidanalytik besonders gut geeignet, kann aber auch leicht an andere Laborprozesse angepasst werden, um eine große Vielfalt von Probenaufbereitungen mittels GPC durchführen zu können.

Literatur

- [1] Chamberlain, S.J. Determination of multi-residues in cereal products and animal feed using gel-permeation chromatography. *Analyst* (1990), 115:1161-1165
- [2] Di Muccio, A.; Ausili, A.; Versori, L; Camoni, I; Dommarco, T; Ganibetti, L; Santillo, A and Versori, F Single-step multi-residue clean-up for organophosphate pesticide residue determination in vegetable oil extracts by gas chromatography. *Analyst* (1990), 115: 1167-1169
- [3] Guardia-Rubio, M.; Fernandez-De Cordova, M.L.; Ayory-Canada, M.J. and Ruiz-Medina, A. Simplified pesticide multi-residue analysis in virgin olive oil by gas chromatography with thermoionic specific, electron-capture and mass spectrometric detection. *J. of Chrom. A* (2006) Volume 1108, 231-239

Systemvorschlag



Für diese Anwendung kann das GPC-Probenreinigungssystem 6500 verwendet werden. Es ist die perfekte Wahl, um generell Probenreinigungsverfahren mit verschiedenen Matrices einschließlich Nahrungsmitteln, Geweben, Pflanzen oder Umweltproben durchführen können. Unter Einsatz einer geeigneten GPC-Säule können hochmolekulare Verbindungen wie Lipide, Polymere, natürliche Harze, Steroide oder andere Zellkomponenten leicht abgetrennt werden.

Beschreibung	Bestellnummer
Smartline GPC-Probenreinigungssystem 6500 mit UV-Detektor und Software	A5004 V20
Smartline GPC-Probenreinigungssystem 6500 mit Software ohne Detektor	A5004 V21

Säuleninformation



Das Säulenmaterial BioBeads S-X3 wird für klassische Niederdruck-Gelchromatographiesäulen nach S19-Methode DFG eingesetzt. Die Trennkapazität beträgt 1 g Extrakt in 5 ml Elutionsmittel. Das BioBeads S-X3 Material besteht aus einem neutralem, porösem Styrol-Divinylbenzol Copolymer. Das Ausschlussvolumen liegt zwischen 400 und 14.000 Dalton. Das Material ist dadurch besonders für die Fraktionierung und Trennung von niedrig molekularen organischen Polymeren und anderen hydrophoben Verbindungen geeignet.

Autor

Silvia Marten, Leiterin der Abteilung Säulen, Phasen Applikationen, KNAUER

Kontaktinformation

Wissenschaftliche Gerätebau
Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH
Hegauer Weg 38 · D-14163
Berlin, Germany

Tel: +49 (0)30 / 809727-0
Fax: +49 (0)30 / 8015010
E-Mail: info@knauer.net
Internet: www.knauer.net
www.knauer.net/worldwide