

LABORSCOPE

LABORTECHNIK • VERFAHRENSTECHNIK • CHEMIE • MEDIZIN • BIOTECHNOLOGIE

6/08

Intelligent Ion Chromatography IC for Professionals



www.professional-ic.com

3 year
instrument warranty +

10 year
suppressor warranty +

swiss made +

 **Metrohm**

Innovative Mixed-Mode Sorbentien und Membranen

Seite 4

PCR – eine zentrale Labor-Methode

Seite 24

Molekulare Netzwerke und Fettleibigkeit

Seite 42

Offizielles Organ der Gesellschaft Schweizerischer Privater Dienstleistungslaboratorien GSDL

Planar-Chromatographie in der Praxis

Bestimmung von Acrylamid in Trinkwasser



Alexander Alpmann, Doktorand im Arbeitskreis, betreut von Dr. G. Morlock

Der Arbeitskreis von Professor Dr. Wolfgang Schwack*, Institut für Lebensmittelchemie, Universität Hohenheim, Stuttgart (siehe CBS/CAMAG Bibliography Service 93) forscht u.a. auf dem Gebiet der Planar-Chromatographie. Gerade die Flexibilität der Methode beeindruckt immer wieder, wenn es gilt, schwierige Fragestellungen auf einfache Art zu lösen.

Einleitung

Polyacrylamid wird sowohl in der Papier-, Kosmetik-, Textil- und Bauindustrie eingesetzt als auch als Flockungshilfsmittel in der Trinkwasseraufbereitung. Dabei kann das stark wasserlösliche Monomer Acrylamid (AA) in das Grund- bzw. Trinkwasser übergehen. Aufgrund seiner Kanzerogenität wurde in der EU-Trinkwasser-Richtlinie 98/83/EC die maximal zulässige AA-Konzentration auf 0,1 µg/l festgesetzt.

Die Verwendung der HPLC-MS/MS nach DIN 38413-6 ist jedoch durch den hohen apparativen Aufwand für kleinere Labors unattraktiv. Ausserdem kann - aufgrund des geringen Molekulargewichtes - das protonierte Molekül von AA (72 Da) durch Matrixfragmente überlagert werden und in Ultraspuren (ng/l) im UV-Bereich nicht detektiert werden. Eine kostengünstige und selektive Alternative für routinemässige Untersuchungen ist die Derivatisierung von AA

mit einem Fluorophor. Diese erfolgt prä-chromatographisch in der Auftragezone der HPTLC-Platte.

Probenvorbereitung

Wasserproben (500 ml) werden mit 250 µl N,N-Dimethylacrylamid (1 ng/µl in Methanol) als internem Standard (IS) dotiert, mittels Festphasenextraktion an sphärischer Aktivkohle extrahiert und 5-mal mit je 2 ml Methanol-Acetonitril 1:1 eluiert. Das Eluat wird am Rotationsverdampfer unter Stickstoffstrom auf ca. 1 ml eingengt.

Standard- und Derivatisierungslösung

Entionisiertes Wasser (500 ml) wird mit 50–200 µl AA-Lösung (1 ng/µl in Methanol) und je 250 µl IS dotiert und analog der Wasserproben extrahiert. Als Blindprobe dient undotiertes Leitungswasser.

Das Derivatisierungsreagenz Dansulfinsäure wird - da es nicht kommerziell erhältlich ist - nach einer einfachen Methode von Scully et al.^[1] synthetisiert und eingesetzt (3,2 µg/µl in Methanol).

Schicht

HPTLC-Platte Kieselgel 60 (Merck) 10 x 10 cm.

Probenauftragung

Mit dem DC-Probenautomat 4 mit beheizbarer Sprühdüse (40 °C) als 6 x 3 mm Fläche, 8 Bahnen, Auftragevolumen 100 µl für Proben und Standards, Bahnabstand 10 mm, seitlicher und unterer Randabstand 12 bzw. 8 mm, Auftrageschwindigkeit 350 nl/s, Übersprühen der Startzonen mit je 20 µl Derivatisierungslösung.

Derivatisierung

Auf dem DC-Plattenheizer für 1 h bei 120 °C.

Chromatographie

Die Startzonen werden mit Methanol fokussiert und in der Doppeltrogkammer mit Ethylacetat entwickelt (Laufstrecke 70 mm vom unteren Plattenrand, Laufzeit 15 min). Nach zwei Minuten Trocknen im Warmluftstrom wird die Platte zur Fluoreszenzverstärkung in Polypropylenglykol-Lösung (25% in n-Hexan) mit der Chromatogramm-Tauchvorrichtung III getaucht (Tauchgeschwindigkeit 5 cm/s, Eintauchzeit 1 s).

Dokumentation

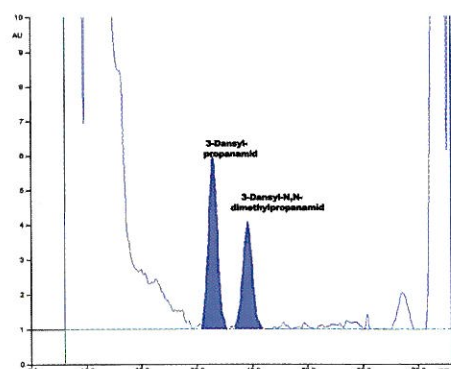
Mit DigiStore 2-System bei 366/>400 nm.

Densitometrische Auswertung

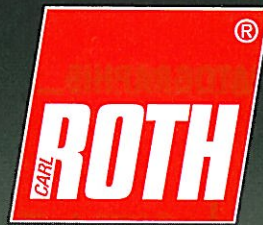
TLC-Scanner 3 mit winCATS-Software, Fluoreszenzmessung bei UV 366/>400, lineare Kalibration über die Peakfläche.

Ergebnisse und Diskussion

AA wird nach Derivatisierung mit Dansulfinsäure zu 3-Dansylpropanamid (DPA) ohne störende Matrix selektiv detektiert. Die Güte der Probenvorbereitung wird durch die Korrektur mit dem IS (derivatisiert zu 3-Dansyl-N,N-Dimethylpropanamid) sichergestellt.



Fluoreszenzscan einer dotierten Wasserprobe (0,2 µg/l).



Laborbedarf _ Life Science _ Chemikalien



Alle Produkte auch
in unserem
INTERNET-SHOP!

www.carlroth.ch
+ Neuheiten
+ Sonderangebote

☎ 061/712 11 60

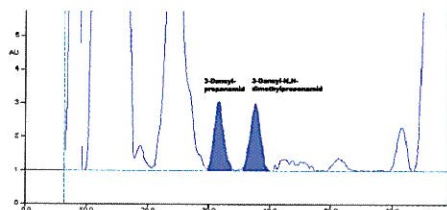
www.carlroth.ch
mit Neuheiten & Sonderangeboten

**Schlaue Laborfüchse
bestellen bei ROTH**

ROTH AG

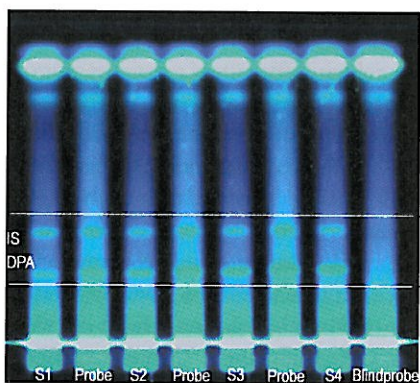
Christoph Merian-Ring 7 4153 Reinach
Tel: 061/712 11 60 Fax: 061/712 20 21
E-Mail: info@carlroth.ch Internet: www.carlroth.ch

Die berechnete Bestimmungsgrenze der Methode liegt bei 0,08 µg/l AA in Trinkwasser und ermöglicht die verlässliche Überwachung des festgelegten Grenzwertes von 0,1 µg/l.



Densitogramm einer Blindprobe dotiert unterhalb der Bestimmungsgrenze bei 0,05 µg/l.

Die mittlere Präzision unter Wiederholbedingungen betrug 4,8% (RSD, n = 3, über drei Konzentrationsstufen) und die mittlere Wiederfindung über drei Konzentrationsbereiche 96% (korrigiert über den IS).

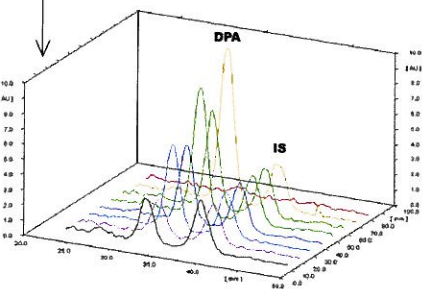


Plattenfoto der Ultra-Spurenanalytik von AA (als DPA) in Trinkwasser.

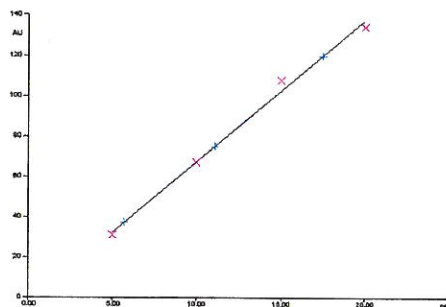
Ein Methodenvergleich mit der HPLC-MS/MS zeigte vergleichbare Ergebnisse für die Ultra-Spurenanalyse von AA in Grundwasser und belegt die Leistungsfähigkeit des neuen Verfahrens:

Methodenvergleich	HPLC-MS/MS AA [µg/l]	HPTLC-FLD AA [µg/l]
Grundwasserprobe 1	<0,05	<0,05
Grundwasserprobe 2	0,07	0,09
Grundwasserprobe 3	0,18	0,24
Grundwasserprobe 4	0,59	0,60

Fluoreszenzscan im markierten Bereich von Standards (0,1–0,4 µg/l, S1-S4), dotierten Blindproben (0,1–0,3 µg/l) und Blindprobe.



Die Regression ist im Arbeitsbereich von 0,1 bis 0,4 µg/l linear mit einer relativen Standardabweichung von ± 5,2% (r = 0,9957).



Lineare Kalibration von DPA (5–20 ng/Zone bzw. 0,1–0,4 µg/l).

Bei Relevanz können zudem Massenspektren durch Online-Extraktion (ca. 1 min/Zone) aufgenommen werden. Das durch die Derivatisierung protonierte Molekül höherer Masse von m/z 307 ist dabei von grossem Vorteil, da es störungsfreier als m/z 72 und mit einem einfachen MS (anstelle der MS/MS) detektiert werden kann.

[1] F. Scully et al. Environ. Sci. Technol. 18, 787, 1984

Dank der Landesstiftung Baden-Württemberg (Projekt-Nr. P-LS-E2/25) und dem Betriebs- und Forschungslaboratorium des Zweckverbandes Landeswasserversorgung, Standort Langenau, für die HPLC-MS/MS-Messungen.

*www.ilc.uni-hohenheim.de
CAMAG, 4132 Muttenz, www.camag.com.