Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 80 (1989)

Heft: 1

Artikel: On-Line gekoppelte LC-GC und ihre Anwendung für die Analytik von Sterinen in Speiseölen und Fetten = On-line coupled LC-GC and its application to the analysis of sterols in edible oils and fats

Autor: Grob, K.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-983591

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 15.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **80**, 30–41 (1989)

K. Grob, Kantonales Laboratorium, Zürich

On-Line gekoppelte LC-GC und ihre Anwendung für die Analytik von Sterinen in Speiseölen und Fetten

On-Line Coupled LC-GC and its Application to the Analysis of Sterols in Edible Oils and Fats

Einleitung

HPLC und GC sind in den letzten Jahrzehnten mit viel Aufwand zu effizienten, relativ zuverlässigen Analysenmethoden entwickelt worden. Auf der anderen Seite hat sich die Methodik für die Probenaufarbeitung nur wenig verbessert, obwohl die Vorreinigung und Derivatisierung der Proben in vielen Labors viel zeitaufwendiger und damit auch teurer ist als die Bestimmung der wichtigen Substanz(en) am Schluss. Entsprechend gross sollte das Interesse an effizienteren Aufarbeitungstechniken sein. Effizient meint hohe Trennleistung jedes Vortrennungsschrittes sowie hohe Produktivität, was auf eine möglichst weitgehende Automatisierung hinaus läuft.

HPLC für effiziente Probenaufarbeitung

Die HPLC bietet sich für die Probenaufarbeitung an, weil sie die konventionellen Methoden (flüssig/flüssig-Verteilung, klassische LC) an Trennleistung weit übertrifft, aber auch weil die Methodenentwicklung schneller ist (on-line Detektion). Off-line LC-GC ist denn auch seit längerer Zeit zu einer verbreitet eingesetzten Methode geworden, vor allem in der Spurenanalytik mit komplexen Matrices. On-line Methoden sind aber off-line Methoden nochmals weit überlegen, vorerst einmal wegen dem verringerten Zeitbedarf und der leichten Automatisierbarkeit. Die nicht oder erst wenig vorgereinigte Probe wird auf den HPLC-Sampler gegeben. Die ganze weitere Analytik spielt sich vollautomtisch ab.

LC-GC-Transfertechniken

Die ersten Arbeiten auf gekoppelter LC-GC fussten auf einem Transfer von LC-Fraktionen via klassische verdampfende Einspritzung (split oder splitlos) (1, 2). Diese Methodik wurde perfektioniert und praktisch vollständig automatisiert durch *Ramsteiner* (3). Der Vorteil dieser Transfertechnik ist wohl vor allem darin zu suchen, dass mit bekannten (wenn auch durchaus nicht immer bewährten) Techniken und Instrumenten gearbeitet werden kann. Die Nachteile sind aber schwerwiegend: Erstens werden kaum mehr als wenige Prozente der interessierenden Substanz (des HPLC-Peaks) auf die GC übertragen. Das bedeutet eine massive Einbusse an Empfindlichkeit oder aber, dass entsprechend mehr Probe auf die HPLC-Säule eingespritzt werden muss (was bei den häufig sehr «schmutzigen» Proben ein Problem ist). Zweitens wird die quantitative Analytik empfindlich davon abhängig, ob die übertragene Probe vom Zentrum oder der Flanke des HPLC-Peaks stammt, was präzise Eichung und genaue Reproduzierbarkeit der HPLC-Retentionszeiten voraussetzt (häufig ebenfalls ein Problem).

1984 wurden erstmals ganze HPLC-Fraktionen (150 und 350 μl) in die GC übertragen unter Verwendung einer 50 m × 0,32 mm i. d. Vorsäule (retention gap) (4). Diese Technik leitete sich ab von der on-column Einspritzung grosser Volumina (5).

Der Transfer von ganzen HPLC-Peaks (oder noch breiteren Fraktionen) setzt die Beherrschung eines neuen Gebietes voraus, nämlich jenes der möglichst selektiven Lösungsmittelabdampfung unter GC-Bedingungen. Heute werden vor allem die unten eingehender beschriebenen zwei Transfertechniken eingesetzt, welche beide Vor- und Nachteile aufweisen und deswegen als komplementär einzustufen sind.

Retention gap Technik

Die ältere Technik lässt die flüssige HPLC-Fraktion ungehindert in eine GC-Vorsäule strömen. Die Flüssigkeit wird vom Trägergas weitergestossen und breitet sich aus, bis sich ein mehr oder weniger stabiler Film an der Kapillarwand ausbildet. 4–6 μl Flüssigkeit können so pro Meter 0,32 mm i. d. Kapillare zurückbehalten werden. Das Lösungsmittel dampft von hinten (dem Eingang der ofenthermostatierten Kapillare) gegen vorn ab, was «solvent trapping» (6) bewirkt: Komponenten mit Siedepunkten nur wenig über jenem des Lösungsmittels werden zwar zuerst mit dem Lösungsmittel verdampft, dann aber durch den weiter vorn liegenden Film von Probeflüssigkeit zurückgehalten. Dieser «Lösungsmitteleffekt» endet damit, dass diese Komponenten an der Stelle aufkonzentriert werden (und dort eine scharfe Anfangsbande bilden), wo der letzte Rest Lösungsmittel abdampft.

Andererseits werden Hochsieder über die ganze «geflutete» Kapillare verschmiert – sie bleiben vorerst da liegen, wo das abdampfende Lösungsmittel sie deponierte. Da geflutete Zonen von über ca. 20–40 cm zu Peakverbreiterung führen («band broadening in space» 7), müssen die Anfangsbanden der Hochsieder

wieder aufkonzentriert werden. Das gelingt durch einen Sprung in der Retentionskraft: Wenn die Komponenten schnell und bei relativ tiefer Temperatur durch eine unbelegte Vorsäule (retention gap) passieren, werden deren Banden am Anfang der belegten Trennsäule wegen der viel höheren Retentionskraft (tiefere Migrationsgeschwindigkeit) fokussiert. Diese retention gap Technik (8) ist genügend effizient, um Anfangsbanden von über 50 m Länge auf die maximal tolerierbare Länge von 15–30 cm zu reduzieren.

Die retention gap Technik erzeugt scharfe Peaks vom Anfang bis zum Schluss des Chromatogramms und ist für quantitative Analytik in ihrer Genauigkeit der on-column Einspritztechnik ebenbürtig. Sie setzt aber die Verwendung langer unbelegter Vorsäulen voraus (deren Länge muss mindestens jener der gefluteten Zone entsprechen). 50 m × 0,32 mm i. d. Vorsäulen erlauben den Transfer von bis zu 350 μl, falls die Flüssigkeit die Innenwand der Vorsäule benetzt.

Die für gekoppelte LC-GC knappe Kapazität pro Längeneinheit der unbelegten GC-Vorsäule kann durch «teilweise simultanes Lösungsmittelabdampfen» (partially concurrent eluent evaporation) (9, 10) wesentlich erhöht werden. Dabei wird die HPLC-Fraktion mit einer Geschwindigkeit in die GC-Vorsäule eingetragen, die es erlaubt, einen grossen Anteil des Eluenten sofort zu verdampfen. Wenn z. B. 80% des Eluenten während der Übertragung verdampften, breitet sich nur 20% der HPLC-Fraktion als Flüssigkeit auf der Kapillarwand aus. Damit kann die Vorsäule um einen Faktor 5 verkürzt werden, oder aber es können Fraktionen von mehr als 1,5 ml in eine Vorsäule von 50 m Länge übertragen werden.

Für die retention gap Technik muss die Säulentemperatur bei der Lösungsmittelabdampfung unter dem auf den Trägergaseingangsdruck korrigierten Siedepunkt bleiben. Andernfalls kann die Flüssigkeit nicht in die GC-Vorsäule einfliessen, und die Lösungsmittelabdampfung erfolgt von vorn nach hinten, womit das solvent trapping verloren geht.

Vollständig simultane Lösungsmittelabdampfung

Die andere Lösungsmittelabdampftechnik scheint sich im ersten Moment nur graduell von der obigen Technik zu unterscheiden. Das vollständige statt nur teilweise simultane Lösungsmittelabdampfen hat aber entscheidende Konsequenzen für das solvent trapping wie auch für die angewandte Transfertechnik.

Vollständig simultane Lösungsmittelabdampfung («concurrent solvent evaporation») (11) bewirkt, dass keine Flüssigkeit mehr namhaft tief in die GC-Säule eindringt. Man kann also mit sehr kurzen (ca. 3 m × 0,32 mm i. d.) unbelegten Vorsäulen arbeiten, und das Volumen der transferierten HPLC-Fraktion ist kaum mehr limitiert (Volumen von einigen Millilitern stellen jedenfalls keine ernsthaften Probleme). Durch die angewandte Transfertechnik lässt sich die Lösungsmittelabdampfung beschleunigen, so dass ein Milliliter Eluent in weniger als 5 Minuten das GC-System passiert.

Diesen Vorteilen steht aber eine prinzipielle Begrenzung gegenüber: Das vollständig simultane Lösungsmittelabdampfen beseitigt den Film von Lösungsmit-

teln, der bei der retention gap Technik flüchtige Komponenten zurückhält und fokussiert. Komponenten, welche bei der Transfertemperatur mit namhafter Geschwindigkeit in die GC-Säule migrieren, bilden jetzt breite Anfangsbanden oder (abhängig vom angewandten Transfersystem) gehen mit den Lösungsmitteldämpfen verloren. Die Technik kann deswegen nur für Komponenten eingesetzt werden, die 50—80 ° über der Transfertemperatur von der GC-Säule eluieren (12). Da die Transfertemperaturen bereits relativ hoch sind (siehe unten), ist die Methode nur einsetzbar, wenn die interessierenden Komponenten oberhalb etwa 120—150 °C eluieren. Das trifft allerdings für eine grosse Mehrheit der Applikationen zu, und deswegen wird die Technik heute viel häufiger eingesetzt als die retention gap Technik.

Der Versuch, die Bandenverbreiterung oder den Verlust relativ flüchtiger Komponenten bei der simultanen Lösungsmittelabdampfung durch Ko-Lösungsmitteleffekte zu verhindern (13), ist neu und noch wenig erprobt. Dabei wird solvent trapping durch den Zusatz einer kleinen Konzentration eines höher siedenden Lösungsmittels erzeugt.

LC-GC Interface

Das on-column Interface

Die zwei Transfertechniken werden durch zwei verschiedene Kopplungssysteme realisiert. Für die retention gap Technik wird das on-column Interface eingesetzt, das in (4) beschrieben wurde. Der HPLC-Eluent fliesst durch ein Umschaltventil und, bei Transfer, durch eine dünne Transferkapillare via einen normalen on-column Injektor in die GC-Vorsäule. Die Flüssigkeit wird von der HPLC-Pumpe mit einer bekannten Geschwindigkeit übertragen. Das Trägergas wird an die Lösungsmittelabdampfstelle zugeführt, was einer Voraussetzung für solvent trapping entspricht. Fraktionsvolumen sind flexibel, bestimmt durch die Transferzeit und den HPLC-Fluss.

Das loop-type Interface

Simultane Lösungsmittelabdampfung lässt sich mit dem on-column Interface realisieren. Das loop-type Interface bietet aber einige gewichtige Vorteile.

Das loop-type Interface (14), schematisch gezeigt in Abbildung 1, fängt die HPLC-Fraktion in einer Probeschleife (loop) auf, deren inneres Volumen jenem der Fraktion entsprechen soll. Diese Schleife wird durch Umschalten des «Probeventils» vom HPLC-System abgekoppelt und ins GC-System eingefügt. Nun drückt das GC-Trägergas den Schleifeninhalt in die GC-Kapillarsäule.

Damit die Flüssigkeit nicht direkt durch die GC-Säule in den Detektor fliesst, muss die GC-Ofentemperatur hoch genug sein, um einen Probedampfdruck zu

erzeugen, welcher dem Trägergaseingangsdruck zumindest gleich ist (siehe Abb. 2). Das bedeutet, dass die GC-Ofentemperatur beim oder etwas über dem auf den angewandten Eingangsdruck korrigierten Eluentensiedepunkt liegen muss (welcher leicht einige zehn Grade über dem Normalsiedepunkt liegt (15). Nun schiebt also das Trägergas die HPLC-Fraktion gegen ihren eigenen Dampfdruck, mit dem Resultat, dass die Front des Flüssigkeitspfropfs am Eingang der ofenthermostatierten Kapillare stehen bleibt. Der Eluent verdampft und unverdünnter Dampf fliesst durch die GC-Säule ab. Die Flüssigkeit wird nachgeschoben, so dass die Front des Pfropfs etwa stationär bleibt.

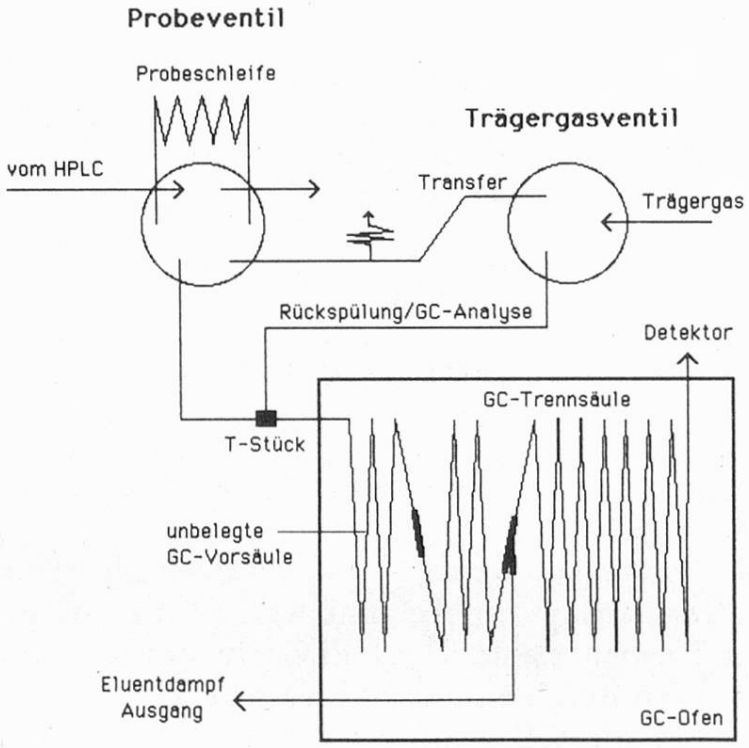

Abb. 1. Leicht vereinfachte Darstellung des loop-type Interface. In der dargestellten Ausführung wurde ein Lösungsmitteldampf-Ausgang nach ca. 3 m in die Trennsäule eingefügt

Für das loop-type Interface wird eine 2—3 m lange unbelegte Vorsäule verwendet, weil die Flüssigkeit heftig verdampft (Siedeverzüge auf der glatten Kapillaroberfläche), aber auch weil die Verdampfung von Flüssigkeit viel Wärme verbraucht, welche nur über ein längeres Kapillarstück genügend rasch zugeführt werden kann. Das Probenmaterial wird also über ein Eingangsstück von leicht über einem Meter Länge verschmiert und muss wieder über den retention gap Effekt aufkonzentriert werden.

Die GC-Vorsäule wird durch ein Loch in der GC-Ofenwand herausgeführt und ins Probeventil (ein 6-Weg-Ventil in Abb. 1, mit einem zusätzlichen Einspritzloop ein 10-Weg-Drehventil, Valco) montiert, das bei Raumtemperatur gehalten wird. Die Trägergaszuführung erfolgt direkt ins Probeventil — das Interface kommt also ohne einen Injektor aus. Das System wird etwas kompliziert durch

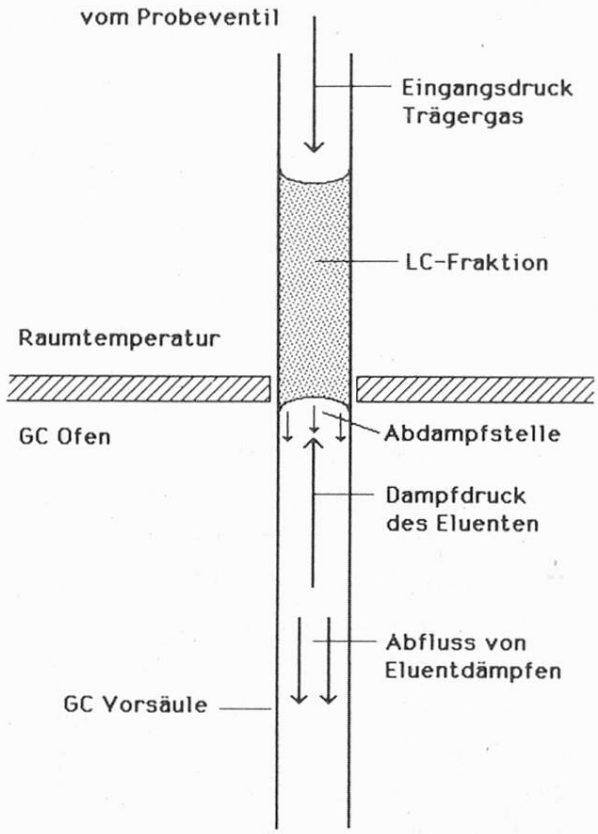

Abb. 2. Vollständig simultane Lösungsmittelabdampfung mittels loop-type Interface. Das Trägergas drückt den Flüssigkeitspfropf (typischerweise mehrere Meter lang) aus der Probeschleife in die Ofen-thermostatierte GC-Vorsäule. Dort wird ein Weiterfliessen durch den eigenen Dampfdruck blockiert. Unverdünnte Dämpfe fliessen durch das GC-System ab

die Notwendigkeit, das Probeventil während der GC-Analyse rückzuspülen (das Ventil wird kaum je ganz lösungsmittelfrei, was Probleme mit dem Lösungsmittelpeak in der GC schafft). Diese Rückspülung wird durch ein sog. «Trägergasventil» erreicht, welches das Trägergas entweder für den Transfer einer HPLC-Fraktion ins Probeventil speist oder aber in ein GC-seitiges T-Stück (siehe Abb. 1), von wo aus ein kleiner Nebenstrom das Probeventil durch einen Spülausgang rückspült.

Das loop-type Interface bietet vor allem zwei Vorteile gegenüber dem on-column Interface: Der Zufluss von HPLC-Eluent ins GC-System muss nicht auf die Abdampfgeschwindigkeit eingestellt werden – das geschieht von selbst. Zweitens kann der Eingangsdruck während dem Transfer erhöht werden, ohne dass dabei die Zuflussgeschwindigkeit neu auf die Abdampfgeschwindigkeit eingestellt werden müsste. Durch diese Druckerhöhung (typisch auf 2–4 bar) beschleunigt sich der Abfluss der Dämpfe durch das GC-System, womit es möglich wird, 1 ml Eluent in weniger als 10 min abzudampfen. Wird zusätzlich ein Lösungsmitteldampf-Ausgang nach ca. 3 m in die Trennkapillare eingefügt (16) (so gezeigt in Abb. 1), verkürzt sich der Weg der Dämpfe und die Abdampfung eines Milliliters Eluent wird nun in weniger als 5 min möglich – der Lösungsmittelpeak ist kaum mehr viel breiter als bei klassischer Einspritzung.

Eine Anwendung: Sterine und Wachsester in Ölen und Fetten

Anwendungsmöglichkeiten von gekoppelter LC-GC sind nahezu unbegrenzt. Die einfachsten Anwendungen ergeben sich aus klassischen GC-Methoden, welche zur Probenaufarbeitung einen Flüssigchromatographie-Schritt beinhalten. Dieser LC-Schritt lässt sich meist schnell in eine HPLC-Methode umarbeiten (z. B. 17–19).

Klassische Probenaufarbeitung

Hier soll ein Anwendungsbeispiel gezeigt werden, das anderswo (20) im Detail beschrieben wurde. Für die Identifizierung von Speiseölen (oder den Nachweis von Zumischungen) sowie für den Nachweis von Behandlungen (z. B. zur Unterscheidung von kalt gepresstem und extrahiertem Öl) ist die Zusammensetzung der Fettsäuren meist nicht genügend spezifisch. Deswegen werden Spurenkomponenten herbeigezogen, in erster Linie die sog. Sterinfraktion. Die Analytik der Sterine ist seit langem bekannt, aber kaum je breit eingesetzt worden, da die dazu nötige Probenaufarbeitung aufwendig war.

Die klassische Probenaufarbeitung, z. B. (21), begann mit der Verseifung der Triglyceride. Das Unverseifbare wurde extrahiert (oft mit Schwierigkeiten), der Etherextrakt rückgewaschen und getrocknet, dann eingedampft und schliesslich z. B. via präparative Dünnschicht vorgetrennt. Vor der GC-Analyse wurden die Sterine meist silyliert.

Konzept der LC-GC-Methode

Die Triglyceride werden nicht mehr verseift, sondern mittels HPLC von den Sterinen abgetrennt. Damit werden allerdings auch die Sterinester (welche klassisch zusammen mit den freien Sterinen erfasst werden) nicht verseift. Zudem eluieren freie Sterine praktisch in der Triglyceridfraktion. Deswegen werden nun die freien Sterine so derivatisiert, dass sie im HPLC mit den Sterinestern eluiert werden. Das wird durch Veresterung mit Pivalinsäure erreicht. In der gleichen HPLC-Fraktion befinden sich zusätzlich die Wachsester, welche z. B. bei Olivenöl ebenfalls von hohem analytischem Interesse sind.

Nun erhalten wir also mit dem Transfer der HPLC-Esterfraktion ein GC-Chromatogramm, das die ursprünglich freien (dann derivatisierten) Sterine, die Sterinester sowie die Wachsester separat quantifizieren lässt. Eine sehr kurze Probenaufarbeitung ergibt somit wesentlich mehr Informationen als die klassische Methode.

Methode

100 mg Öl oder Fett werden mit 10 μl 1% Cholesterin/Pyridin (interner Standard; 0,1% bezogen auf die Fettmatrix) und 50 μl Pivalinsäureanhydrid versetzt

und 15 min auf ca. 160 °C erwärmt. Dann wird 10 ml Heptan zugesetzt. 20 µl davon werden auf eine 10 cm × 2 mm i. d. Silikagelsäule (Spherisorb S-5-W) gespritzt und mit 20% Dichlormethan/0,05% Acetonitril/Pentan (400 µl/min) eluiert. Die Esterfraktion (750 µl) wird durch das loop-type Interface in den GC übertragen (simultane Lösungsmittelabdampfung) und mit einem Temperaturprogramm von 200–350 °C analysiert. Die HPLC-Säule wird während der GC-Analyse mit Dichlormethan rückgespült und mit Eluent rekonditioniert. Die Analysenzeit beträgt 45 min, wobei Einspritzungen und Ventilschaltungen automatisch geschehen können.

Resultate

Abbildung 3 zeigt ein HPLC-Chromatogramm eines Erdnussöls. Die in den GC transferierte Fraktion ist eingezeichnet. Die Identität der HPLC-Peaks ist unklar, aber auch unbedeutend. Die ursprünglichen Sterinester und Wachsester koeluieren praktisch mit dem ersten der beiden transferierten Peaks, während die Pivalinsäureester leicht später eluieren. Zur Eichung der Retentionszeiten dienten Cholesterylstearat (Fluka), Jojoba-Öl (bestehend aus Wachsestern) und derivatisiertes Sitosterin. Die Schnittstellen wurden zusätzlich durch Übertragungen der Randfraktionen in den GC überprüft, wobei zur Sicherheit auf jeder Seite der

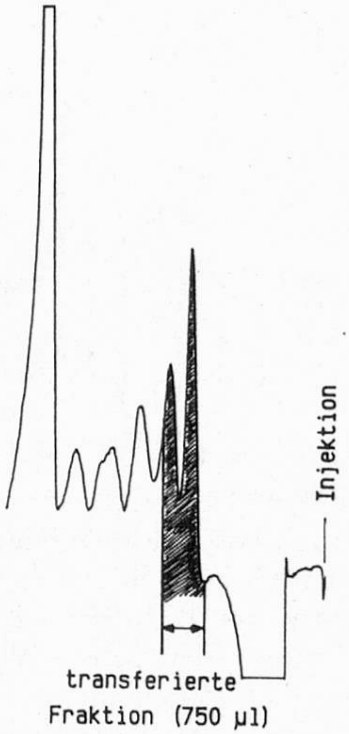

Abb. 3. Chromatogramm der HPLC-Vortrennung eines Erdnussöls bei 220 nm, mit der in den GC transferierten Fraktion. Da selten damit gerechnet werden kann, dass das HPLC-Chromatogramm die interessierenden Komponenten zeigt, dient dieses vor allem zur Eichung und zur Kontrolle über allfällige Verschiebungen der Retentionszeiten. Die meisten sichtbaren Peaks repräsentieren wohl Gemische

Fraktion ca. 100 μl Eluent zusätzlich transferiert wurden (möglich, solange im GC-Chromatogramm dadurch keine störenden Nebenpeaks auftreten).

Abbildung 4 zeigt die GC-Chromatogramme von Erdnussöl und Olivenöl. Das Olivenöl, bezeichnet als «extra vergine» (kalt gepresst), trägt wohl seinen Namen zu Recht. Das Wegbleiben eines Brassicasterin-Peaks (zwischen dem Cholesterin und dem Campesterin-Peak) schliesst Zusatz von Rapsöl aus (Nachweisgrenze unter 1%). Die einseitige Verteilung der Sterine (97% Sitosterin) ist typisch für Olivenöl. Schliesslich ist der tiefe Wachsestergehalt (zusammen mit der Zusammensetzung) typisch für kalt gepresstes Olivenöl (22). Dieser letztere Be-

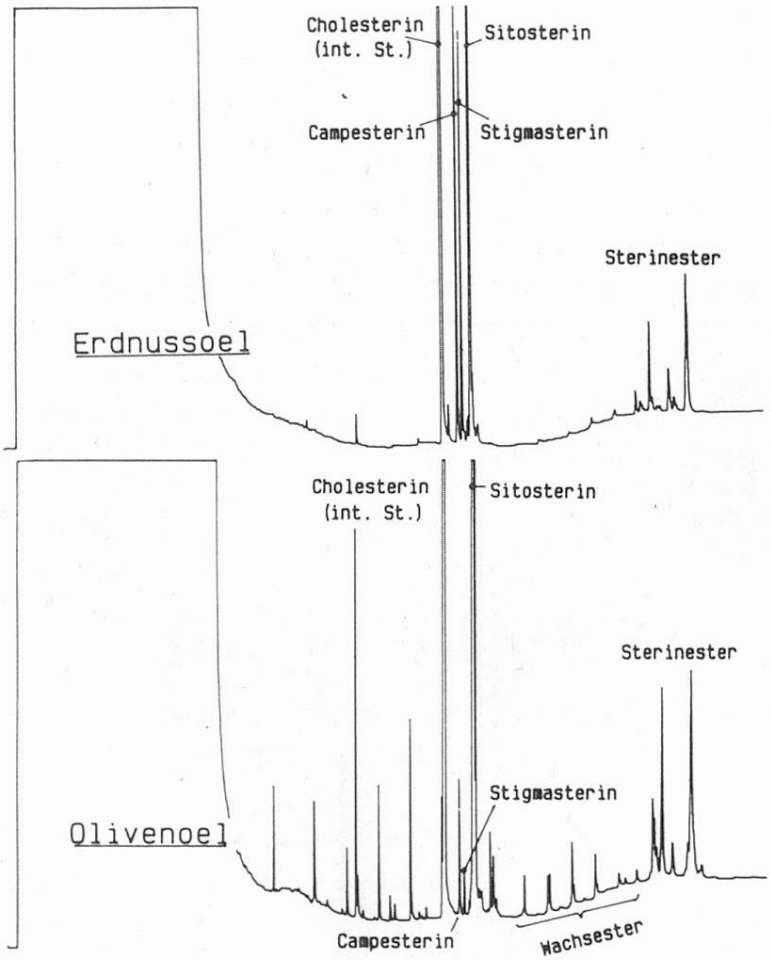

Abb. 4. GC-Chromatogramme der HPLC-Esterfraktionen von Erdnussöl und Olivenöl. Die Abdampfung von 750 μl HPLC-Eluent dauerte knapp 5 min (der Lösungsmittelampf-Ausgang befand sich am Schluss der Säule); der Lösungsmittelpeak ist 7,5 min breit. Cholesterin wurde als interner Standard (0,1% bezüglich Öl) zugesetzt. Die Wachsester umfassen den Bereich von C38 bis C46. Der grösste Peak der Sterinesterfraktion stammt von einem Gemisch aus Sitosterinestern mit Stearin-, Öl- und Linolsäure. Der zweitgrösste Peak der Sterinester im Erdnussöl koeluiert mit Sitosterylpalmitat. Der zweitgrösste Peak der Sterinesterfraktion des Olivenöls wurde nicht identifiziert, ist aber kaum ein Sterinester – Sitosterylpalmitat ko-eluiert mit den etwas früheren Peaks. Im Olivenölchromatogramm dürften die meisten Peaks vor dem Cholesterin von (derivatisierten) Fettalkoholen stammen

fund wurde bestätigt durch einen geringen Gehalt an Erythrodiol (analog ausgeführte LC-GC-Technik mit einer anderen HPLC-Fraktion (23).

Schlussbemerkungen

Die direkte Kopplung von HPLC und GC ist technisch so weit entwickelt, dass für viele Anwendungen in der Routineanalytik keine prinzipiellen Probleme mehr auftauchen. Eine Reihe von LC-GC-Methoden sind bereits publiziert, andere werden in naher Zukunft folgen.

Das kurz vorgestellte Anwendungsbeispiel wurde auf einem Prototypen eines LC-GC-Automaten von Carlo Erba ausgeführt.

Zusammenfassung

Die Verwendung der HPLC zur Probenaufarbeitung sowie deren on-line Kopplung an die GC macht die Probenaufarbeitung effizienter und schneller oder erlaubt gar eine vollautomatische Integration in die GC-Analyse. Die zwei wichtigsten Lösungsmittelabdampftechniken, die «retention gap» Technik und das «simultane Lösungsmittelabdampfen», wurden kurz beschrieben wie auch die zugehörigen zwei Kopplungssysteme, das «on-column» und das «loop-type» Interface. Die Analytik von freien Sterinen, Sterinestern und Wachsestern in Speiseölen und Fetten wurde als Anwendungsbeispiel beschrieben. Die (beschwerliche) Probenaufarbeitung via Verseifung entfällt, und ein einziger LC-GC-Lauf erzeugt Informationen über drei Substanzgruppen.

Résumé

L'application de la chromatographie en phase liquide à haute performance à la préparation des échantillons, ainsi que le couplage «on-line» au chromatographe à phase gazeuse rend l'opération plus rapide et efficiente ou permet même son intégration complètement automatique à l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. Les deux plus importantes techniques d'évaporation du solvant, la technique de «retention gap» et celle de «l'évaporation simultanée du solvant» sont brièvement décrites, ainsi que les deux systèmes de couplage y relatifs, «on-column» et «loop-type interface». Comme exemple d'application, l'analyse de stérols libres, de stérols estérifiés et de cires dans les huiles et les graisses est décrite. La fastidieuse préparation des échantillons par saponification est évitée et un simple passage LC-GC donne des informations sur trois groupes de substances.

Summary

The use of HPLC for sample preparation, and its on-line coupling to GC renders sample preparation more efficient, saves time or even allows its fully automated integration into the GC analysis. The two most important solvent evaporation techniques, the "reten-

tion gap" technique and "concurrent solvent evaporation", are reviewed as well as the two related LC-GC interfaces, the on-column and the loop-type interface. The analysis of free sterols, of sterol esters and wax esters in oils and fats is described as an application. The (tedious) sample preparation via saponification is circumvented, and a single LC-GC run yields information about three classes of compounds.

Literatur

1. *Majors, R. E.:* Multidimensional HPLC. J. Chromatogr. Sci. **18**, 571–578 (1980).
2. *Raglione, Th. V.* and *Hartwick, R. A.:* LC-GC interfacing using microbore HPLC with bundled capillary stream splitter. Anal. Chem. **58**, 2680–2688 (1986).
3. *Ramsteiner, K. A.:* "On-line LC-GC in residue analysis". J. Chromatogr. **393**, 127–129 (1987).
4. *Grob, K., Fröhlich, D., Schilling, B., Neukom, H. P.* and *Nägeli, P.:* Coupling of HPLC with capillary GC. J. Chromatogr. **295**, 55–61 (1984).
5. *Grob, K., Karrer, G.* and *Riekkola, M.-L.:* On-column injection of large sample volumes using the retention gap technique in capillary GC. J. Chromatogr. **334**, 129–155 (1985).
6. *Grob, K.:* Solvent effects in capillary GC. J. Chromatogr. **279**, 225–232 (1983).
7. *Grob, K.:* Peak broadening or splitting caused by solvent flooding after splitless or on-column injection in capillary GC. J. Chromatogr. **213**, 3–14 (1981).
8. *Grob, K.:* On-column injection in capillary GC. Hüthig Verlag, Heidelberg 1987.
9. *Munari, F., Trisciani, A., Mapelli, G., Trestianu, S., Grob, K.* and *Colin, J. M.:* Analysis of petroleum fractions by on-line HPLC-HRGC coupling, involving increased efficiency in using retention gaps by partially concurrent solvent evaporation. HRC & CC **8**, 601–606 (1985).
10. *Maris, F. A., Noroozian, E., Otten, R. R., van Dijck, R. C. J. M., de Jong, G. J.* and *Brinkmann, U. A. Th.:* Determination of PCBs in sediment by on-line narrow-bore column LC/capillary GC. HRC & CC **11**, 197–202 (1988).
11. *Grob, K., Schilling, B.* and *Walder, Ch.:* Concurrent solvent evaporation for on-line coupled HPLC-HRGC. HRC & CC **9**, 95–101 (1986).
12. *Grob, K.:* Column temperature during eluent transfer with concurrent eluent evaporation in coupled HPLC-HRGC. HRC & CC **10**, 297–301 (1987).
13. *Grob, K.* and *Müller, E.:* Co-solvent effects preventing broadening or loss of early eluted peaks when using concurrent solvent evaporation in capillary GC. Part 1: Concept of the technique. HRC & CC **11**, 388–394 (1988); Part 2: n-heptane in n-pentane as an example. HRC & CC **11**, (1988).
14. *Grob, K.* and *Stoll, J.-M.:* Loop-type interface for concurrent solvent evaporation in coupled HPLC-GC. Analysis of raspberry ketone in a raspberry sauce as an example. HRC & CC **9**, 518–523 (1986).
15. *Grob, K.* and *Läubli, Th.:* Minimum column temperature required for concurrent solvent evaporation in coupled HPLC-GC. HRC & CC **10**, 435–440 (1987).
16. *Pacciarelli, B., Müller, E., Scheider, R., Grob, K., Steiner, W.* and *Fröhlich, D.:* GC effluent splitter for problematic solvents introduced in large volumes: Determination of di-(2-ethylhexyl)phthalate in triglyceride matrices as an application. HRC & CC **11**, 135–139 (1988).

17. *Grob, K.* and *Läubli, Th.:* Determination of wax esters in olive oil by coupled LC-GC. HRC & CC **9**, 593–594 (1985).
18. *Grob, K., Müller, E.* and *Meier, W.:* Coupled LC-GC for determining PCBs in fish. HRC & CC **10**, 416–417 (1987).
19. *Davies, I. L., Raynor, M. W., Williams, P. T., Andrews, G. E.* and *Bartle, K. D.:* Application of automated on-line microbore HPLC/capillary GC to diesel exhaust particulates. Anal. Chem. **59**, 2579–2586 (1987).
20. *Grob, K., Lanfranchi, M.* and *Mariani, C.:* Analysis of free and esterified sterols as well as of wax esters in oils and fats by coupled LC-GC. J. Chromatogr. (im Druck).
21. Determinazione della composizione degli steroli; italienische Standardmethode NGD C 51. Riv. Ital. Sost. Grasse **60**, 217–221 (1983).
22. *Mariani, C.* e *Fedeli, E.:* Individuazione di oli di estrazione in quelli di pressione. Riv. Ital. Sost. Grasse **63**, 3–17 (1986).
23. *Grob, K., Biedermann, M.* and *Läubli, Th.:* Determination of free erythrodiol in olive oil. HRC & CC **12**, 49–50 (1989).

Dr. Konrad Grob
Kantonales Laboratorium
Postfach
CH-8030 Zürich