

**ANALYSE POLYCYCLISCHER AROMATISCHER  
KOHLENWASSERSTOFFE UND TENSIDE IN KOMPLEXER  
MATRIX MITTELS COMPREHENSIVER ZWEI-  
DIMENSIONALER GASCHROMATOGRAPHIE**



VOM FACHBEREICH C (MATHEMATIK UND NATURWISSENSCHAFTEN)  
DER BERGISCHEN UNIVERSITÄT WUPPERTAL ZUR ERLANGUNG DES  
AKADEMISCHEN GRADES EINES DOKTORS DER  
NATURWISSENSCHAFTEN

DR. RER. NAT.

GENEHMIGTE DISSERTATION

VORGELEGT VON  
**RAHIL TAHERI**  
AUS TEHERAN

WUPPERTAL  
MÄRZ 2006

Diese Dissertation kann wie folgt zitiert werden:

urn:nbn:de:hbz:468-20060105

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=urn%3Anbn%3Ade%3Ahbz%3A468-20060105>]

Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und unter der Leitung von

Herrn Prof. Dr. Siegmar Gäb

an der Bergischen Universität Wuppertal

im Fachbereich C (Mathematik und Naturwissenschaften)

Arbeitsgruppe Analytische Chemie

in der Zeit von Januar 2003 bis März 2006

Mein großer Dank gilt der Cognis Germany GmbH & Co.KG, die diese Arbeit  
finanziell gefördert hat.

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Siegmund Gäß, für die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe sowie hilfreiche und stetige Unterstützung in Form von Diskussionen und Hilfe bei auftretenden Schwierigkeiten.

Bei Herrn PD Dr. Oliver Schmitz möchte ich mich für die Übernahme des Korreferats und die stetige Unterstützung im Laufe dieser Arbeit sehr bedanken.

Bei Herrn Dr. Walter Turner bedanke ich mich vor allem für die Hilfe bei der Übersetzung der Zusammenfassung und die Diskussionsbereitschaft.

Bei Herrn Dr. Hans-Willi Kling und Herrn Dr. David Melchior (Firma Cognis), bedanke ich mich dafür, dass sie durch ihre Diskussionen viele interessante Ideen zu dieser Arbeit beigetragen haben.

Frau Jane Hübner danke ich für ihre Hilfe bei der Analyse der PAKs.

Frau Waltraud Schiewek danke ich für die seelische und moralische Unterstützung in diesen Jahren.

Herrn Bernd Wallmichrath danke ich für die Unterstützung bei der Formatierung dieser Arbeit.

Frau Michaela Wirtz danke ich dafür, dass ich jederzeit bei unterschiedlichsten Fragestellungen Hilfe von ihr erhalten habe.

Herrn Dirk Neßler danke ich für die Übernahme von Vorkorrekturen dieser Arbeit.

Hiermit möchte ich allen Mitgliedern des Arbeitskreises Analytische Chemie für das außerordentlich gute Arbeitsklima sehr herzlich danken. Bei Herrn Ralf Radon bedanke ich mich für die Hilfe bei aufgetauchten technischen Problemen.

Meinen Eltern danke ich, dass sie mich stets auf unterschiedlichste Art und Weise unterstützt haben.

*Meinem Mann*

---

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1	Eindimensionale Gaschromatographie.....	1
1.2	Multidimensionale Gaschromatographie .....	1
1.3	Comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie.....	3
1.3.1	Modulation .....	4
1.3.2	Orthogonalität.....	8
1.3.3	Eingesetzte Detektoren in der GCxGC .....	9
1.3.4	Datenverarbeitung .....	10
1.3.5	Sensitivität.....	11
1.4	Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe.....	12
1.4.1	Stand der Analytik für PAKs .....	14
1.5	Fette und Öle .....	15
1.5.1	Tenside .....	17
1.5.2	Fettalkoholethoxylate .....	19
1.5.3	Betaine.....	21
1.5.4	Alkylpolyglucoside .....	23
1.5.5	Fettalkoholsulfate (FAS) und Fettalkoholethersulfate (FAES).....	25
<b>2</b>	<b>Aufgabenstellung und Zielsetzung.....</b>	<b>27</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion .....</b>	<b>28</b>
3.1	Analyse der PAKs .....	28
3.1.1	Probenvorbereitung .....	28
3.1.2	Entwicklung der Analysenmethode .....	28
3.1.2.1	GCxGC-Parameter .....	29
3.1.2.2	Modulationsparameter.....	29
3.1.2.3	MS-Parameter.....	29
3.1.3	Sensitivitätssteigerung bei GCxGC gegenüber GC .....	43
3.1.4	Analyse von PAKs in Tocopherol-Proben .....	44
3.1.5	Analyse von PAKs in Olivenöl .....	50
3.1.5.1	Probenvorbereitung des Olivenöls .....	50
3.1.5.2	Analysenbedingung und Optimierung der Methode bei GCxGC-(TOF)MS und GCxGC-FID .....	51
3.1.5.3	Bestimmung der Nachweis-, Erfassungs-, und Bestimmungsgrenzen der PAKs nach DIN 32645 .....	53
3.1.5.4	Vergleich der Quantifizierungsergebnisse von GCxGC-(TOF)MS und GCxGC-FID .....	55
3.2	Untersuchung von Tensiden und Tensidvorstufen.....	56

---

3.2.1	Tensidvorstufen.....	56
3.2.1.1	Nebenbestandteile in Fettalkoholgemischen.....	57
3.2.2	Fettalkoholethoxylate.....	64
3.2.2.1	Gaschromatographie zur Analyse der Fettalkoholethoxylate.....	64
3.2.2.2	Probenvorbereitung zur Analyse der FAEOs in Waschmitteln und Körperpflege-mitteln.....	64
3.2.2.3	Identifizierung von Einzelkomponenten durch EI-Massenspektroskopie.....	66
3.2.3	Untersuchung der Betaine.....	72
3.2.3.1	GC-FID- und GC-MS-Analyse der Cocamidopropylbetaine.....	72
3.2.3.2	2D-GC-Analyse von Dehyton PK.....	77
3.2.3.3	Analyse des silylierten Dehyton PK-Standards.....	88
3.2.3.4	Identifizierung und Quantifizierung der Betaine über die gebildeten Amidoamine.....	90
3.2.3.5	Identifizierung der Betaine in Realproben.....	91
3.2.4	Untersuchung von Alkylpolyglucosiden.....	92
3.2.5	Untersuchung von Fettalkoholsulfaten und Fettalkoholethersulfaten.....	94
3.2.5.1	Probenvorbereitung.....	94
3.2.5.2	Fettalkoholsulfate.....	94
3.2.5.3	Fettalkoholethersulfate.....	99
3.2.6	Analyse eines Duschgels.....	104
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>109</b>
<b>5</b>	<b>Experimenteller Teil.....</b>	<b>112</b>
5.1	Materialien und Geräte.....	112
5.1.1	Chemikalien.....	112
5.1.2	Verwendete Materialien und Geräteeinstellungen.....	116
5.1.2.1	GCxGC-FID Bedingungen für die Analyse des Olivenöls.....	116
5.1.2.2	GCxGC-(TOF)MS Bedingungen für die Analyse des Olivenöls.....	117
5.1.2.3	Die optimierte Methode zur Analyse der Fettalkohle.....	118
5.1.2.4	Die Optimierte Methode zur Analyse der Tocopherole.....	119
5.1.2.5	Die optimierte Methode zur Analyse der Tenside.....	120
5.2	Methoden/Arbeitsvorschriften.....	120
5.2.1	Die Methode aus Eurofins-Labor.....	120
5.2.2	Probenvorbereitung zur Fettalkoholanalyse.....	122
5.2.3	Probenvorbereitung zur Tensidanalyse.....	122
<b>6</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>123</b>
6.1	Ergänzende Abbildungen der PAKs in Olivenöl und Tocopherole.....	123

---

6.2	Ergänzende Abbildung der Amidoamine.....	127
6.3	Ergänzende Abbildungen des „AS-Duschgels“ .....	127
<b>7</b>	<b>Abbildungverzeichnis.....</b>	<b>132</b>
<b>8</b>	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>136</b>
<b>9</b>	<b>Literatur .....</b>	<b>137</b>

## Abstract

In this work, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in complex matrices (tocopherols, olive oil) and tensides [fatty alcohol ethoxylates (FAEO), fatty alcohol sulfates (FAS), fatty alcohol ether sulfates (FAES), alkyl polyglucosides (APG) and cocamidopropylbetaines (CAPB)] in both technical products and commercial cleaners and toiletries were examined, after suitable sample preparation, by comprehensive gas chromatography (GCxGC). Two techniques were used for cryo modulation [longitudinally modulated cryogenic system (LMCS) or hot and cold jets]; the detection was performed by means of a flame-ionization detector (FID) and a time-of-flight mass spectrometer (TOF MS), respectively.

For investigation of the PAHs, a GCxGC-(TOF)MS (Pegasus III, from the Leco company) was used. A conventional capillary GC column (Vf-5MS, 30 m, 0.25 mm, 0.25  $\mu\text{m}$ ), was applied for the separation in the first dimension, and a moderately polar fast GC column (BPX50, 1 m, 0.1 mm, 0.1  $\mu\text{m}$ ) in the second dimension. The injection of the samples was splitless, at a temperature of 330  $^{\circ}\text{C}$ . Thus, in comparison with split injection it was possible to increase the intensity of the signals by a factor of at least five and to reduce the discrimination of the high-boiling PAHs. Both effects were supported by the liner used in the injector block [Agilent company (19251-60540)]. To separate the PAHs, the following temperature program was applied: 40  $^{\circ}\text{C}$  (1 min) to 100  $^{\circ}\text{C}$  at 40  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , then 100  $^{\circ}\text{C}$  to 320  $^{\circ}\text{C}$  at 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  (12 min). A starting temperature of 40  $^{\circ}\text{C}$  leads to separation of the solvent from the main components of the sample and thus to a kind of trapping of the less volatile analytes at the beginning of the column. This resulted in an increase of the signal intensity by a factor of five. As expected, with constant flow (1.4 ml/min) the signal width in the first dimension could be reduced by 2 to 7 s. Since with constant flow the pressure increases in the course of the analysis, the sample components pass through the column faster than with constant pressure, so that the analysis time is reduced. In addition, the chromatographic resolution and the peak form were optimized by adjustment of the modulation and hot-jet times. The use of short modulation times often brings an increase in resolution, but 2.5 s represents a lower limit, beyond which a wrap-around becomes apparent. The best compromise for high- and low-boiling PAHs was a hot jet time of 1.1 s. To avoid sensitivity losses in detection, the temperatures of the ion source (250  $^{\circ}\text{C}$ ) and the transfer line (300  $^{\circ}\text{C}$ ) must be kept as high as possible. Increasing the detector voltage from 1600 V to 1800 V



improved the sensitivity by a factor of eight to ten. After optimization, the performance of the GCxGC-(TOF)MS system was tested with a mixture of 43 deuterated and non-deuterated PAHs (two to six rings). With the exception of benzo[*b*]- and benzo[*k*]-fluoranthene, all the components were separated satisfactorily. Since the treatment of the extensive data and the spectra search in the NIST library are very time-consuming, a personal library for deuterated and non-deuterated PAHs was developed. This shortened the data processing time substantially.

In the course of this work, the optimized analysis method was used to investigate tocopherol samples from Cognis Germany GmbH & Co.KG. The samples were prepared in the laboratory of Eurofins Analytics GmbH (Hamburg) by caffeine-complexing and subsequent gel permeation chromatography after the addition of deuterated PAHs. The following analyses by GCxGC-(TOF)MS (own method) and the GC-MS (Eurofins) agreed well, although in the Eurofins laboratory a large-volume injection (50  $\mu$ l) was used and detection was carried out in the single-ion-monitoring (SIM) mode.

The investigations of olive oil (sample preparation analogous to that of B. K. Larsson, 1987) focussed on a comparison of the methods. The GCxGC-(TOF)MS method described above (modulation by means of hot and cold jets) was compared with the GCxGC-FID (modulation by means of LMCS). The analyses at constant pressure resulted in almost the same retention times for the detected PAHs (naphthalene, phenanthrene, fluoranthene and pyrene). Since no suitable software is available for quantification by means of GCxGC-FID, the results showed significant deviations for phenanthrene and fluoranthene. The concentrations found for all PAHs, however, were below the legally specified maximum of 5  $\mu$ g/kg.

In the second part of this work the tenside groups specified above were analyzed. Since most tenside groups are not suitable for GC analysis, these had to be converted into a volatile form during the sample preparation. The APG, and the FAEO were converted to their trimethylsilylethers by silylation with bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA)/N-methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide (MSTFA). In the case of FAS and FAES, the fatty alcohols or fatty alcoholethoxylates were first formed by hydrolysis and then converted into the trimethylsilylethers. The CAPB are an exception here. These compounds are also very non-volatile; however, at injector temperatures above 310  $^{\circ}$ C they decompose to volatile products. It could be shown that the CAPB react thermally in the injector with loss of the  $\text{CH}_2\text{COO}$  group to the corresponding amidoamines (ca. 50 %). In addition, a rearrangement product (the methyl ester as isomer of the betaine, ca. 10 %) and other decomposition products (ca. 40 %) are formed.

For structural elucidation of the thermolysis products, both EI/MS spectra (own work) and CI/MS spectra (Bayer) were used. With standards from Cognis and other manufacturers (pure substances, technical mixtures) a spectra library was established first, because in many cases neither the mass spectra of the tensides nor their corresponding trimethylsilyethers are available in the NIST library. With this new library it was possible to analyze the complex tenside mixtures present in commercial cleaners and toiletries. The GCxGC-(TOF)MS method used for the PAH determinations had to be changed only slightly for this work. Thus a split injection (1:100) was used, and the modulation time was adjusted to 3 s and the hot jet time to 0.9 s.

Because of the high performance of this new method, several tenside groups can be determined simultaneously in a single analysis. In contrast to one-dimensional GC, the high peak capacity of GCxGC largely avoids the overlapping of peaks. The retention times on the first and second columns, in conjunction with the complete EI/MS spectra, allow an unequivocal assignment of individual components.

### Abkürzungsverzeichnis

AA	Amidoamine
APCI	Atmospheric pressure chemical ionization
APEO	Alkylphenoethoxylate
APGs	Alkylpolyglucoside
AEO	Fettalkoholethoxylate, Alkylethoxylate
AS	Aktive Substanz
amu	Atomare Masseneinheit
BG	Bestimmungsgrenze
BSTFA	Bis-(trimethylsilyl)-trifluoracetamid
BUW	Bergische Universität Wuppertal
CAPB	Cocamidopropylbetaine, Amidalkylbetaine
CE	Kapillarelektrophorese
1D	erste Dimension
2D	zweite Dimension
Da	Dalton
d <sub>f</sub>	Filmdicke
DMF	Dimethylformamid
EG	die Kommission der europäischen Gemeinschaften
EG	Erfassungsgrenze
ESI	Elektrospray-Ionisation
EPA	Environment Protection Agency
EU	Europäische Union
FA	Fettalkohole
FAB	Fast Atom Bombardment
FAEO, AEO	Fettalkoholethoxylate, Alkylethoxylate
FAES	Fettalkoholethersulfate
FAS	Fettalkoholsulfate
FAsilane	Fettalkoholsulfate nach Hydrolyse und Silylierung
FIA	Fließinjektionsanalyse
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatographie
GC-CI/MS	Gaschromatographie-Chemische Ionisation/Massenspektrometrie
GC-EI/MS	Gaschromatographie-Elekterische Ionisation/Massenspektrometrie

GC-GC	Multidimensionale Gaschromatographie
GCxGC	Comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GPC	Gel Permeations Chromatographie
HPLC	Hochleistungs-Flüssigchromatographie
I.D.	Innendurchmesser
IS	Interner Standard
LAS	Lineares Alkylbenzolsulfonat
LC-MS	Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie
LLE	Liquid-Liquid-Extraction = Flüssig-Flüssig-Extraktion
LMCS	longitudinally modulated cryogenic system
μECD	Micro Electron Capture Detector = Elektroneneinfang-Detektor
MeOH	Methanol
MG	Molekulargewicht
MSTFA	N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid
NCI	Negative Chemical Ionisation = negative chemische Ionisation
NIST-Library	National Institut of Standards and Technology-Library
NG	Nachweisgrenze
PAKs	Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe
$t_{r\ 1D}$	Retentionszeit in der ersten Dimension
$t_{r\ 2D}$	Retentionszeit in der zweiten Dimension
SIM	Single Ion Monitoring
SPE	Solid Phase Extraction = Festphasenextraktion
SPME	Solid Phase Micro Extraction = Festphasen-Mikroextraktion
TLC	Dünnschichtchromatographie
TOF MS	Time-of-Flight-Massenspektrometer = Flugzeit-Massenspektrometer
TSP	Thermospray
UV/VIS	Ultraviolett/Sichtbarer Bereich
WHO	World Health of Organization

## 1 Einleitung

### Allgemeine Grundlagen

Aufbauend auf der klassischen eindimensionalen Gaschromatographie (GC) zeichnet sich die multidimensionale GC (GC-GC) und vor allem die comprehensive zweidimensionale GC (GCxGC) durch eine deutlich verbesserte Trennleistung aus.

#### 1.1 Eindimensionale Gaschromatographie

1952 beschrieben James und Martin [1] die erste gaschromatographische Analyse, und drei Jahre später wurde von der Firma Perkin-Elmer der erste kommerzielle Gaschromatograph eingeführt. Die gaschromatographische Trennung beruht auf zwei unterschiedliche und durch die Herington-Beziehung beschriebene Effekte (Gleichung 1), dem Dampfdruck der Analyten und die Wechselwirkungen der Analyten mit der stationären Phase.

$$\frac{t_{r2}}{t_{r1}} = \frac{p_1^0 \cdot \gamma_1}{p_2^0 \cdot \gamma_2} > 1 \quad (1)$$

$p_{1,2}^0$  = Dampfdruck der Analyten

$t_{r1,2}$  = Retentionszeit der Analyten

$\gamma_{1,2}$  = Aktivitätskoeffizient der Analyten

Obwohl die konventionelle Gaschromatographie im Vergleich zur HPLC hohe Peakkapazitäten aufweist, reicht die Trennleistung bei einer komplexen Probenmatrix (z.B. Duftstoffe, Zigarettenrauch oder petrochemische Fraktionen) oftmals nicht aus [2-5]. Um mittels GC eine derart komplexe Probe analysieren zu können, ist deshalb eine aufwendige Probenvorbereitung erforderlich.

#### 1.2 Multidimensionale Gaschromatographie

Die multidimensionale Gaschromatographie zeichnet sich durch die serielle Anordnung von

Säulen unterschiedlicher Selektivität aus, die in Verbindung mit Säulenschalttechniken unter Verwendung mehrerer Gaschromatographen eingesetzt werden [6-8]. Bei der Technik des „Heartcutting“ [9] werden kurze Retentionsabschnitte auf eine zweite polare Trennsäule überführt. Diese Technik wird oftmals bei komplexen Proben durchgeführt, um die Trennleistungen zu erhöhen. Deans entwickelte 1968 eine Kopplung von zwei Säulen, bei der der Eluentenstrom nicht mehr mittels Umschaltventilen, sondern durch unterschiedliche Gasdruckverhältnisse über drei T-Stücke gesteuert werden kann [6]. Durch kontrollierte und steuerbare Gasflüsse hinter der ersten und vor der zweiten Säule wird der Eluent gezielt zum Detektor 1 oder in eine Kühlfalle vor der zweiten Säule und anschließend zum Detektor 2 geleitet. Abbildung 1 zeigt den schematischen Aufbau einer solchen Säulenschalttechnik:

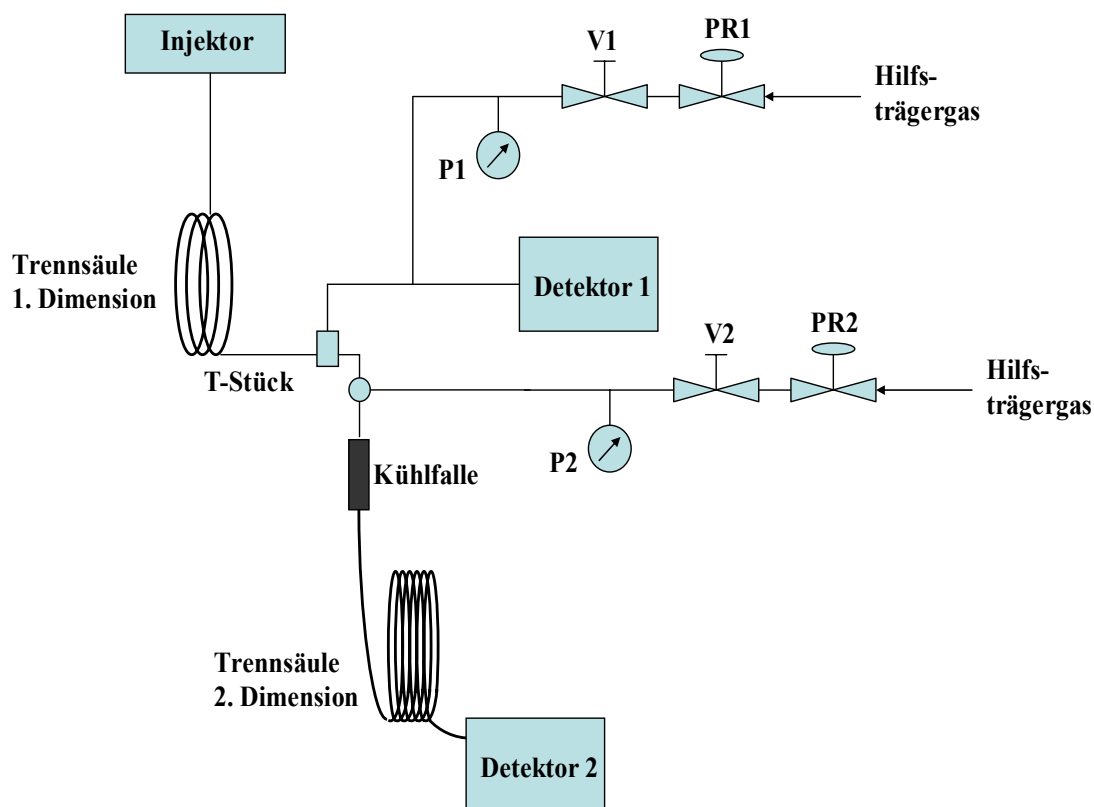


Abb. 1: Schema der multidimensionalen Gaschromatographie nach Deans [6]

PR: Druckregulator; V: Nadelventil; P: Manometer

Ein Maß für die Trennleistung eines chromatographischen Systems ist die Peakkapazität, die angibt wie viele Substanzpeaks basisliniengrennt analysiert werden können. Bei der GC-GC

---

berechnet sich die Peakkapazität wie folgt [10,11]:

$$\text{Peakkapazität} = n_1 + n_2 \quad (2)$$

$n_1$  = Peakkapazität der ersten Säule

$n_2$  = Peakkapazität der zweiten Säule

Die multidimensionale Gaschromatographie ermöglicht eine erhebliche Steigerung der Trennleistung eines chromatographischen Systems, die normalerweise mit einer einzelnen Trennsäule nicht erzielt werden kann [10,12-15]. Mit der Einführung von Kapillarsäulen und massenspektrometrischen Detektoren ist die Verbreitung von Trennsäulenschaltungen zunächst etwas zurückgegangen. Erst mit dem Erschließen neuer Aufgabengebiete, wie der Naturstoff- und Umweltanalytik, haben Trennsäulenschaltungen wieder an Bedeutung gewonnen. Durch immer empfindlichere Detektoren steigt die Zahl der nachweisbaren Komponenten rapide an, so dass auch hochauflösende Kapillarsäulen schnell ihre Leistungsgrenze erreichen. Prinzipiell ist es möglich, mehrere Säulen durch Schaltpunkte so zu verbinden, dass für jeden Bereich im Chromatogramm die gewünschte Selektivität durch Anwahl einer entsprechenden Säule erreicht wird. Die mehrdimensionale Gaschromatographie kann dabei von sehr einfachen Zweisäulensystemen bis hin zu hochkomplexen Schaltsystemen reichen [16-22].

### 1.3 Comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie

1991 beschrieben Liu und Phillips [23] eine neue Form der gaschromatographischen Analyse, die so genannte comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie, kurz GCxGC. Im Gegensatz zur oben beschriebenen konventionellen zweidimensionalen GC (GC-GC) stellt die GCxGC eine alle Probenbestandteile umfassende zweidimensionale Analysenmethode dar [11]. Dabei wird eine unpolare GC-Kapillare (30 m lang, Phasendicke 0,25  $\mu\text{m}$ ) mit einer sehr kurzen polaren GC-Kapillare (1 m lang, Phasendicke 0,10  $\mu\text{m}$ ) gekoppelt. In der Nähe der Kopplung wird ein Modulator angebracht. Dieser hat die Aufgabe, die am Ende der ersten Kapillare ankommende Substanzzone zu fraktionieren und die einzelnen Fraktionen separat in die zweite Kapillare zu überführen. Abbildung 2 zeigt den schematischen Aufbau eines solchen Gerätes.

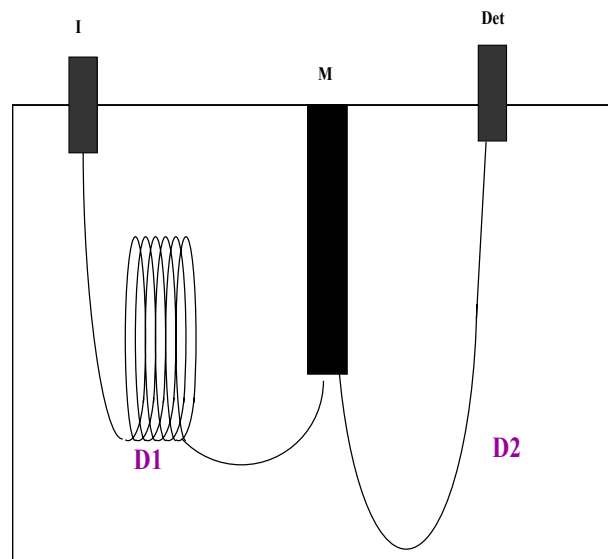


Abb. 2: Schematische Darstellung eines GCxGC-Systems

I = Injektor, D = Detektor, M = Modulator

### 1.3.1 Modulation

Die wichtigste Komponente eines GCxGC-Systems ist der Modulator, an dem folgende Anforderungen gestellt werden [23-26]:

- Eine fortlaufende Fraktionierung des Eluates von der ersten Säule
- Fokussierung der gesammelten Fraktionen
- Injektion der fokussierten Fraktion in die zweite Dimension

Im Laufe der letzten Jahre wurden mehrere Modulatortypen entwickelt, die entweder auf Retardation an einer stationären Phase, Kryofokussierung oder auf Ventilschaltung basieren. Sie können deshalb in drei Gruppen eingeteilt werden. [19,24,26-28]:

- Thermo-Modulatoren
- Kryo-Modulatoren
- Ventil-Modulatoren

Der erste Modulator kam aus der Gruppe der Thermo-Modulatoren, der so genannten Thermo-



Sweeper [29]. Bei diesem System befindet sich zwischen den beiden Trennkapillaren eine ca. 10 cm lange Modulationskapillare mit einer Phasendicke von 3,5  $\mu\text{m}$ . Die Modulation basiert auf einer starken Retardation der Analytmoleküle an der dickeren Phase. Die Remobilisierung wird durch eine Erhöhung der Umgebungstemperatur (um ca. 100  $^{\circ}\text{C}$ ) der Modulationskapillare durch einen rotierenden Heizstab erreicht [30]. Diese Art der Modulation ist für niedrig siedende Analyten gut geeignet, während hoch siedende Substanzen ( $> 230\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) aufgrund der notwendigen Temperaturerhöhung, die zur Remobilisierung benötigt wird, mit diesem Modulator nicht zufriedenstellend analysiert werden können. Trotz des komplizierten Aufbaus und der Temperatureinschränkung wurden ca. 30 % aller bisher publizierten Arbeiten mit diesem, von Phillips und Ledford entwickelten Modulators durchgeführt [30]. Abbildung 3 zeigt schematisch den Aufbau des Thermo-Sweepers:

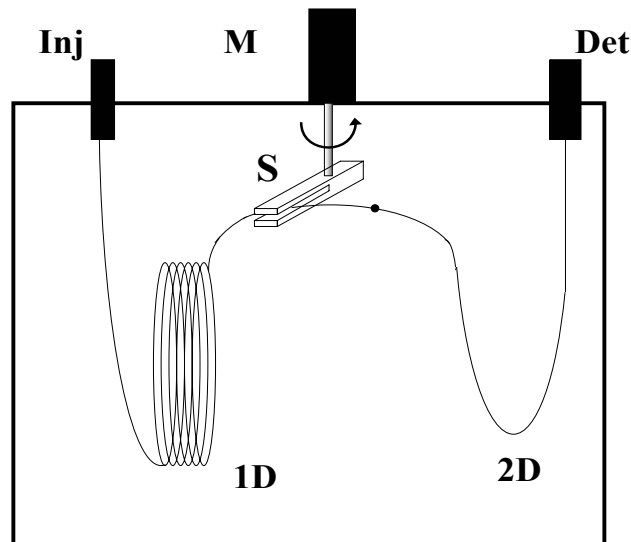


Abb. 3: Darstellung des GCxGC Systems mit Thermo-Sweeper [31]

Inj = Injektor, Det = Detektor, M = Modulator,

1D =, 2D = erste und zweite Dimension, S = rotierender

Heizstab (Slotted Heater)

Das von Marriott entwickelte „longitudinally modulation cryogenic system“ (LMCS) ist der momentan wahrscheinlich am meisten verbreitete Modulator und zählt zu den Kryomodulatoren. Es handelt sich dabei um eine auf einem Transportschlitten installierte Kühlfalle [19,31]. Ein kleiner Bereich der Kapillare kann so im Sekundentakt gekühlt werden. Nach einer z.B. 4 Sekunden dauernden Kühlphase bewegt sich die Kühlfalle entlang des Transportschlittens einige cm in Richtung Injektor und der zuvor gekühlte Kapillarabschnitt wird dann, bedingt

---

durch die umgebende GC-Ofentemperatur, kurz erwärmt und 0,5 s später fährt die Kühlfalle wieder an die zuvor verlassene Stelle zurück und der nächste Kühlzyklus beginnt [32-35]. Da die Substanzzonen bei der GC nach der ersten Dimension ca. 20 s breit sind, werden die Analytmoleküle einer Substanzzone in mehrere 4 Sekunden-Fractionen (Dauer der Kühlphase) aufgeteilt. Die Analyten gelangen nach Verlassen der unpolaren Kapillare (erste Dimension) in den modulierten Kapillarabschnitt und kondensieren dort aufgrund der geringen Temperatur. Dadurch wird eine Fraktionierung und Fokussierung des Analyten erzielt und nach der 0,5 s langen Erwärmung des zuvor gekühlten Kapillarabschnitts kommt es zur Remobilisierung, wodurch die Analyten in die polarere Kapillare (zweite Dimension) überführt werden [34]. Die einzelnen Fractionen sind nach der Fokussierung und Remobilisierung am Anfang der zweiten Kapillare nur noch 25 bis 60 ms breit [31], wodurch die Effizienz und somit die Empfindlichkeit gesteigert werden kann. Ein weiterer Vorteil gegenüber der klassischen zweidimensionalen GC ist die Konservierung der bereits auf der ersten Phase erzielten Trennung. Voraussetzung dafür ist allerdings, dass die Analysenzeit in der polaren Kapillare nicht länger als ein Kühlzyklus dauert [31]. Dies wird durch die Kapillarparameter (Länge und Phasendicke) erreicht. Diese Art der Modulation kann auch mit 2- oder besser noch mit 4-Düsen-Systemen betrieben werden, wobei die verschiebbare Kühlfalle der LMCS durch ein bis zwei Kühl- und Heizdüsen ersetzt werden [24,27,36]. Abbildung 4 zeigt beide Arten der Kryo-Modulation. Diese Modulatoren werden bei einer Vielzahl von unterschiedlichen analytischen Fragestellungen genutzt. Sie können allerdings nicht für eine Mischung aus sehr niedrig siedenden und hoch siedenden Substanzen eingesetzt werden, da aufgrund der gleich bleibenden Temperatur in der Kühlfalle nur für eine dieser Substanzgruppen eine ausreichende Fokussierung gewährleistet werden kann [33,37,38].

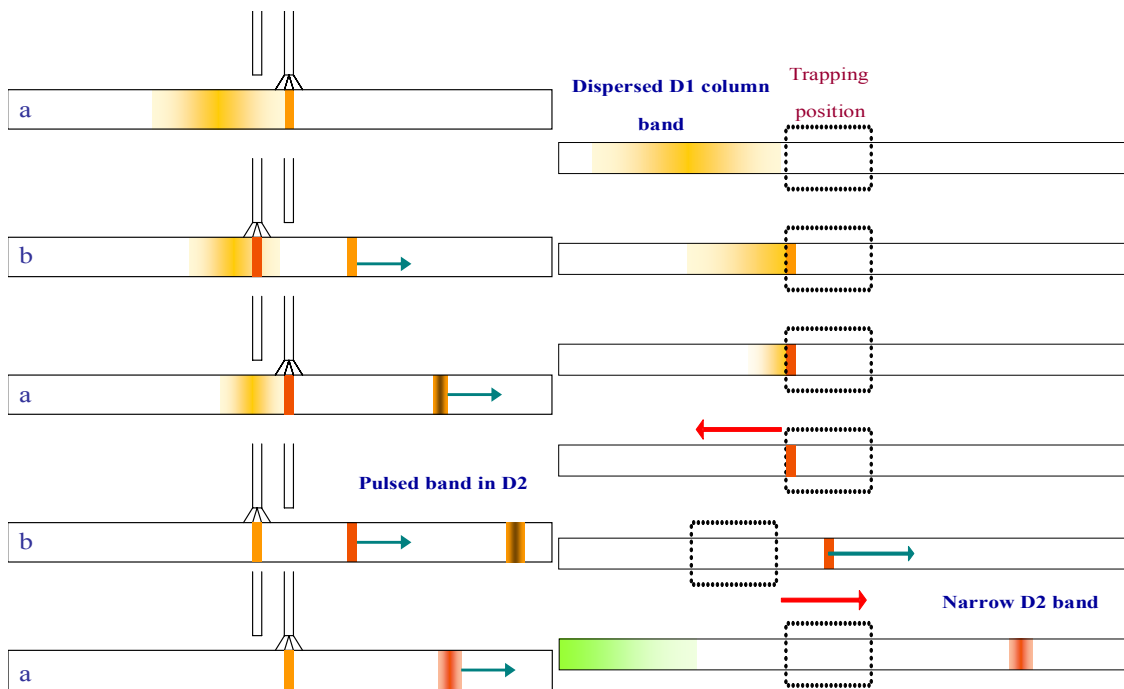


Abb. 4: Darstellung der Funktionsweise eines Jet-Modulators (links) und des LMCS (rechts) [31].

- Der rechte Jet ist eingeschaltet und fokussiert einen Teil der Substanzzone; der linke Jet ist aus.
- Der rechte Jet ist ausgeschaltet und die fokussierte Fraktion wird erwärmt und mobilisiert; der linke Jet ist an und verhindert einer Co-Elution des nicht fraktionierten Eluates aus der ersten Säule [24].

Als Beispiel für die Ventil-Modulatoren haben kürzlich Synovec und Kollegen ein „sixport Diaphragm-Valve“ (6-Wege-Membranventil) entwickelt [39]. Die schnelle Ventilumschaltung produziert Einzelfraktionen der Probe, die in die zweite Säule injiziert werden. Bei Membran-Ventil-Modulatoren wird allerdings nur ein kleiner Anteil der Probe in die zweite Säule überführt. Die Empfindlichkeit bei einem solchen Modulator ist deshalb schlechter als bei den Thermo- und Kryo-Modulatoren [39,40]. Durch eine Weiterentwicklung von Seeley [41,42] konnte die Sensitivität jedoch etwas gesteigert werden. Tabelle 1 vergleicht die derzeit am häufigsten verwendeten Modulatortypen miteinander.

Bei allen Modulatoren sind die beiden Säulen miteinander verbunden, weshalb die Optimierung des Trägergasflusses nicht für jede einzelne Säule möglich ist. Der verwendete Trägergasfluss stellt daher einen Kompromiss für beide Säulen dar, wobei er in der ersten Säule meistens 30 cm/s und in der zweiten, dünneren Säule mehr als 100 cm/s beträgt [24].

Modulator	Fokussierender Effekt			Bandbreite von Injektionsimpulsen [ms]	Applikationsbreite [Siedepunkt °C]	Robustheit
	Phase	Tieftemperatur (Kryo)	Ventil			
Dual-stage heated	+			16-20		---
Sweeper	+			60	125-450	-
LMCS		CO <sub>2</sub>		20-50	125-(550)	+
Four-Jet cryo		N <sub>2</sub>		<10	30-(550)	+++
Two-Jet cryo		flüssiges CO <sub>2</sub>		<10	100-550	++
Single-Jet		CO <sub>2</sub> -Gas/N <sub>2</sub>		<10	100-550	+++
Single-Jet		flüssiges CO <sub>2</sub>		<10	100-550	++
Membran-Ventil			+	14	0-300	+
Differential flow			+	50	0-300	+

Tab. 1: Zusammenfassung der Eigenschaften der verwendeten Modulatoren in der GCxGC nach [24]

### 1.3.2 Orthogonalität

Bei der GCxGC wird die Peakkapazität des Trennsystems durch Multiplikation der Peakkapazitäten beider Kapillaren ermittelt [30]. Diese enorme Trennleistung kann allerdings nur durch eine orthogonale Trennung, also durch unabhängige Trennmechanismen in der ersten und zweiten Dimension, erzielt werden [43]. In der GC basiert die Trennung auf zwei Prinzipien (i) dem Dampfdruck der Analyten und (ii) der Interaktion der Analyten mit der stationären Phase durch Wasserstoffbrückenbindungen,  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen, sterischen Effekten etc. [1]. In einer unpolaren GC-Kapillare ist der Dampfdruck der einzig wichtige Trennparameter und die Trennung erfolgt gemäß den Siedepunkten der Analyten. Bei allen anderen Kapillaren wird eine Trennung aufgrund der spezifischen Wechselwirkungen der ausgewählten „polaren“ Säule, aber auch durch den Dampfdruck der Analyten bestimmt [43].

Um eine orthogonale Trennung zu erhalten, muss die Kapillare der 1. Dimension mit einer unpolaren Phase beschichtet sein [24,44]. Jede aus dieser Kapillare kommende und im Modulator fraktionierte Zone enthält dann Substanzen mit sehr ähnlichen Dampfdrücken. Nach erfolgter Remobilisierung gelangen diese Fraktionen dann auf die Kapillare der 2. Dimension, und obwohl für beide Kapillaren oft nur ein Ofen eingesetzt wird, erfolgt die Trennung auf der polaren Kapillare nahezu unter isothermen Bedingungen, da die Analysenzeit nur wenige Sekunden

beträgt [24]. Deshalb darf der maximale Temperaturanstieg lediglich 5 °C/min betragen [24]. Für die Analyten in jeder individuellen Fraktion, also mit gleichen oder sehr ähnlichen Dampfdrücken, trägt der Siedepunkt der Substanzen nicht zur Trennung in der 2. Dimension bei. Diese erfolgt nur durch spezifische Wechselwirkungen mit der stationären Phase der zweiten Kapillare, weshalb es sich bei der GCxGC um ein orthogonales Trennsystem handelt [43].

Die erste Säule hat normalerweise eine Länge von 15-30 m, einen Innendurchmesser von 0,25 mm und trägt eine unpolare stationäre Phase. In der zweiten Dimension wird eine Kapillare mit mittelpolarer bis polarer Phase (z.B. 35-50 % Phenylen, 65-50 % Dimethylsiloxan, Polyethylenglykol oder Cyanopropyl-Phenyl-Dimethyl-Polysiloxan) eingesetzt [2,24,38,45-49]. Die gewünschte Orthogonalität kann nicht durch eine Kombination wie Polar-Polar oder Polar-Unpolar erzielt werden. In beiden Fällen ist die Trennung in der 1. Dimension vom Dampfdruck und der Polarität abhängig. Somit kann die Trennung in der ersten und zweiten Dimension nicht unabhängig voneinander durchgeführt werden [19,24,42,50,51].

### 1.3.3 Eingesetzte Detektoren in der GCxGC

Aufgrund der im Modulator erzielten Fraktionierung und der kurzen Retentionszeit in der 2. Dimension beträgt die Basisbreite der Peaks nur ca. 100 bis 600 ms [19,27,38,52]. Zur Erfassung dieser schmalen Peaks müssen schnelle Detektoren mit einem kleinen internen Volumen, einer kurzen Ansprechzeit und einer hohen Datenaufnahmerate eingesetzt werden. So eignen sich beispielsweise moderne Flammenionisationsdetektoren (FID) mit einem vernachlässigbaren internen Volumen und einer Datenaufnahme von 50 – 200 Hz [53-55], oder Mikro-Elektroneneinfangdetektoren ( $\mu$ ECD) [46,56]. Das interne Volumen von  $\mu$ ECDs beträgt allerdings 30 bis 150  $\mu$ L und trägt somit zu einer kleinen Bandenverbreiterung bei. Auch wurde schon ein Atomemissionsdetektor (AED) in Kombination mit der GCxGC eingesetzt [57]. Aufgrund der enormen Trennleistung der GCxGC wird diese Methode meistens zur Analyse von komplexen Proben verwendet, weshalb eine spezifische massenspektrometrische Detektion wünschenswert erscheint [38,49,58-60]. Leider ist eine Quantifizierung der schmalen Peaks mit einem einfachen Quadrupol-MS aufgrund der Scandauer von mindestens 1 s nicht möglich. Derzeit leisten nur Flugzeitmassenspektrometer (TOF-MS) die benötigten 50 oder mehr Spektren pro Sekunde, die für eine vollständige Rekonstruktion des zweidimensionalen Chromatogramms notwendig sind [38,59].

Die in der Quelle erzeugten Ionen werden bei einem TOF-MS durch einen elektrischen Impuls beschleunigt. Anschließend gelangen sie in ein feldfreies Flugrohr von etwa 1 m Länge. Da alle Ionen beim Eintritt in das Flugrohr die gleiche kinetische Energie  $E_{kin}$  aufweisen, fliegen sie mit einer konstanten Geschwindigkeit  $v$  weiter, die umgekehrt proportional zu der Quadratwurzel ihrer Masse  $m$  ist. Somit erreichen die leichteren Ionen eher den Detektor als die schwereren. Typische Flugzeiten liegen zwischen 1 bis 30  $\mu$ s. Der Zusammenhang dieser Größen ist in den Gleichungen 3 und 4 dargestellt. Der Detektor eines Flugzeit-Massenspektrometers ist gewöhnlich ein Elektronenvervielfacher (z.B. Multichannelplates, MCP) [61].

$$E_{kin} = z \cdot e \cdot U = \frac{1}{2} \cdot m \cdot v^2 \quad (3)$$

$$v = \sqrt{\frac{2 \cdot z \cdot e \cdot U}{m}} \quad (4)$$

$E_{kin}$  : kinetische Energie ;  $z$  : Ladungszahl ;  
 $e$  : Elementarladung ;  $U$  : Beschleunigungsspannung ;  
 $m$  : Ionenmasse ;  $v$  : Ionengeschwindigkeit

### 1.3.4 Datenverarbeitung

Abbildung 5 zeigt, wie die Fraktionierung durch den Modulator bewirkt, dass die am Ende der 1. Kapillare austretende Substanzzone (zwei nur angetrennte Analyten) in der 2. Kapillare in mehrere separate Peaks aufgetrennt wird. Zur quantitativen Auswertung müssen die integrierten Peakflächen der einzelnen Peaks eines Analyten addiert werden. Um zur bekannten Plotdarstellung der GCxGC zu gelangen, wird das erhaltene Chromatogramm, software-unterstützt, in 4 s-Abschnitte (Kühlzyklus) unterteilt und in die Plotdarstellung überführt (Abbildung 5 unten). Wegen der schwierigen Peakzuordnung ist bei einem FID oder  $\mu$ ECD eine manuelle Auswertung kompliziert. Mittlerweile wird allerdings für das von der Firma LECO Instrumente GmbH (Mönchengladbach, Deutschland) vertriebene GCxGC-System (Pegasus 4D) sowohl für den FID als auch für das TOF-MS eine software-unterstützte Quantifizierung angeboten [62].

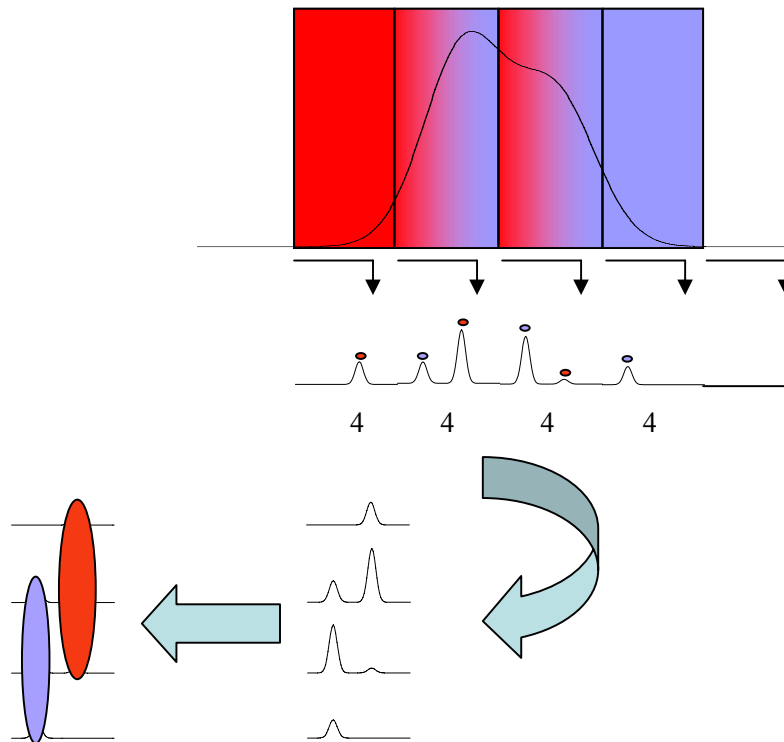


Abb. 5: Schematische Darstellung der Peakfraktionierung in der GCxGC und die Überführung der Daten in die Plotdarstellung

### 1.3.5 Sensitivität

Um die GCxGC mit der eindimensionalen GC hinsichtlich der Sensitivität vergleichen zu können, müssen mehrere Parameter berücksichtigt werden. Zum einen wird das „chemische Rauschen“ aufgrund von störenden Matrixkomponenten bei der GCxGC durch die deutlich verbesserte Trennleistung drastisch reduziert. Aufgrund der notwendig gewordenen höheren Messfrequenz (ca. 50 Hz bei GCxGC gegenüber 2 Hz bei GC) steigt dagegen das „elektrische Rauschen“ an [24]. Zum anderen führen die deutlich schmalere Peaks trotz Fraktionierung zu einem Anstieg der Signalthöhe und verbessern dadurch das Signal-Rausch-Verhältnis der GCxGC gegenüber der eindimensionalen GC. Dies alles führt dazu, dass bei der GCxGC-Analyse von komplexen Proben eine Empfindlichkeitssteigerung um den Faktor 5 bis 10 beobachtet werden kann [24].

#### 1.4 Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe

Die Stoffgruppe der polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAKs) umfasst mehrere hundert Einzelsubstanzen. All diesen Verbindungen ist gemeinsam, dass sie ein Grundgerüst aus mindestens zwei kondensierten Benzolringen besitzen [63].

PAKs entstehen als unerwünschte Nebenprodukte bei unvollständigen Verbrennungsprozessen und beim Erhitzen von organischem Material unter Luftausschluss. Die Nahrung trägt erheblich zur PAK-Belastung bei (95 %) [64]. Im Vordergrund stehen hier geräucherte Fleisch- und Fischwaren, und unsachgemäß gegrilltes Fleisch [65]. Auch Öle und Fette, gerösteter Kaffee, grünes Blattgemüse (Grünkohl), Toastbrot und Kartoffelchips können mit PAKs belastet sein [65,66]. Die PAKs können auch bei der Herstellung und Verarbeitung der Lebensmittel durch Darren bzw. Trocknen im direkten Kontakt mit einer offenen Flamme oder Rauchgasen entstehen [67]. Die Gesamtgehalte an PAKs in Fleisch, Früchten, Gemüse und Milchprodukten bewegen sich zwischen 0,01 µg/kg und 10 µg/kg. Allerdings konnten bereits Gehalte von mehr als 100 µg/kg in geräuchertem Fleisch, von bis zu 86 µg/kg in geräuchertem Fisch und bis zu 160 µg/kg in gerösteten Cerealien gemessen werden [66]. Die durchschnittliche tägliche Aufnahme von PAKs durch Lebensmittel beträgt zwischen 0,10 µg und 10 µg/Person (für die Leitsubstanz Benzo[*a*]pyren liegt sie zwischen 0,14 µg und 1,6 µg pro Tag und Person) [68]. In England wurde die Aufnahme von einzelnen PAKs wie folgt geschätzt (Tabelle 2):

<b>PAKs</b>	<b>Aufnahme [µg PAK/Tag und Person]</b>
Pyren	1,10
Fluoranthen	0,99
Chrysen	0,50
Benzo[ <i>a</i> ]pyren	0,25
Benzo[ <i>a</i> ]anthracen	0,22
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perylen	0,21
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranthen	0,18
Benzo[ <i>e</i> ]pyren	0,17
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranthen	0,06
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracen	0,03

Tab. 2: Aufnahme der PAKs pro Person und Tag in England [68]



Das Gefährdungspotential liegt in den kanzerogenen Eigenschaften einiger Vertreter dieser Gruppe [66]. In Tabelle 3 werden die Ergebnisse der Untersuchungen über verschiedener PAKs nach Genotoxizität und Kanzerogenität zusammengefasst [68].

Komponenten	Gen-toxizität	Kanzero-genität	Komponenten	Gen-toxizität	Kanzero-genität
Acenaphthen	?	?	Coronen	+	?
Acenaphthylen	?	[-]	Cyclopenta[ <i>c,d</i> ]pyren	+	+
Anthanthren	+	+	Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracen	+	+
Anthracen	-	-	Dibenzo[ <i>a,e</i> ]pyren	+	+
Benzo[ <i>a</i> ]anthracen	+	+	Dibenzo[ <i>a,h</i> ]pyren	+	+
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranthen	+	+	Dibenzo[ <i>a,i</i> ]pyren	+	+
Benzo[ <i>j</i> ]fluoranthen	+	+	Dibenzo[ <i>a,l</i> ]pyren	+	+
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]fluoranthen	+	-	Fluoranthen	+	+
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranthen	+	+	Fluoren	-	-
Benzo[ <i>a</i> ]fluoren	?	?	Indeno[ <i>1,2,3-c,d</i> ]pyren	+	+
Benzo[ <i>b</i> ]fluoren	?	?	5-Methylchrysen	+	+
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perylen	+	-	1-Methylphenanthren	+	-
Benzo[ <i>c</i> ]phenanthren	+	+	Naphthalin	-	?
Benzo[ <i>a</i> ]pyren	+	+	Perylen	+	-
Benzo[ <i>e</i> ]pyren	+	?	Phenanthren	?	?
Chrysen	+	+	Pyren	?	?
Triphenylen	+	-			

Tab. 3: Genotoxizität und Kanzerogenität verschiedener PAKs

+ positive; - negative; ? fraglich; [-] keine Studie vorhanden

Für kanzerogen wirkende Stoffe ist es oftmals nicht möglich, einen Grenzwert anzugeben, unterhalb dessen eine krebserregende Wirkung völlig ausgeschlossen ist. Es besteht deshalb ein Minimierungsgebot. Nach Verordnung (EG) Nr. 208/2005 der EU-Kommission vom 4. Februar 2005 wurde die Höchstmenge für Benzo[*a*]pyren in Ölen und Fetten zum direkten Konsum oder als Zutat in einem Lebensmittel erst einmal auf 2,0 µg/kg begrenzt. Benzo[*a*]pyren dient dabei als Marker für die Anwesenheit weiterer PAKs.

Tabelle 3 zeigt, dass die Stoffgruppe der PAKs human-toxikologisch bedenkliche Verbindungen mit kanzerogenem und mutagenem Potential enthält. Aufgrund ihres häufigen Vorkommens in der Umwelt und des Gefährdungspotentials hat die Umweltbehörde der USA (US-EPA) aus der Vielzahl der Verbindungen 16 nicht substituierte PAKs (Abbildung 6) als Leitsubstanzen für die

Untersuchung von PAK-Belastungen ausgewählt [69,70]:

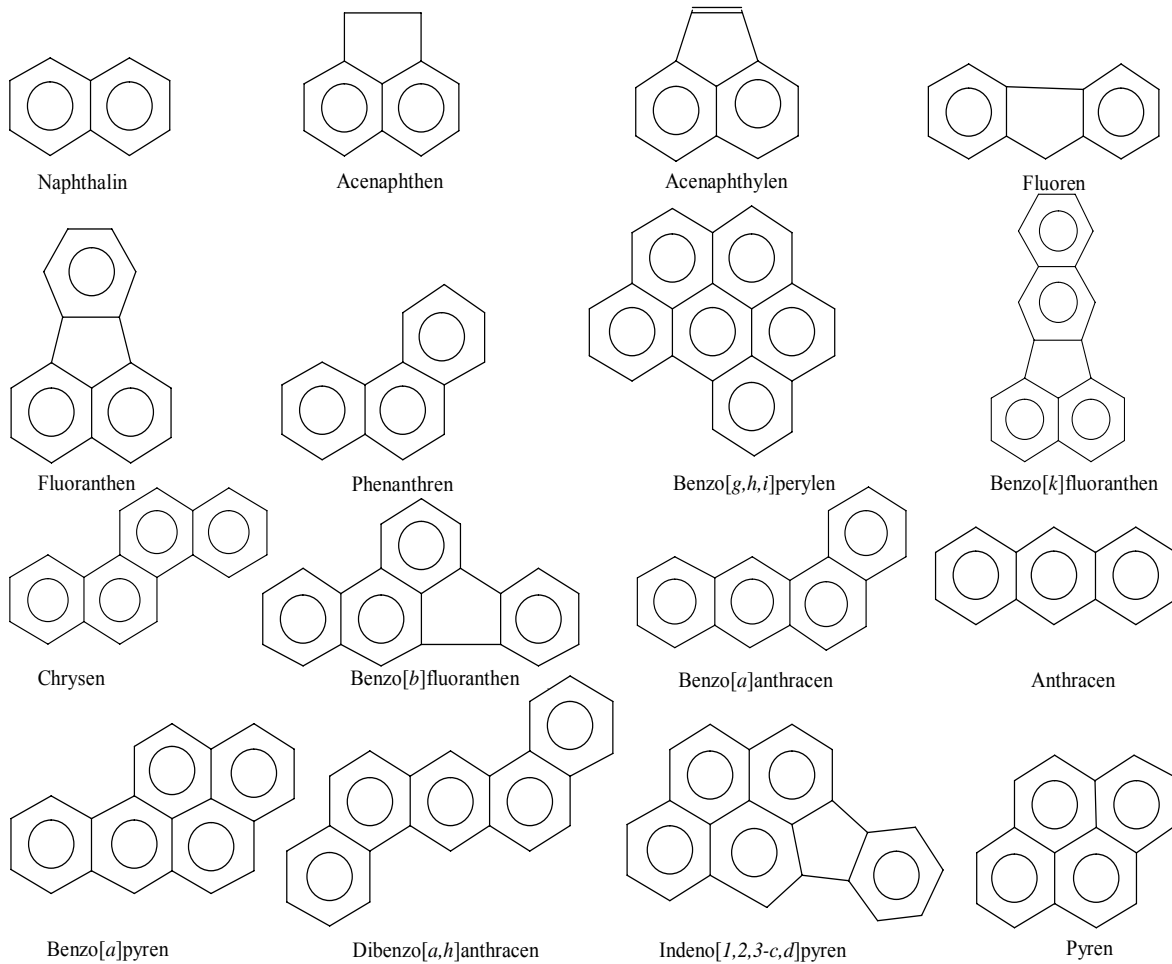


Abb. 6: Strukturformeln der EPA-PAKs

### 1.4.1 Stand der Analytik für PAKs

Zur Analyse von PAKs sind verschiedene Flüssigchromatographische (LC)- und GC-Methoden inklusive Probenvorbereitung (Verseifung [71-73], Flüssig-Flüssig-Extraktion [74,75], Koffein-Komplexierung [76-78], Soxhlet-Extraktion [79,80], Fest-Phase-Extraktion [81] und Hochdruck-Flüssig-Extraktion [82-84]) beschrieben worden. Diese Probenvorbereitungen sind nicht in der Lage die Matrix vollständig zu eliminieren. Daher wurden oftmals weitere Reinigungsschritte wie Adsorptionschromatographie [85] und Gel Permeations Chromatographie (GPC) [86] eingesetzt. In Tabelle 4 sind Analysenmethoden zur PAK-Bestimmung mit den entsprechenden Referenzen zusammengefasst:

Analysemethode	Literatur
HPLC-Fluoreszenz/UV/DAD	[71,72,76,79-81,83,85-94]
GC/MS	[75,78,82,95-97]
LC/LC	[60,98]
GC-MS	[99]
GC/MS/MS	[84,100]
GC-MS (SIM)	[101]
Second derivative synchronous Spectrofluorimetry	[102]
DACC–HPLC-Fluoreszenz	[103,104]
LC-GC-FID	[105]
GC-MS/NCI	[74]
GC-EI-MS	[106]
GC-EI-MS-MS	

Tab. 4: Angewandte Methoden zur Analyse von PAKs

UV (Ultraviolett), DAD (Dioden array detector), NCI (negative chemische Ionisation), EI (Elektronenstoß-Ionisation), SIM (Single Ion Monitoring), (DACC)-Donor-acceptor complex chromatographie

## 1.5 Fette und Öle

Die industrielle Fettchemie befasst sich mit den chemischen Umsetzungen von natürlichen Ölen und Fetten zur Herstellung von Produkten, die sowohl im chemisch-technischen Sektor, als auch in der Lebensmittelproduktion Verwendung finden. Oleochemische Produkte sind dabei meist Bestandteil von Produkten, selten bilden sie das Produkt selbst [107]. Von der Oleochemie werden in großem Umfang für die menschliche Ernährung nicht zugelassene Fette verarbeitet. Wegen des hohen Bedarfs an C12/14-Fettsäuren importiert die Europäische Gemeinschaft jährlich etwa 0,7 Mio. Tonnen Kokos- und Palmöl, und wegen der C16- und C18-Fettsäuren etwa 1 Mio. Tonnen Talg [107]. Die Zusammensetzung der Fettsäuren verschiedener Pflanzen ist in Tabelle 5 aufgelistet [108]:

Fettsäure	Kokosöl	Palmkernöl	Palmöl
Octanocarbonsäure (Caprylsäure)	13	7	-
Decanocarbonsäure (Caprinsäure)			
Dodecanocarbonsäure (Laurinsäure)	45-50	47-52	-
Tetradecanocarbonsäure (Myristinsäure)	13-19	16	1-2
Hexadecanocarbonsäure (Palmitinsäure)	8-9	6-9	45
Octadecanocarbonsäure (Stearinsäure)	2-3	2-3	4-6
Octadecanocarbonsäure (Ölsäure)	5-8	10-18	33
Octadecadien-carbonsäure (Linolsäure)	1-3	1-3	10

Tab. 5: Zusammensetzung der Fettsäure in verschiedenen Pflanzen

Fette und Öle werden mit Verfahren wie Hochdruckspaltung, Umesterung oder Hydrierung in die fettchemischen Basisprodukte nämlich Fettsäure, Fettsäuremethylester und Fettalkohole überführt (Abbildung 7).

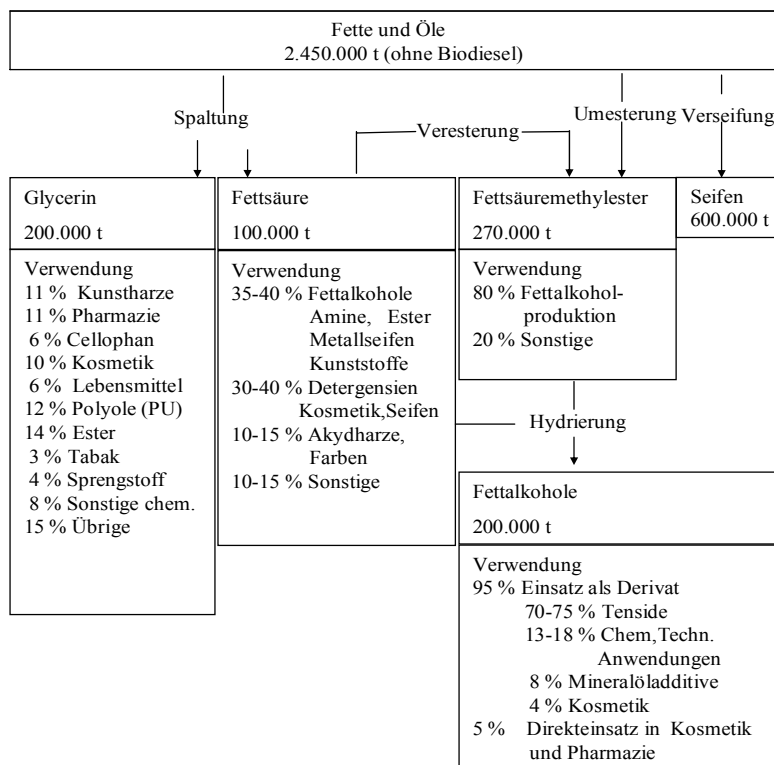


Abb. 7: Stammbaum der Oleochemie nach [107]

In den vergangenen Jahren haben Tenside auf Fettalkoholbasis aufgrund ihrer hervorragenden Wascheigenschaften und der ausgezeichneten biologischen Abbaubarkeit, gegenüber den

---

herkömmlichen Detergentien auf Erdölbasis, zunehmend an Bedeutung für den Waschmittelmarkt gewonnen. Mittlerweile sind Fettalkohole aus nachwachsenden Rohstoffen ein wichtiger Ausgangsstoff für die Produktion von kationischen, anionischen und nichtionischen Tensiden wie z.B. Fettalkoholsulfaten, Ethersulfaten, Ethoxylaten und Alkylpolyglucosiden [109].

### 1.5.1 Tenside

Tenside sind Verbindungen mit amphiphilem Charakter, also Substanzen, die sowohl lipophile als auch hydrophile Gruppen enthalten [110]. Nach dem Vorschlag von Götte (1960), werden alle Waschmittel, Schaumbildner, Netzmittel, Dispergiermittel, Emulgatoren, usw., die in ihren Molekülen „getrennte Bereiche von lipophilem und hydrophilem Charakter“ haben, als Tenside bezeichnet [111]. Die Tenside gehören zu den wichtigsten kosmetischen Grundstoffen. In Cremes treten sie als Emulgatoren auf, in Seifen und Shampoos erhöhen sie die Waschaktivität des Wassers, in Rasierpräparaten wirken sie als Netzmittel und Schaumbildner, in Lippenstiften tragen sie zur Dispergierung der unlöslichen Farbstoffe in der Fettmasse bei, in Badeölen bewirken sie die Wasserlöslichkeit des Parfüms und in Desodorantien werden kationische, oberflächenaktive Stoffe als Bactericide verwendet [110]. Die Unterteilung der Tenside erfolgt entsprechend ihrer Ionenaktivität [112]:

- Anionische Tenside, z.B. Seifen, Fettalkoholethersulfate
- Kationische Tenside, z.B. quaternäre Ammoniumverbindungen
- Nichtionische Tenside, z.B. Polyglykolether
- Ampholytische Tenside, z.B. Betaine

Als lipophile Gruppen fungieren im allgemeinen Kohlenwasserstoffreste ab 10 C-Atomen, aber auch Siloxan oder Oxalkylketten. Als hydrophile Gruppen treten in den anionischen Tensiden Carboxylat-, Sulfat-, Sulfonat- oder Phosphatgruppen auf. In kationischen Tensiden stellen Amin- oder Ammoniumgruppen, in nichtionischen Tensiden Hydroxylgruppen oder Ethylenoxidketten die hydrophilen Gruppen dar. In den amphoteren Tensiden liegen sowohl anionische als auch kationische hydrophile Gruppen gemeinsam vor. Die meisten Tenside, die in Pflegemittel eingesetzt werden, sind keine definierten chemischen Verbindungen, sondern Mischungen von Verbindungen gleichen Typs, z.B. Fettsäuren mit 12, 14, 16 und 18 C-Atomen

im Alkylrest oder mit Polyoxyethylenketten verschiedener Länge. Bei Tensidmischungen sollte die Verträglichkeit der verschiedenen Typen miteinander berücksichtigt werden: Anionische Tenside sind mit kationischen Tensiden im Allgemeinen nicht verträglich, während nichtionische und amphotere Tenside sowohl mit anionisch- als auch mit kationischen Tensiden zusammen verwendet werden können. Die größte wirtschaftliche Bedeutung haben die folgenden Tenside [113]:

- Alkylamidobetaine
- Alkylamidoglycinate
- Fettalkoholethoxylate
- Fettsäuremonoethanolamide
- Alkylpolyglucoside (APG)
- Fettalkoholethersulfate und Fettalkoholsulfate

Um einen Überblick über den Verbrauch von Tensiden in Wasch- und Reinigungsmitteln in Deutschland zu erhalten, ist in Tabelle 6 der Tensidverbrauch für das Jahr 1999 zusammengefasst:

<b>Tensidklasse</b>	<b>Verbrauch [t]</b>	<b>wichtigste Vertreter</b>
Anionische Tenside	38000	Lineare Alkylbenzolsulfonate Alkylsulfonate, Alkylsulfate
	42000	Alkylethersulfate
Nichtionische Tenside	70000	Alkylethoxylate
Kationische Tenside	11000	
Amphotere Tenside	6000	

Tab. 6: Tensidverbrauch im Jahr 1999 in Deutschland nach [114]

Die Firma Cognis gibt den weltweiten Verbrauch wie folgt an (Tabelle 7):

<b>Tenside</b>	<b>Produktion [t]</b>
Alkoholethoxylate	$1,1 \times 10^6$
Alkoholsulfate	$6 \times 10^5$
Ethersulfate	$8 \times 10^5$

Tab. 7: Weltweiter Verbrauch an Tensiden im Jahr 2004 nach [115]

### 1.5.2 Fettalkoholethoxylate

Fettalkoholethoxylate (FAEO) werden auch als Fettalkoholpolyglykoether, Alkylpolyglykoether, Fettalkoholetheroxylate und Alkoholethoxylate (AEO) bezeichnet und ihre allgemeine Struktur ist in der Abbildung 8 dargestellt.

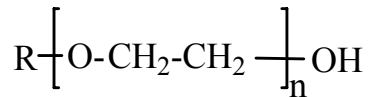


Abb. 8: Allgemeine Struktur der Fettalkoholethoxylate

n = Ethoxylierungsgrad

R = Alkylrest

Dabei handelt es sich um nichtionische Tenside, die mit anderen Tensiden gut verträglich sind. Sie reagieren neutral und sind durch das Fehlen salzartiger Gruppen gegen hartes Wasser, Säuren und Alkalien unempfindlich. Je nach Länge des hydrophoben Alkylrestes R und dem Ethoxylierungsgrad n werden Produkte verschiedener anwendungstechnischer Eigenschaften erhalten (flüssig oder wachsartige Konsistenz, lipid- oder wasserlöslich). FAEOs werden als Lösungsvermittler für Fette und Öle in Dusch- und Schaumbädern, Badeölen, Gesichts- und Rasierwässern, als Emulgatoren und Emulsionsstabilisatoren für Cremes und flüssige Emulsionen und als Salbengrundlage verwendet [110]. FAEOs sind unter verschiedenen Namen wie Genapol C-100, Hostacerin T-3, Rewomul CSF, Brij, Oxetale, Elfapur, Eumulgin, Cremophor A, Dehydole, Marlipale, Promulgen und Mulsifane im Handel erhältlich.

Die Herstellung von FAEOs (Abbildung 9) erfolgt durch Ethoxylierung von technischen Fettalkoholen die petrochemischer Herkunft sind [110].

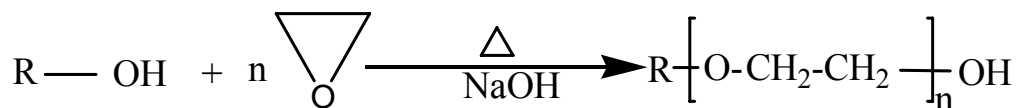


Abb. 9: Schematische Darstellung der Herstellungsprozesse der FAEO

R = Kettenlänge des Alkylrestes mit 10-20 C-Atomen

n = Zahl der Ethylenoxid-Gruppen, vorzugsweise 2-20

Kurzschreibweise: Ethoxylierungsgrad E gibt der Zahl der Ethylenoxid-Gruppen an

Beispiel: Tetraethylenglykollaurylether = "C12E4"

Die kommerziellen technischen FAEOs stellen infolge einer Verteilung von typischerweise E0 bis E40 sehr komplexe Mischungen dar. Sind die FAEOs petrochemischer Herkunft (60 %), beträgt die Länge der Alkylkette C9-C15. Diese kann linear oder einfach verzweigt sein. FAEOs aus einer oleochemischen Quelle (40 %) haben eine Alkylkette mit einer Kettenlänge von C12-C18, welche auch ungesättigt sein kann. Folgende Probleme treten bei der Analyse von FAEOs auf:

- Es sind nur wenige Einzelkomponenten als Reinsubstanz kommerziell erhältlich
- FAEOs haben keine chromophore- oder fluorophore Gruppe
- Sie besitzen unterschiedliche Polaritäten und Molmassen von 144 Da (C9E0) bis über 2000 Da und sind daher flüchtig bis schwer verdampfbar

Die folgende Tabelle zeigt einen Überblick über verschiedene Methoden zur Analytik von FAEOs:

<b>Analysenmethode</b>	<b>Literatur</b>
GC-MS	[116]
GC -FID	[117-119]
Direkteinlaß-EI-MS	[120]
GC-MS (EI)	[121]
GC-MS (CI)	[122]
GC-FID in Kombination mit HPLC-UV	[123,124]
HPLC-MS (TSP)	[125,126]
HPLC-MS-FAB	[127]
HPLC-MS-APCI	[44], [128]
HPLC-MS-Elektrospray	[123,129-131]
HPLC-MS-(FIA)	[132,133]

Tab. 8: Zusammenfassung der Analysenmethode von FAEO

TSP (Thermospray), FAB (Fast Atom Bombardment), APCI (atmospheric pressure chemical ionization), FIA (Fließinjektionsanalyse), EI (Elektronenstoß-Ionisation), CI (chemische Ionisation)



### 1.5.3 Betaine

Amphotere Tenside haben aufgrund eines höheren Preises, nur als Additive in Shampoos eine Bedeutung. Sie liegen je nach pH-Wert des Mediums als Anion oder Kation vor und werden vorzugsweise dort eingesetzt, wo die Eigenschaften kationischer Tenside wünschenswert wären, diese aber wegen Stabilitätsprobleme nicht zugesetzt werden können [110].

Betaine sind weiße, gut wasserlösliche amphotere Tenside, die sowohl eine quartäre Aminofunktion als auch eine Säurefunktion beinhalten. Abbildung 10 zeigt die allgemeine Struktur der Betaine. Die für den Einsatz in Shampoos und Schaumbädern industriell hergestellten Alkyl- und Fettsäureamidoalkylbetaine werden unter den Handelsnamen Tego-Betaine, Rewoterics, Schercotaine und Dehytone vertrieben. Aufgrund der guten Haut- und Schleimhautverträglichkeit werden Betaine bevorzugt in Spezialbademitteln eingesetzt. Dort tragen sie zum einen zur Verbesserung der Schaumstruktur in Kombination mit Fettalkoholethersulfaten und Fettalkoholsulfaten und zum anderen zum Verdicken des Pflegeproduktes bei. Beispielsweise kann bei einem bestimmten Mischungsverhältnis der Betaine mit Ethersulfaten der Einsatz von weiteren Verdickungsmitteln, wie den toxikologisch umstrittenen Fettalkoholpolydialkanolamiden, vermieden werden [110].

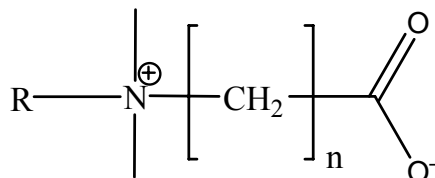


Abb. 10: Allgemeine Struktur der Betaine

Durch Variation des Restes R entstehen verschiedene Betainklassen, wodurch die Eigenschaften der Betaine für spezielle Anwendungen modifiziert werden können. Ein Überblick ist in Abbildung 11 wiedergegeben:

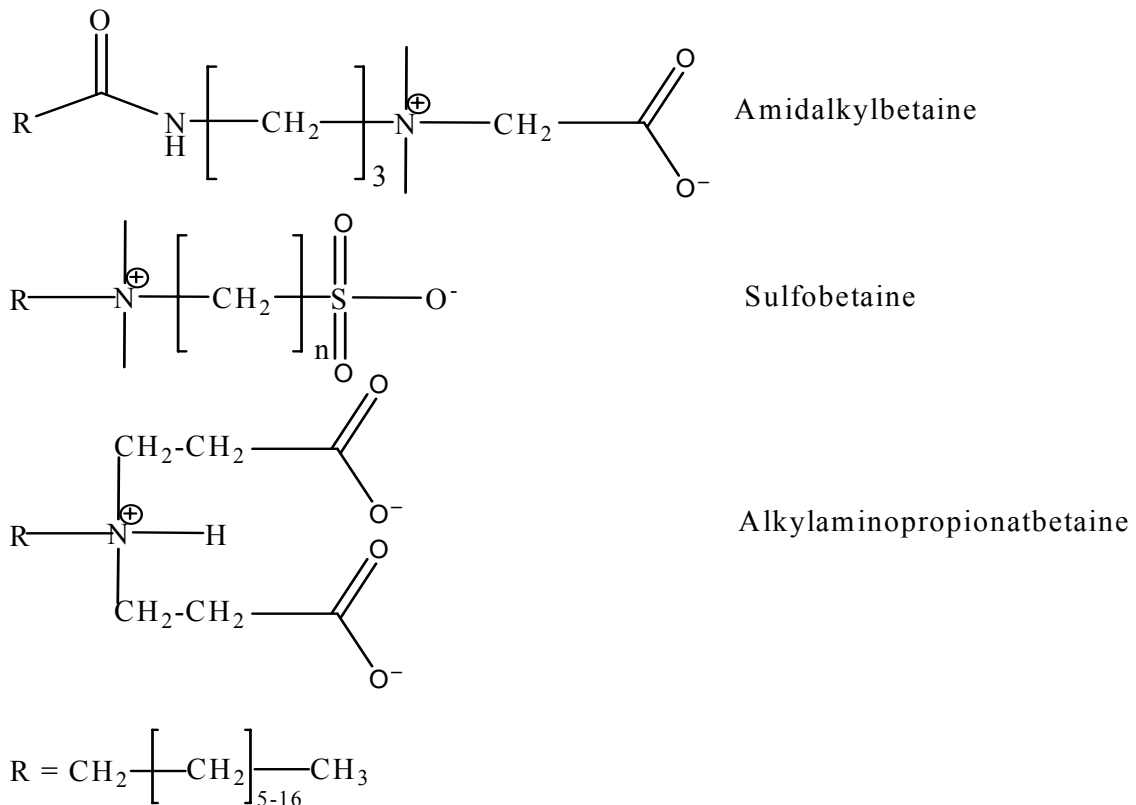


Abb. 11: Übersicht über verschiedene Betainklassen

### *Sulfobetaine*

Sulfobetaine sind sehr milde Tenside, die in Badepräparaten sowie Shampoos hauptsächlich zur Verbesserung der Schaumstruktur eingesetzt werden [110].

### *Amidalkylbetaine*

Amidalkylbetaine (Cocoamidopropyl-Betaine, CAPB) werden als Co-Tenside zusammen mit anionischen Tensiden in der Kosmetik, z.B. in Körperreinigungsmitteln, zur Verbesserung der Schaumqualität und der sensorischen Eigenschaften (angenehmes glattes Hautgefühl, verbesserter Griff der Haare) sowie zur Verringerung der Irritationswirkung von Primärtensiden eingesetzt [108]. Aufgrund der günstigen dermatologischen Eigenschaften und der guten Umweltverträglichkeit gewinnen Cocoamidopropyl-Betaine auch bei der Herstellung der Geschirrspülmittel und anderen Haushaltsprodukten sowie im technischen Sektor an Bedeutung [108].

*Alkylaminopropionatbetaine*

Bei dieser Produktklasse, die auch unter dem Handelsnamen „Deriphat“ vertrieben wird, handelt es sich um hautverträgliche Tenside, die in milden Bade- und Shampoooprodukte verwendet werden [110].

Die meisten Untersuchungen an der Substanzklasse der Betaine werden im medizinischen Kontext durchgeführt. Als physiologisch wichtiges Betain besitzt das Glycinbetain (Methylaminbetain) eine entscheidende Funktion bei der Kontrolle der Salz- und Wasser-Homeostase in jeder Zelle [134]. Tabelle 9 zeigt verschiedene Analysemethoden die zur Bestimmung von Betainen eingesetzt wurden:

<b>Analysemethoden</b>	<b>Literatur</b>
HPLC	[135-140]
HPLC-DAD	[141]
<sup>13</sup> C-NMR	[142,143]
<sup>1</sup> H-NMR und GC	[144]
Fast bombardment mass spectrometry	[145,146]
Pyrolyse GC	[147]
CE	[148,149]
Microchip-CE	[150]
LC-ESI-MS	[151-153]
LC-ESI-MS/MS	[154]
Infrarotspektroskopie	[155]

Tab. 9: Übersicht über verschiedene Analysemethoden zur Bestimmung von Betainen

#### 1.5.4 Alkylpolyglucoside

Alkylpolyglucoside (APGs) sind eine neue Generation der nichtionischen Tenside, die sich in den letzten 15-20 Jahren weltweit etabliert haben [109]. APGs wurden erstmals im Jahre 1893 von Fischer beschrieben [156]. Sie bestehen aus einem hydrophoben linearen Alkylrest und einem hydrophilen Zuckeranteil (Abbildung 12). Der Alkylrest R, der glycosidisch am Glucoserest gebunden ist, weist bei Herstellung der APGs auf Basis nachwachsender Rohstoffe

eine gerade Anzahl an C-Atomen auf; seine Länge variiert zwischen 8 und 16 C-Atomen. Zur Charakterisierung der technischen APG-Gemische werden die Alkylreste und die Zahl der an dem Alkylrest gebundenen Glucoseeinheiten angegeben.

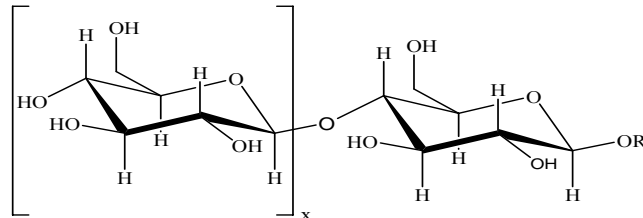


Abb. 12: Allgemeine Strukturformel von APGs

$$R = C_nH_{2n+1}$$

$$n = 8-16$$

$$x = 0-9$$

APGs sind unter verschiedenen Handelsnamen wie Glucopon 215 CSUP, Glucopon 220 DP, Glucopon 225 DK, Agrimul PG 2067, Plantacare 1200 UP, Plantacare 818 UP und Plantacare 2000 UP kommerziell erhältlich. Alkylmonoglucoside (ca. 50 %) und Alkyldiglucoside (ca. 15 %) stellen den größten Anteil der Trockenmasse eines typischen technischen APG-Gemisches dar [157]. Alkyldiglucoside bilden über 30 Isomere, die sich durch die Bildung von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomeren, pyranosiden- und furanosiden Strukturen und durch 1,2-, 1,3-, 1,4- und 1,6-Verknüpfungen unterscheiden [109]. Seit Anfang der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts wurden APGs in Wasch- und Reinigungsmitteln sowie Kosmetika eingesetzt [157].

APGs können auf zwei industriellen Synthesewegen hergestellt werden [157]. Beim einstufigen Verfahren wird Glucose in Fettalkohol suspendiert und unter saurer Katalyse bei 100 °C umgesetzt. Die eingesetzten Fettalkohole stammen aus der Petrochemie oder werden aus Fetten und Ölen nach Fettsäuremethylester gewonnen. Beim zweistufigen Verfahren wird Glucosesirup mit n-Butanol unter säurekatalysierten Bedingungen zur Reaktion gebracht. Anschließend erfolgt eine Umacetalisierung mit langkettigen Fettalkoholen. Nach erfolgter Reaktion wird der saure Katalysator neutralisiert und der Überschuss an nicht umgesetzten Fettalkoholen durch Destillation entfernt. Beide Synthesewege liefern ein Gemisch aus verschiedenen homologen und isomeren APGs [158].

---

### 1.5.5 Fettalkoholsulfate (FAS) und Fettalkoholethersulfate (FAES)

Anionische Tenside unterscheiden sich aufgrund ihrer strukturellen Eigenschaften und können in verschiedene Gruppen unterteilt werden [110].

- Rhizinusölsulfate
- Fettalkoholsulfate
- Alkylsulfonate, Alkylbenzolsulfonate
- Phosphorsäureester
- Ethercarbonsäuren
- Sarcoside
- Eiweißfettsäurekondensationsprodukte
- Fettalkoholethersulfate
- Carboxylate
- Monoglyceridsulfate
- Fettsäureamidethersulfate
- $\alpha$ -Olefinsulfonate
- Fettsäureestersulfonate
- Sulfosuccinate
- Tauride
- Alkylsulfoacetate
- Natriumisothionate

Die Fettalkoholethersulfate werden auch als Fettalkoholpolyglykoethersulfate und Alkylpolyglykoethersulfate, oder allgemein als Ethersulfate bezeichnet. Die Herstellung erfolgt durch Sulfatierung der entsprechenden Fettalkoholethoxylate und anschließender Neutralisation. Dies geschieht durch Umsetzung mittels Chlorsulfonsäure, bei der das entstehende Chlorwasserstoffgas vor der Neutralisation entfernt wird [110]. Die verwendeten Fettalkohole sind meist Gemische aus Lauryl- und Myristylalkohol nativen Ursprungs, wobei auch teilweise lineare und verzweigte Fettalkohole auf synthetischer Basis eingesetzt werden [110]. Der Ethoxylierungsgrad liegt üblicherweise zwischen 2 und 5, kann jedoch auch wesentlich höhere Werte annehmen. Dies ist dermatologisch von Vorteil, weshalb solche Ethersulfate in Baby- und Kinderprodukten bzw. auf dem Gebiet der Intimreinigungspräparate eingesetzt werden [108]. Fettalkoholethersulfate sind wichtige Waschrohstoffe für Shampoos, Schaumbäder, Flüssigseifen und andere Reinigungsmittel. Häufig wird von dieser Gruppe das Natriumlaurylethersulfat verwendet. Die Produkte sind unter verschiedenen Namen wie Texapone, Rewopole, Elfan NS, Genapole, Zetesole im Handel [113].

Die allgemeine Formel für FAES lautet:

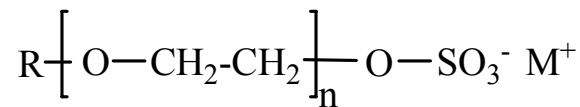


Abb. 13: Allgemeine Strukturformel der FAES

R = Alkylrest mit 10-14 C-Atomen

n = Anzahl der Ethylenoxid-Gruppen, meist 2-5

M = Natrium, Magnesium

Für FAS als Ausgangsmaterial werden höhere Fettalkohole eingesetzt, die einmal durch Oxosynthese aus Olefinen und zum anderen durch Hydrierung der bei der Paraffinoxidation anfallenden Fettsäuren zugänglich sind. Durch Veresterung der Fettalkohole mit konzentrierter Schwefelsäure oder Chlorsulfonsäure werden Fettalkoholsulfate erhalten. Die Natriumsalze dieser n-Alkylsulfate sind wasserlöslich, reagieren neutral und zeigen die gleiche Waschwirkung wie Seifen [110].

Der Anwendungsbereich ist zwischen pH 4-10 möglich. Sie werden für Schaumbäder, Shampoos und Schaumkörper für Mund- und Zahnpflegemittel verwendet. Sie sind reizlose und neutrale Emulgatoren für Salben, Cremes und Emulsionen vom Öl/Wasser-Typ [159].

---

## 2 Aufgabenstellung und Zielsetzung

Rohstoffe wie auch Produkte aus der Industrie unterliegen ständigen Kontrollen, wobei neue Richtlinien auf nationalem- und internationalem Recht (EU-Verordnungen) veränderte Anforderungen an Analysemethoden stellen.

Im Rahmen dieser Doktorarbeit soll eine gaschromatographische Analysemethoden entwickelt werden, mit der die PAK-Analyse in industriellen Vitamin-Chargen und die Tensidanalyse in Pflegemitteln vereinfacht werden kann. Bei beiden Aufgabenstellungen sollen der Einsatz der comprehensiven zweidimensionalen Gaschromatographie und die dadurch erzielte Verbesserung der Trennleistung eine Reduzierung der zeitintensiven Probenvorbereitung gewährleisten. Eine eindeutige Identifizierung der Analyten in diesen komplexen Matrices wird durch die Kopplung der GCxGC mit einem massenspektrometrischen Detektor ermöglicht.

Eine umfassende Optimierung der PAK-Analyse soll gewährleisten, dass eine Vielzahl von PAKs in verschiedenen industriellen Produkten untersucht werden kann. Anschließend sollen die Analyseergebnisse mit denen eines auf PAK-Analytik spezialisierten und zertifizierten Untersuchungslabors verglichen werden. Dieses Labor führt die Analysen mit der eindimensionalen GC in Kombination mit einer massenspektrometrischen Detektion durch, weshalb auch ein direkter Vergleich der klassischen GC mit der GCxGC durchgeführt werden kann. Die Quantifizierung erfolgt bei beiden Methoden mit Hilfe deuterierter PAK-Standards, die vor der Probenvorbereitung den Proben beigemischt werden. Danach sollen beide in der Analytischen Chemie der BUW vorhandenen GCxGC-Systeme, die sich hinsichtlich des Detektors und des Modulators unterscheiden, anhand der PAK-Analyse eines Olivenöls verglichen werden.

Um eine gaschromatographische Tensidanalyse von Pflegemitteln realisieren zu können, müssen die Proben zuvor silyliert werden. Aufgrund der nur selten vorhandenen Reinsubstanzen sollen verschiedene Rohstoffgemische der Firma Cognis analysiert und die erhaltenen komplexen Chromatogramme und MS-Spektren sorgfältig ausgewertet werden. Danach sollen verschiedene Handelsprodukte, wie Shampoos oder Badezusätze hinsichtlich der vorhandenen Tensidgemische mittels GCxGC-(TOF)MS analysiert werden.

---

## **3 Ergebnisse und Diskussion**

### **3.1 Analyse der PAKs**

Tocopherole (Vitamin E) wurden 1936 von Evans erstmalig isoliert [160]. Zur systematischen Einteilung führte 1938 Karrer für das Basisgerüst 2-Methyl-2-(4,8,12-trimethyldecyl)-6-hydroxychroman den Namen „Tokol“ ein. Von diesem Grundgerüst leiten sich die bisher in natürlichen Fetten und Ölen bekannten sieben Tocopherole ab [161]. Industriell werden Tocopherole oft aus Sonnenblumen-, Soja-, Palm-, und Kokosöl nach Destillierung und Desodorisierung (Entfernung von Geschmack und Geruch) gewonnen [162].

In dieser Arbeit wurde die GCxGC zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von PAKs in Olivenöl und Vitamin E (von Cognis Deutschland GmbH & Co.KG) eingesetzt. Die Optimierung der Analysenbedingungen wurde anhand einer EPA-Standardmischung und einigen deuterierten PAKs durchgeführt.

#### **3.1.1 Probenvorbereitung**

Für die Spurenanalyse von PAKs ist die Probenvorbereitung von großer Wichtigkeit. Sie gestaltet sich zumeist aufwendig, wobei Flüssig-Flüssig-Extraktionen [74,75], Verseifung mit nachfolgender Kieselgel-Aufreinigung [71,72,87] oder Koffein-Komplexierung [76-78] häufig eingesetzt werden. Durch den Einsatz von möglichst automatisierten Verfahren zur Probenvorbereitung sollen ungewollte Kontaminierungen der Proben (z.B. Laborluft, Gefäße etc.) vermieden werden. In der vorliegenden Arbeit wurden die untersuchten Proben einer Koffein-Komplexierung und einer Gel Permeations Chromatographie (GPC) unterzogen (siehe Kapitel 5.2).

#### **3.1.2 Entwicklung der Analysenmethode**

Um Trennleistung und Sensitivität der Analyse zu verbessern, wurden folgende Optimierungen durchgeführt:



### 3.1.2.1 GCxGC-Parameter

- Injektortemperatur: 270 – 340 °C
- Starttemperatur (40 °C, 60 °C, 80 °C)
- Heizrate (4 °C/min, 5 °C/min)
- Endtemperatur (320 °C, 330 °C)
- Einfluss des Liners
- Auswahl der Phase in zweiter Dimension
- Purgezeit: 60 s, 80 s
- Trägergas: konstanter Druck/konstanter Fluss

### 3.1.2.2 Modulationsparameter

- Modulationszeit (2 s; 2,5 s; 3 s, 3,3 s, 3,5 s, 4 s)
- Hotjetzeit (0,6 s; 0,9 s; 1 s; 1,1 s; 1,2 s; 1,3 s)

### 3.1.2.3 MS-Parameter

- Temperatur der Ionenquelle: 200 °C, 250 °C
- Detektorspannung: 1600 V, 1800 V, 1900 V

Die bei jedem Optimierungsschritt erzielten Verbesserungen wurden für die folgenden Optimierungen sowohl im Systemprogramm als auch in dem gewählten Temperaturprogramm berücksichtigt.

## GCxGC-Parameter

### *Einfluss der Injektortemperatur*

Es wurde untersucht, ob die Injektortemperatur im Temperaturbereich von 270-340 °C eine Auswirkung auf die Sensitivität der Analyse hat. Dabei wurden, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch eventuelle PAK-Kontaminationen im Injektor oder Lösungsmittel auszuschließen, deuterierte PAKs zur Analyse eingesetzt. In Abbildung 14 sind die Peakflächen in Abhängigkeit von der Injektortemperatur dargestellt.

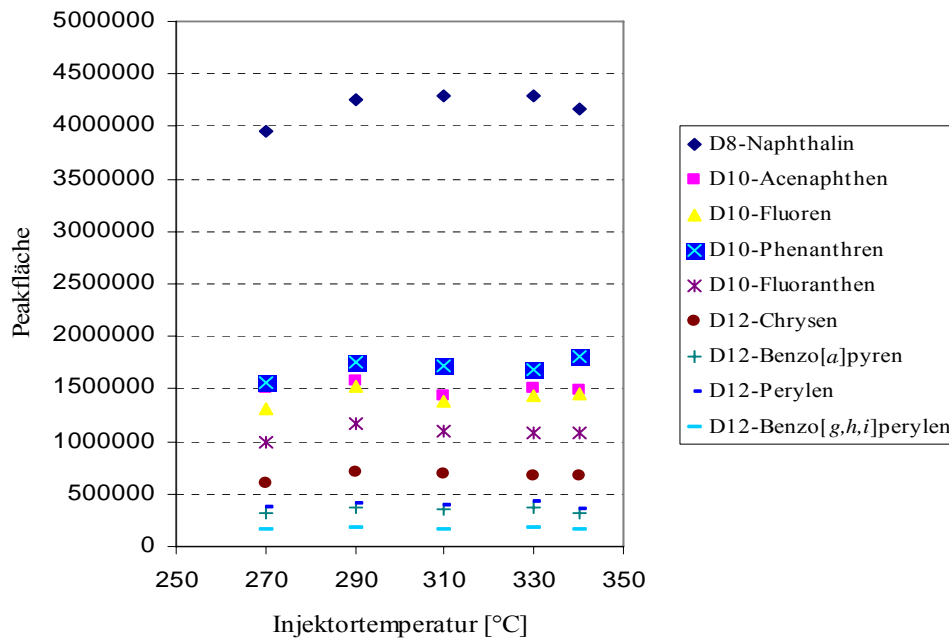


Abb. 14: Abhängigkeit der Peakflächen von der Injektionstemperatur

Die Untersuchung ergab, dass die gewählten Injektortemperaturen keinen großen Einfluss auf die Sensitivität haben. Deshalb wurde für alle weiteren Untersuchungen eine Injektortemperatur von 330 °C verwendet.

#### Starttemperatur

Bei einer geeigneten Starttemperatur kann es zu einer Abtrennung des Lösungsmittelpeaks von den Hauptkomponenten der Probe und damit zu einer Fokussierung der schwerer flüchtigen Analyten am Säulenbeginn kommen. Dies kann durch Kondensation und Wiederverdampfung der Probezone beim Start des Temperaturprogramms gelingen und ist besonders bei der „splitless“-Injektion notwendig.

Gegenüber der Starttemperatur von 60 oder 80 °C führte die Verwendung von 40 °C als Anfangstemperatur zu einer Fokussierung der Probe und dadurch zu 2–7-fach höheren Signalintensitäten. Abbildung 15 zeigt den Vergleich der Starttemperatur von 40 und 60 °C.

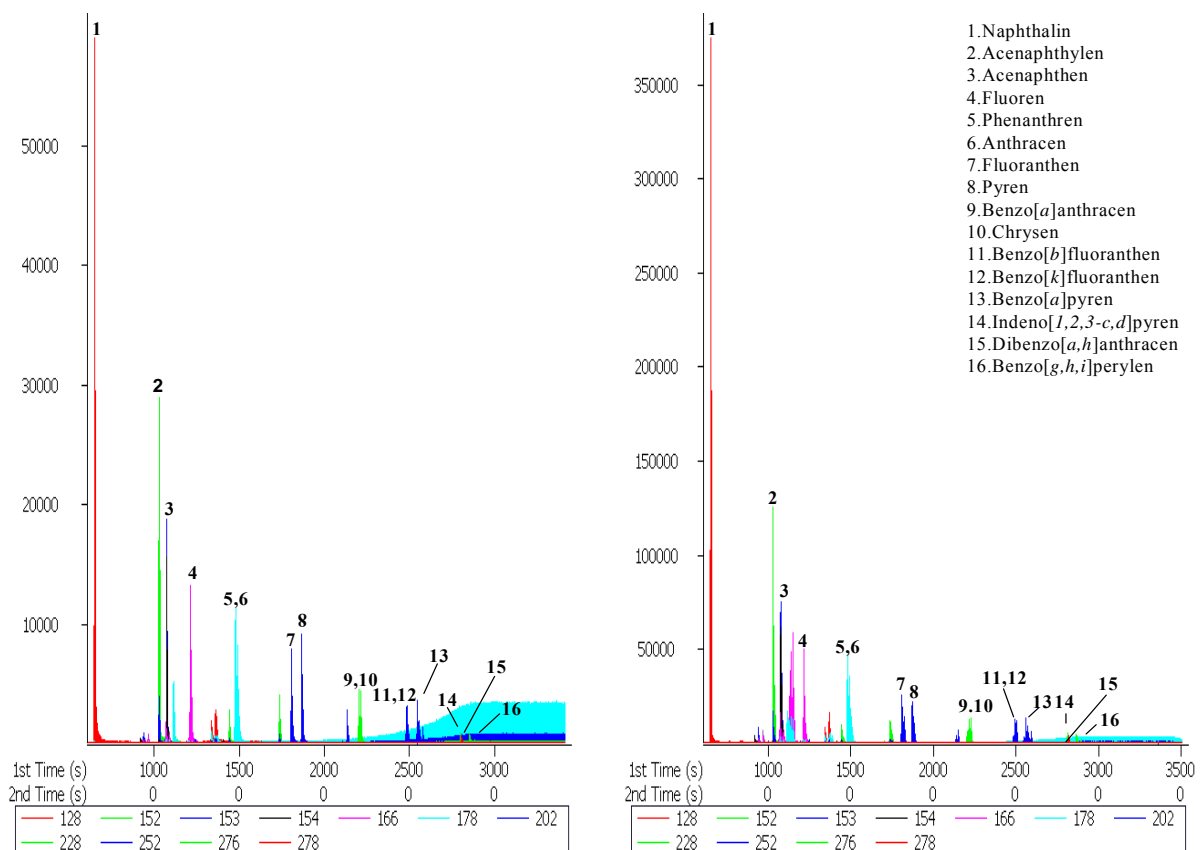


Abb. 15: Vergleich der Signalintensitäten von PAKs bei einer Starttemperatur von 60 °C (links) und 40 °C (rechts)

### Heizrata

Die Analysenzeit auf der zweiten Säule darf nur wenige Sekunden betragen, damit die Trennung auf der zweiten Dimension unter nahezu isothermen Bedingungen erfolgen kann. Bei der GCxGC haben die Analyten in jeder individuellen Fraktion am Ende der 1. Säule gleiche oder sehr ähnliche Dampfdrücke, weshalb unter isothermen Bedingungen auf der 2. Säule der Siedepunkt der Substanzen nicht zur Trennung beiträgt. Die Trennung erfolgt dort nur durch spezifische Wechselwirkungen mit der stationären Phase der zweiten Kapillare. Bei der GCxGC handelt es sich somit um ein orthogonales Trennsystem. Um die Orthogonalität zu gewährleisten, werden bei der GCxGC üblicherweise Heizraten von 1 bis 5 °C/min verwendet. In dieser Arbeit wurden die Heizraten 4 und 5 °C/min getestet. Bei 4 °C konnte mit Ausnahme einer längeren Analysenzeit keine Unterschiede beobachtet werden, weshalb alle weiteren Untersuchungen bei einer Heizrate von 5 °C/min stattfanden. Kleinere Heizraten wurden aufgrund der zu erwartenden langen Analysenzeiten nicht eingesetzt.

### *Endtemperatur*

Bei der GCxGC ist es vorteilhaft, beide Trennsäulen in zwei verschiedenen Öfen anzuordnen (siehe auch Seite 39). Der zweite Ofen kann allerdings nicht aktiv gekühlt werden, weshalb es aufgrund des Modulators (Hot-Jets) und der geheizten Transferline zu einer unreproduzierbaren Erhitzung kommen könnte [62]. Deshalb ist es bei dem hier eingesetzten GCxGC-System erforderlich, dass die Temperatur im zweiten Ofen etwa 10 °C höher als im ersten Ofen gewählt wird. Bei der Auswahl der Endtemperatur musste dagegen berücksichtigt werden, dass das Säulenbluten bei der GCxGC zu einer stärkeren Störung als bei der eindimensionalen GC führt, da es sich im Gegensatz zur klassischen GC nicht in einer Erhöhung der Basislinie sondern in die Ausbildung diskreter Signale bemerkbar macht. Für die Analyse von schweren PAKs sind allerdings hohe Endtemperaturen erforderlich, um in einer angemessenen Zeit die Analyse durchführen zu können. Die Untersuchungen ergaben, dass bei einer höheren Temperatur als 320 °C im 1. und 330 °C im 2. Ofen das Säulenbluten bei den eingesetzten Kapillaren (besonders bei der polaren Phase in der 2. Dimension) zu stark wurde, weshalb alle folgenden Analysen mit einer Endtemperatur von 320 °C/330 °C betrieben wurden.

### *Einfluss des Liners auf die Analyse*

Zwei verschiedene, speziell für die „splitless“-Injektion entwickelte Liner von Agilent (Waldbronn, Deutschland) wurden für die Analyse eingesetzt (A und B, Abbildung 16). Der Liner A sollte das Fallen der Tröpfchen auf den Splitterboden und dadurch eine Diskriminierung verhindern. Beim Einsatz von Liner B wird die Probe in einen Wattepfropfen injiziert. Dies ermöglichte eine homogene Verdampfung der Probe und lieferte bessere Ergebnissen, weshalb bei allen weiteren Untersuchungen der Liner B eingesetzt wurde. Die Abhängigkeit der Peakflächen vom eingesetzten Liner ist für verschiedene deuterierter PAKs in Abbildung 16 dargestellt.

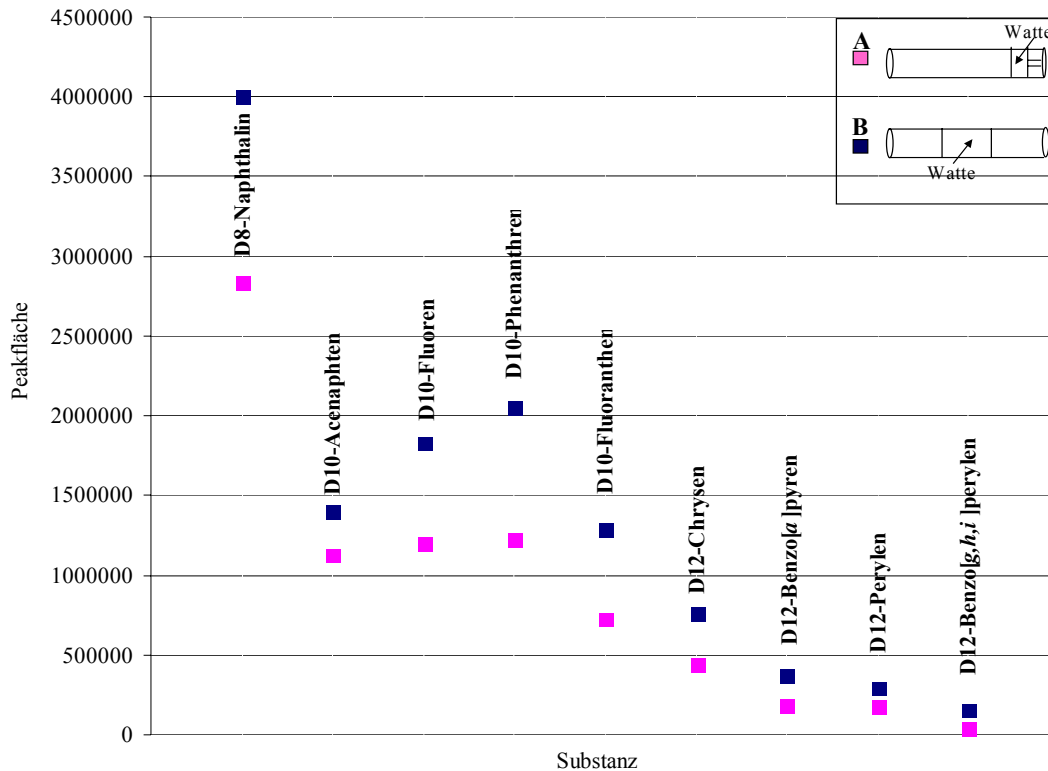


Abb. 16: Abhängigkeit der Peakflächen deuterierter PAKs vom eingesetzten Liner. Die kleine Abbildung zeigt eine schematische Darstellung der Liner A und Liner B

#### Auswahl der Trennkapillare für die zweite Dimension

Zur Auswahl der geeigneten Kapillaren für die PAK-Analyse in komplexen Proben wurde eine Mischung aus 43 PAKs (Tabelle 10), inklusive deuterierter PAKs, mit denen später die Proben zwecks Quantifizierung aufgestockt werden soll, injiziert. Die Optimierung begann mit einer Kapillarkombination aus BPX5 für die 1. und BPX50 für die 2. Dimension. Abbildung 17 zeigt die Plotdarstellung der Analyse der Standardmischung mit dieser Kapillarkombination. Die Identifizierung aller Probenkomponenten mit der selbst aufgebauten Spektrenbibliothek bereitete keine Probleme. Die Auflösung war allerdings bei Analytpaaren D10-Fluoren und Fluoren, D10-Fluoranthren und Fluoranthren, Benzo[a]anthracen, D12-Chrysen und Chrysen, Benzo[e]pyren, D12-Benzo[a]pyren und Benzo[a]pyren, Indeno[1,2,3-c,d]pyren und Dibenzo[a,h]anthracen nicht optimal. Abbildung 18 verdeutlicht, dass eine Identifizierung der Substanzen möglich, eine Quantifizierung aufgrund der nicht vollständig getrennten Peaks hingegen problematisch war.

Eingesetzte PAK-Standards		
D8-Naphthalin (1)	Benzo[ <i>b</i> ]naphtho[1,2- <i>d</i> ]thiophen (16)	Benzo[ <i>a</i> ]pyren (31)
Naphthalin (2)	Pyren(17)	Indeno[1,2,3- <i>c,d</i> ]pyren (32)
Acenaphthylen (3)	Benzo[ <i>a</i> ]fluoren (18)	Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracen (33)
D10-Acenaphthen (4)	1-Methylpyren (19)	D12-Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perylene (34)
Acenaphthen (5)	Cyclopenta[ <i>c,d</i> ]pyren (20)	Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perylene (35)
D10-Fluoren (6)	Benzo[ <i>a</i> ]anthracen (21)	Anthanthren (36)
Fluoren (7)	D12-Chrysen (22)	D14-Dibenzo[ <i>a,i</i> ]pyren (37)
Dibenzothiophen (8)	Chrysen (23)	Dibenzo[ <i>a,l</i> ]pyren (38)
Anthracen (9)	Methylchrysen (24)	Dibenzo[ <i>a,i</i> ]pyren (39)
Phenanthren (10)	Benzo[ <i>b</i> ]fluoranthren (25)	Dibenzo[ <i>a,h</i> ]pyren (40)
D10-Phenanthren (11)	Benzo[ <i>k</i> ]fluoranthren (26)	D12-Coronen (41)
2-Methylphenanthren (12)	Benzo[ <i>e</i> ]pyren (27)	Coronen (42)
3,6-Dimethylphenanthren (13)	D12-Perylen (28)	Dibenzo[ <i>a,e</i> ]pyren (43)
Fluoranthren (14)	Perylen (29)	
D10-Fluoranthren(15)	D12-Benzo[ <i>a</i> ]pyren (30)	

Tab. 10: Zusammensetzung der PAK-Standardmischung

Bei den nachfolgenden Optimierungen wurde die Kapillare der 1. Dimension beibehalten, da dort keine Verbesserung der Trennleistung mehr zu erwarten war. Für die 2. Dimension wurden Kapillaren verschiedener Polaritäten (HP1301, BP20 und BPX50) getestet. Abbildung 19 zeigt beispielhaft die Trennung von Benzo[*k*]fluoranthren und Benzo[*b*]fluoranthren (je 100 µg/l) unter Verwendung der getesteten Säulen. Die HP1301-Säule (eine weniger polare Säule als BPX50) ergab dabei keine gute Trennung. Dagegen konnte die beste Trennung mit der polaren Säule BP20 (Polyethylenglykol) erzielt werden. Der Einsatz dieser Säule war für weitere Untersuchungen allerdings wegen ihrer maximalen Einsatztemperatur von 280 °C nicht möglich. Deshalb wurden alle weiteren Untersuchungen mit einer Kombination aus BPX5 und BPX50 durchgeführt. Aufgrund des Fehlens einer optimalen Säule für die zweite Dimension, wurde durch Optimierung der Methode und Variieren der anderen Systemparameter eine bessere Trennung angestrebt.

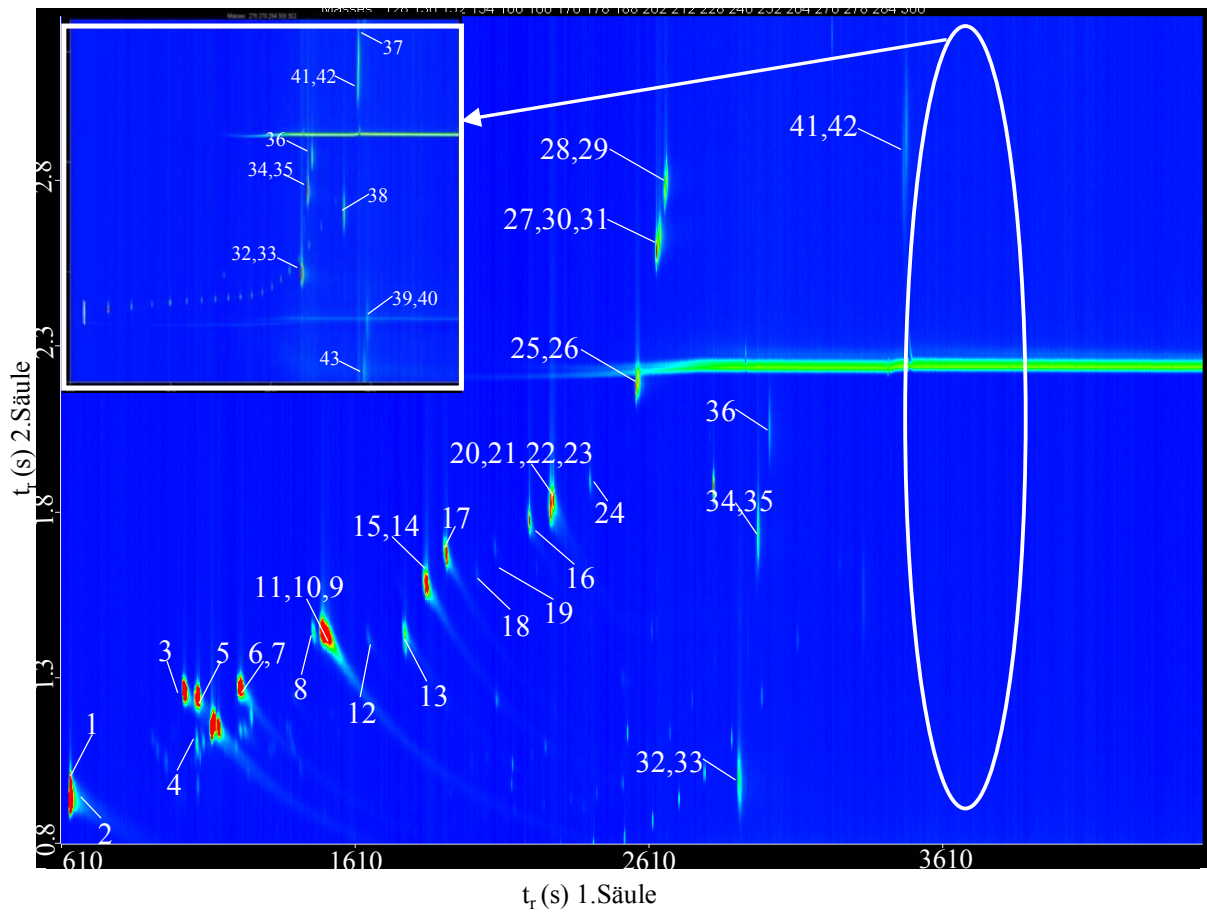


Abb. 17: Analyse der PAK-Standardmischung. Es wurden nur Signale mit folgenden Molekülonen angezeigt:  
 m/z: 128, 136, 152, 154, 166, 176, 178, 184, 188, 202, 212, 228, 240, 252, 264, 276, 278, 288, 300, 302

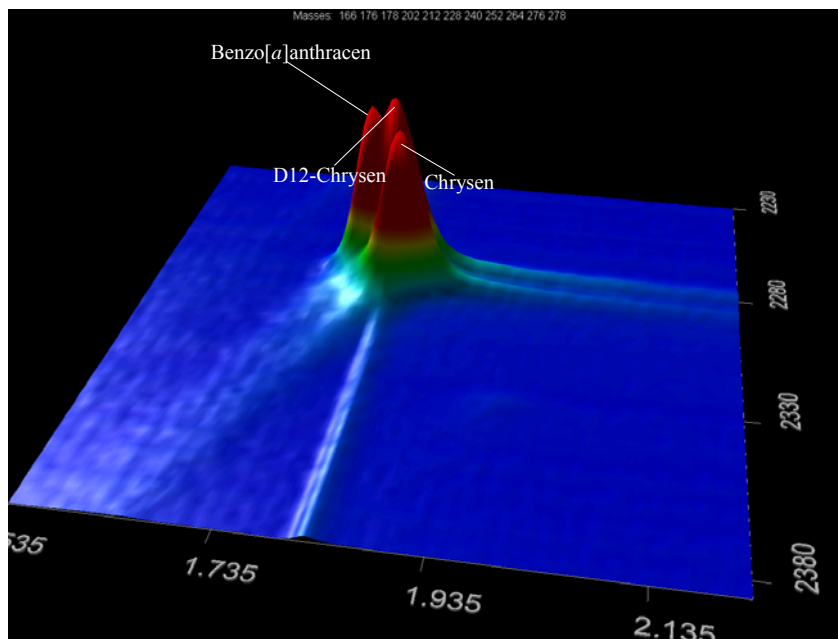


Abb. 18: Trennung von Benzo[a]anthracen, D12-Chrysen und Chrysen

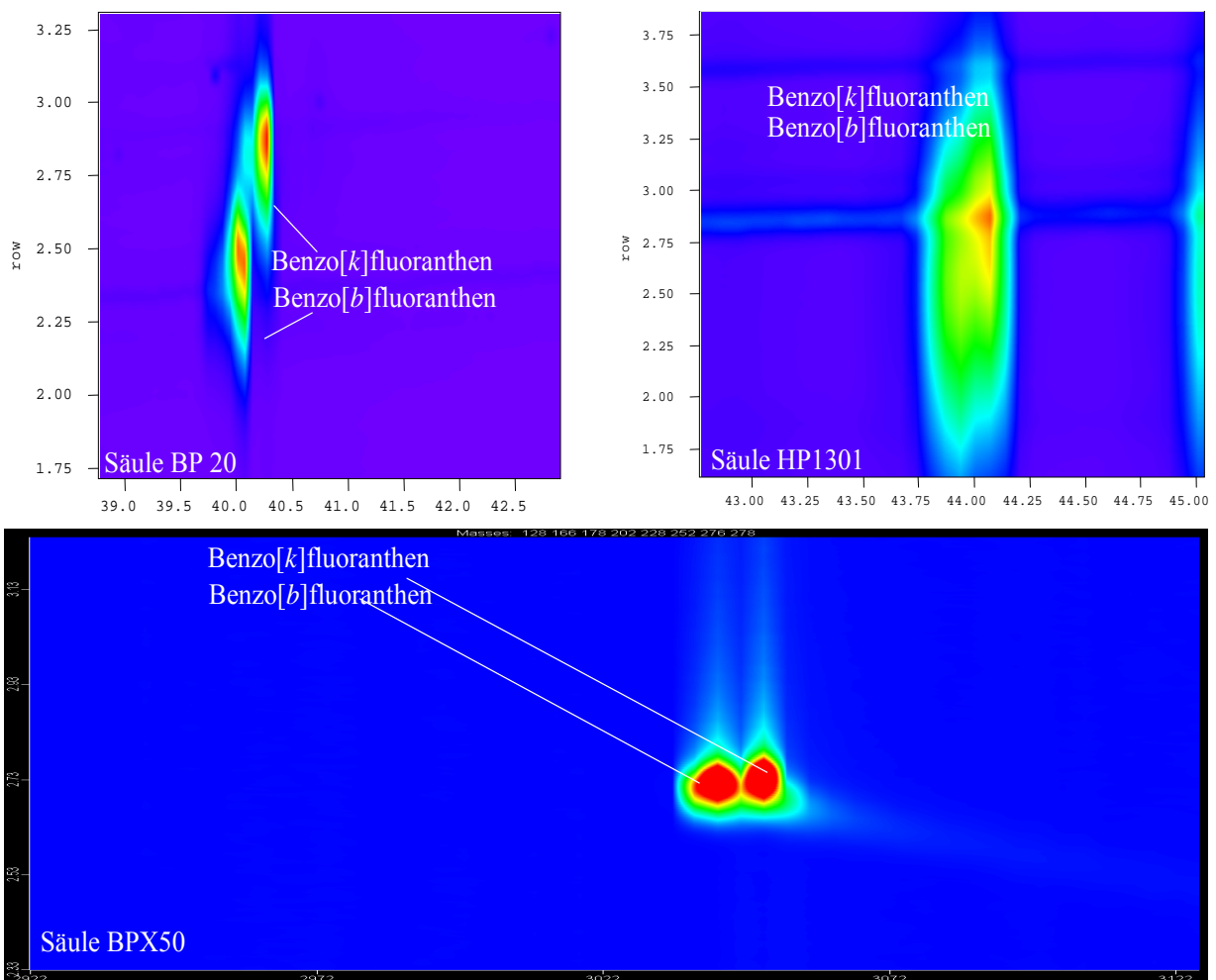


Abb. 19: Vergleich der Trennleistungen getesteter polarer Säulen

### Purgezeit

Bei der „splitless“-Injektion soll die gesamte Probe nach Verdampfung in die Säule überführt werden. Während der Einspritzung muss das Splitventil deshalb eine gewisse Zeit geschlossen bleiben, um auch hochsiedende Substanzen quantitativ in die Säule zu überführen. Diese Zeit wird als Purgezeit bezeichnet. Um eine Diskriminierung der hochsiedenden Substanzen zu vermeiden, wurden verschiedene Purgezeiten getestet. Bei einer Purgezeit von 20 und 40 s gibt es eine starke Diskriminierung. Dieser Effekt wurde selbst bei niedrigsiedenden PAKs (2-3 Ringe) registriert. Erst eine Purgezeit von 60 s reichte aus, um die Diskriminierung von PAKs zu vermeiden, weshalb diese für die weiteren Analysen verwendet wurde. Abbildung 20 zeigt die Signalintensitäten von D10-Phenanthren (Siedepunkt 339 °C) und D12-Benzo[a]pyren (Siedepunkt 493 °C) in Abhängigkeit der angewandten Purgezeit (40 s und 60 s).



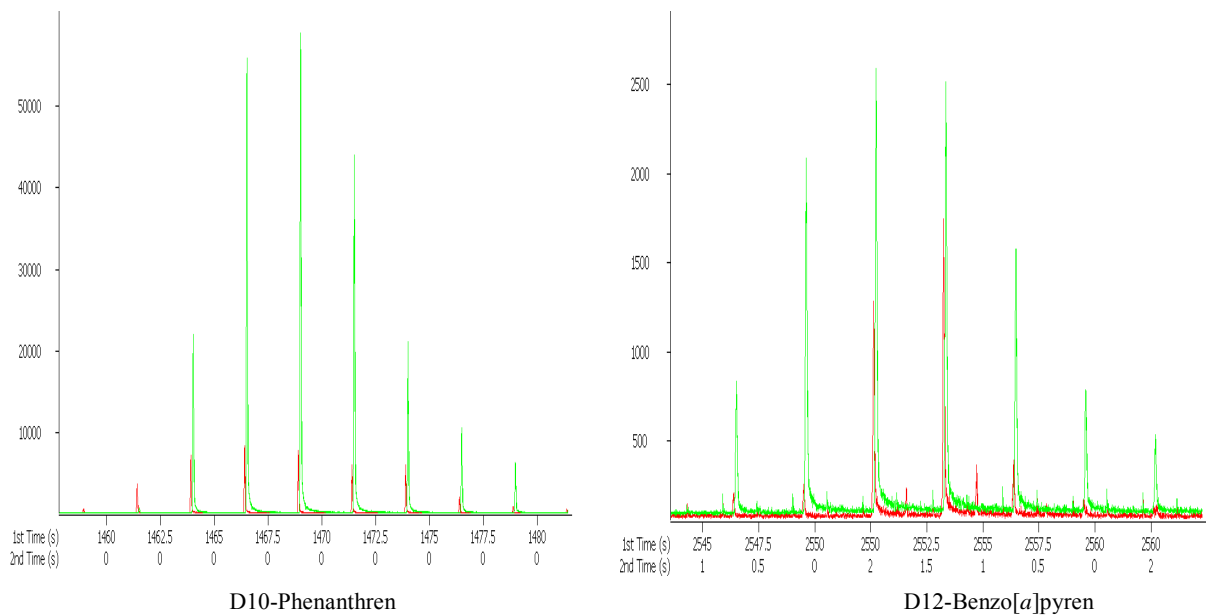


Abb. 20: Vergleich der Signalintensität von D10-Phenanthren (links) und D12-Benzo[*a*]pyren (rechts) bei verschiedenen Purgezeiten (rot: 40 s und grün: 60 s)

#### *Trägergas: Konstanter Druck/konstanter Fluss*

Allgemein wird bei der GCxGC eine Kombination von zwei Säulen mit unterschiedlichen Abmessungen verwendet (z.B. 30 m, 0,25 mm Innendurchmesser, 0,25  $\mu\text{m}$  Phasendicke und 1 m, 0,1 mm Innendurchmesser, 0,1  $\mu\text{m}$  Phasendicke). Dabei ist die zweite Säule eine Fast-GC-Säule, die eine schnelle Trennung in der zweiten Dimension ermöglicht. Die hier eingesetzte GCxGC hat ein eingebautes „Electronic Pressure Control“ (EPC)-System, das die Kontrolle des Drucks im Gerät ermöglicht. So konnte ermittelt werden, dass unter Verwendung von konstantem Druck der Fluss im Laufe der Analyse bei steigender Temperatur um den Faktor 3 abnimmt (bei einer Starttemperatur von 40 °C und einem Druck von 32 psi beträgt der Fluss 1,4 ml/min und reduziert sich bei einer Endtemperatur von 320 °C auf 0,5 ml/min). Der geringere Trägergasfluss trägt bei den spät eluierenden Peaks zu einer Peakverbreiterung bei und erschwert somit zusätzlich zu dem detektionsbegleitenden Säulenbluten die Identifizierung und Quantifizierung des Signals.

In modernen Gaschromatographen besteht aber die Möglichkeit, die Messungen auch bei einem konstanten Fluss durchzuführen, wobei der Druck im Laufe der Analyse entsprechend erhöht wird. So beträgt bei einer Starttemperatur von 40 °C und einem Fluss von 1,4 ml/min der Druck 32 psi, und steigt zum Ende der Analyse (320 °C) bei gleich gebliebenem Fluss auf ca. 60 psi an. Demzufolge passieren die Probenkomponenten die beiden Säulen schneller als bei konstantem

Druck, wodurch es zu einer Reduzierung der Analysenzeit, zu schmalere Peaks und somit zu einer Steigerung der Peakkapazität kommt. Die Analyse von PAKs wurde sowohl unter Verwendung eines konstanten Flusses als auch bei konstantem Druck durchgeführt. Wie erwartet reduziert sich die Signalbreite der Peaks nach der 1. Dimension (vor dem Modulator) bei Verwendung eines konstanten Flusses um 2-7 s. Die Retentionszeiten in der 1. Dimension waren dabei um ca. 4 min kürzer und aufgrund der zusätzlich zu beobachtenden besseren Trennungen wurden alle weiteren Analysen mit diesem Modus durchgeführt.

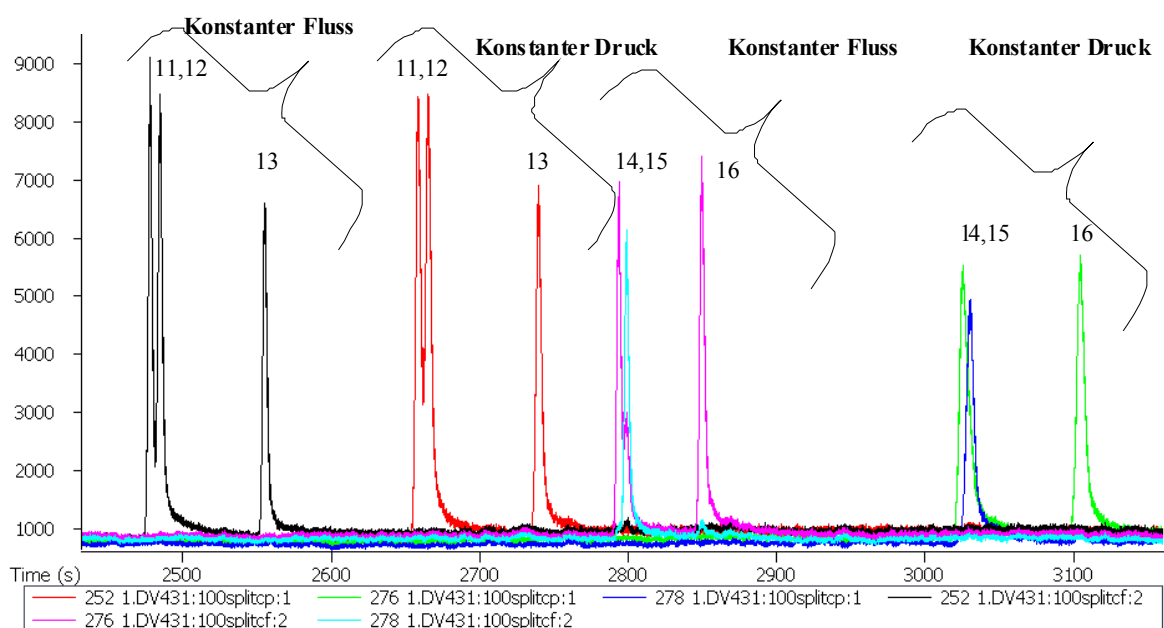


Abb. 21: Vergleich der Peaks von hochsiedenden PAKs unter konstantem Druck und Fluss

Benzo[*b*]fluoranthen (11), Benzo[*k*]fluoranthen (12), Benzo[*a*]pyren (13), Indeno[1,2,3-*c,d*]pyren (14), Dibenzo[*a,h*]anthracen (15), Benzo[*g,h,i*]perylene (16)

## Modulationsparameter

### Modulationszeit

Die Modulationszeit hat einen großen Einfluss auf die Trennung und die Empfindlichkeit. Bei der GC beträgt die Peakbreite am Kapillarende ca. 20 s. Bei einer Modulationszeit von 4 s würden somit mindestens 5 Pulse benötigt, um den Peak zu fraktionieren. Unter Verwendung von kürzeren Modulationszeiten kann oftmals ein sogenannter „wrap-around“ beobachtet werden. Dies geschieht dann, wenn die Retentionszeit auf der 2. Säule größer als die Modulationszeit ist.

Dadurch wird der Analyt erst im nachfolgenden Modulationsschritt detektiert (Abbildung 22), und die in der 1. Dimension erzielte Trennung kann durch Co-Elution wieder verloren gehen [24].

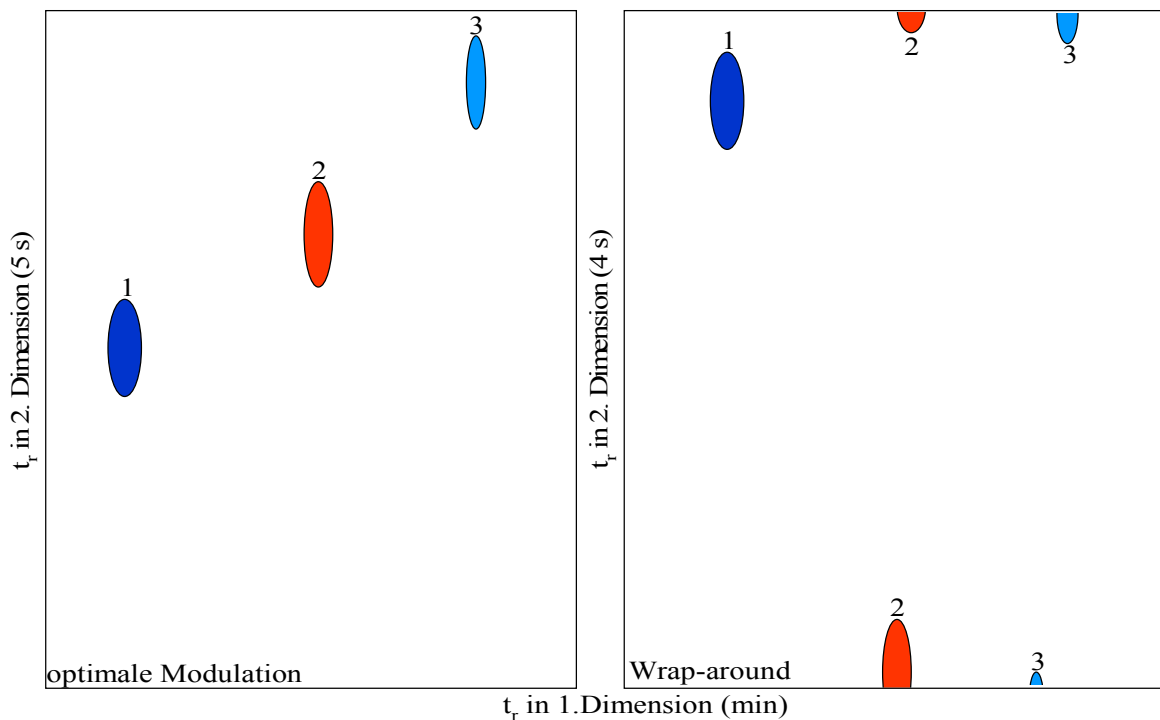


Abb. 22: Schematische Darstellung einer optimalen Modulation und eines „wrap-around“ bei Signal 2 und 3 (rechts: Modulationszeit 5 s, links: Modulationszeit 4 s)

Es gibt zwei Möglichkeiten diesen Effekt zu vermeiden:

- Verlängerung der Modulationszeit
- Erhöhung der Temperatur im zweiten Ofen (nur bei Systemen mit zwei Öfen anwendbar)

Die Auswahl der Modulationszeit hängt von der Geschwindigkeit der Analyse in der zweiten Dimension ab. Das hier verwendete GCxGC-System mit zwei Öfen sieht vor, dass die Temperatur im zweiten Ofen höher ist, wodurch eine höhere Geschwindigkeit der Trennung in der zweiten Säule erreicht wird. Diese Option ermöglicht die Verwendung von kürzeren Modulationszeiten gegenüber Systemen mit nur einem Ofen. Eine kurze Modulationszeit bringt bei der Analyse komplexer Proben oftmals eine Steigerung der Trennleistung, denn die Peaks werden dadurch öfter fraktioniert. Im Rahmen dieser Arbeit wurden folgende Modulationszeiten

getestet: 2 s; 2,5 s; 3 s; 3,3 s; 3,5 s und 4 s. Modulationszeiten unter 2,5 s zeigten einen starken „wrap-around“ und konnten deshalb nicht eingesetzt werden. Die Verwendung der Modulationszeit von 2,5 s führte unter anderem bei D10-Phenanthren, Phenanthren und Anthracen zu einer deutlichen Verbesserung der Trennung (Abbildung 23), weshalb sie bei alle weiteren Analysen eingesetzt wurde.

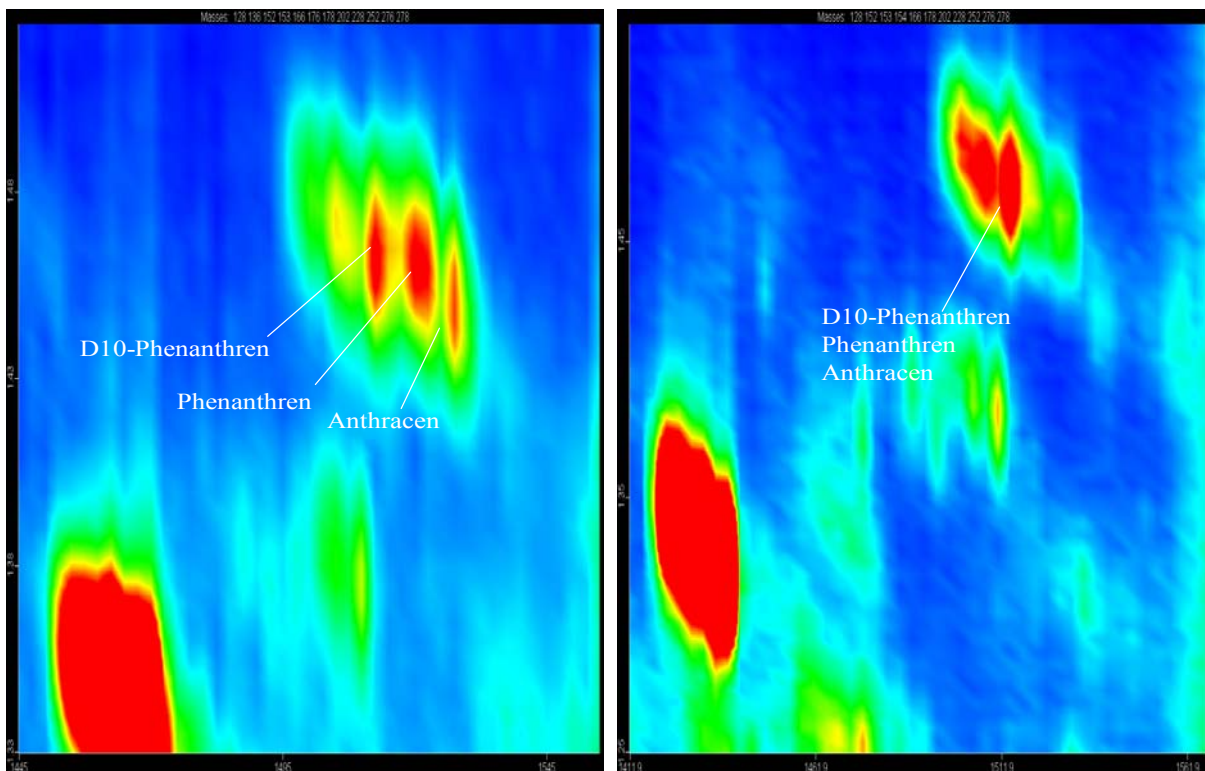


Abb. 23: Einfluss der Modulationszeit auf die Trennung 2,5 s (links), 3,3 s (rechts)

### *Hot-Jet-Zeit*

Im verwendeten GCxGC-System wird ein Vier-Jet-Modulator genutzt. Um die Temperatur des Modulators zu steuern, kann lediglich die Hot-Jet-Zeit (Cold-Jet-Zeit wird automatisch berechnet) variiert werden. Es ist bekannt, dass für die Analyse von niedrig siedenden Substanzen eine geringere Modulationstemperatur erforderlich ist, als für höher siedende Analyten [62]. Deshalb kann eine falsche Einstellung der Hot-Jet-Zeiten zu einem großen Tailing der Peaks führen. Bei der Optimierung wurden folgende Hot-Jet-Zeiten getestet: (0,6 s; 0,9 s; 1 s; 1,1 s und 1,2 s; 1,3 s). Es zeigte sich, dass eine Hot-Jet-Zeit von 1,1 s das optimalste Ergebnis lieferte.

### **MS - Parameter**

#### *Temperatur der Ionenquelle und der Transferline*

Um Empfindlichkeitsverluste durch Kondensation bei der PAK-Untersuchung zu vermeiden,

müssen die Temperaturen der Ionenquelle und der Transferline möglichst hoch gehalten werden. Vom Hersteller werden für die Ionenquelle 250 °C und für die Transferline 300 °C als maximale Temperaturen angegeben. Bei allen bisherigen Vorversuchen betrug die Temperatur der Ionenquelle 200 °C. Eine Erhöhung auf 250 °C ergab eine 3-4 fache Steigerung der Empfindlichkeit. Das verwendete Temperaturprogramm bei der PAK-Analyse führte im zweiten Ofen zu einer Endtemperatur von 330 °C, weshalb die Transferline auf die maximal mögliche Temperatur von 300 °C eingesetzt wurde, um Kondensation weitestgehend zu vermeiden.

### Detektorspannung

Durch die Erhöhung der Detektorspannung kann die Signalintensität gesteigert werden. Im Rahmen dieser Optimierung wurden deshalb die Detektorspannungen 1600 V, 1800 V, 1900 V getestet. Durch die Erhöhung von 1600 V auf 1800 V konnte, wie Abbildung 24 zeigt, eine Empfindlichkeitssteigerung um den Faktor 8 bis 10 erreicht werden. Eine Erhöhung der Detektorspannung auf 1900 V brachte keine weitere Verbesserung der Empfindlichkeit, reduziert aber drastisch die Lebensdauer des Detektors, weshalb alle folgenden Messungen bei 1800 V durchgeführt wurden.

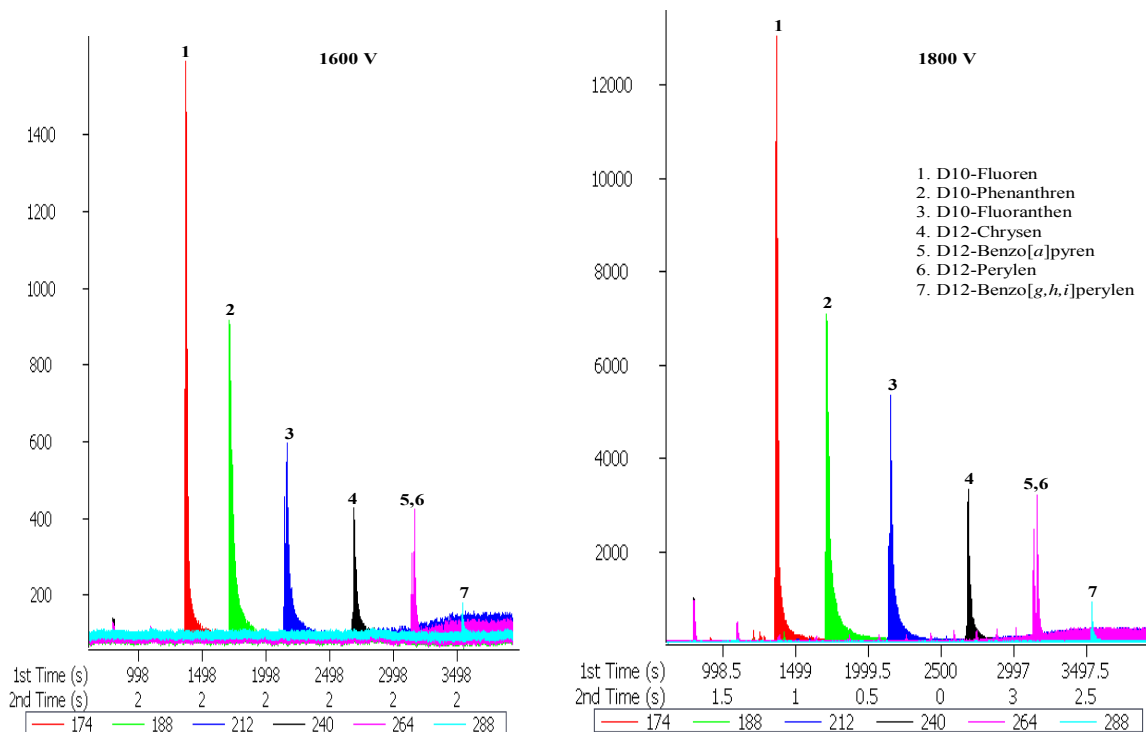


Abb. 24: Vergleich der Detektorspannung 1600 und 1800 V bei der Analyse von deuterierten PAKs

Nach Abschluss der Optimierungen konnten alle Komponenten der PAK-Standardmischung (Tabelle 10) getrennt und quantifiziert werden (Abbildung 25).

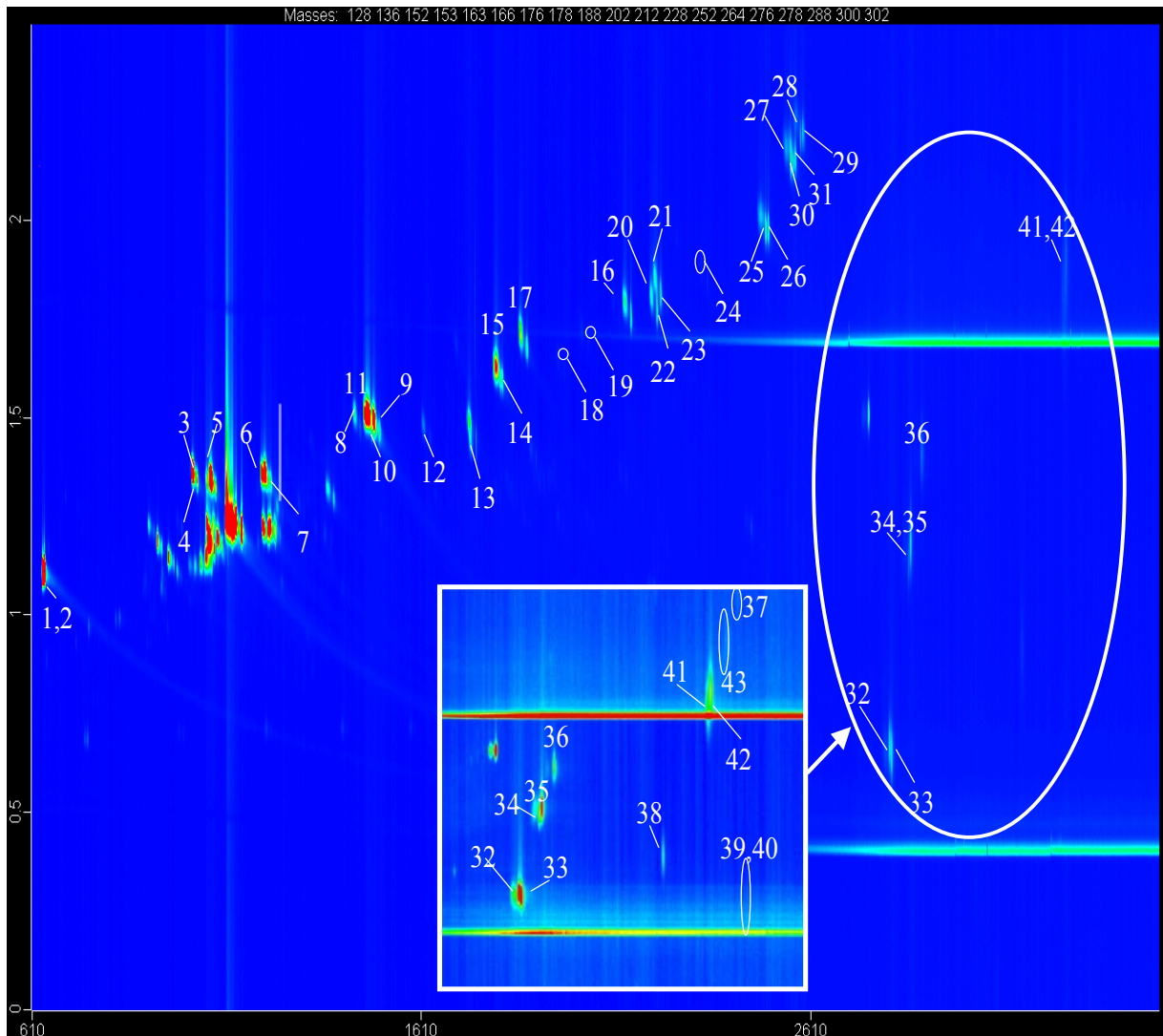


Abb. 25: Analyse der PAK-Standardmischung mit den optimierten Bedingungen

Es wurden nur Signale mit folgenden Molekülmassen angezeigt:  $m/z$ : 128, 136, 152, 154, 166, 176, 178, 184, 188, 202, 212, 228, 240, 252, 264, 276, 278, 288, 300, 302

Parameter: Säule 1: FactorFour VF-5MS; Länge = 30 m; I.D. = 0,25 mm,  $d_f$  = 0,25  $\mu\text{m}$  (Varian, Darmstadt), Säule 2: VF-17ms; Länge = 1 m, I.D. = 0,1 mm,  $d_f$  = 0,1  $\mu\text{m}$  (Varian, Darmstadt); Trägergas: Helium 1,4 mL/min (Konstanter Fluss); Temperaturprogramm Ofen 1: 40 °C (1 min halten), 40 °C/min auf 100 °C (0 min halten), 5 °C/min auf 320 °C (12 min halten), Temperaturprogramm Ofen 2: 110 °C (1,7 min halten), 5 °C/min auf 330 °C (12,8 min halten), Injektor 330 °C, splitless, 60 s Purgezeit, Modulationszeit 2,5 s (1,1 s Hot-Jet-Zeit, 0,15 s Cold-Jet-Zeit), Ionenquellentemperatur 250 °C, Transferlinientemperatur: 300 °C, Detektorspannung 1800 V, Filament Bias Voltage -70 V

### 3.1.3 Sensitivitätssteigerung bei GCxGC gegenüber GC

Es ist bekannt, dass mit dem Einsatz der GCxGC neben der Verbesserung der Trennleistung eine Empfindlichkeitssteigerung bei der Analyse vieler Substanzen (z.B. um Faktor 10 bei Alkanen) erreicht werden kann [24] (siehe auch Seite 11). In dieser Arbeit zeigten vergleichende Analysen mittels GC-(TOF)MS und GCxGC-(TOF)MS (Abbildung 26), dass eine Sensitivitätssteigerung nur bei niedrigmolekularen PAKs eintritt. So konnte lediglich bei Naphthalin eine Empfindlichkeitssteigerung um den Faktor 6 festgestellt werden. Mit steigenden molaren Massen der PAKs nahm die Sensitivität ab. Beispielsweise lag bei Benzo[*g,h,i*]perylen nur noch eine Sensitivitätserhöhung um Faktor 1,5 gegenüber der eindimensionalen GC-MS vor. Ähnliche Beobachtungen wurden auch bei der Analyse von PAKs mittels GC-FID und GCxGC-FID gemacht, so dass eine eventuelle Kondensation in der Transferline zum Massenspektrometer ausgeschlossen werden kann. Eventuell werden die hochsiedenden PAKs im Modulator durch die kurzen Heizphasen nicht vollständig remobilisiert.

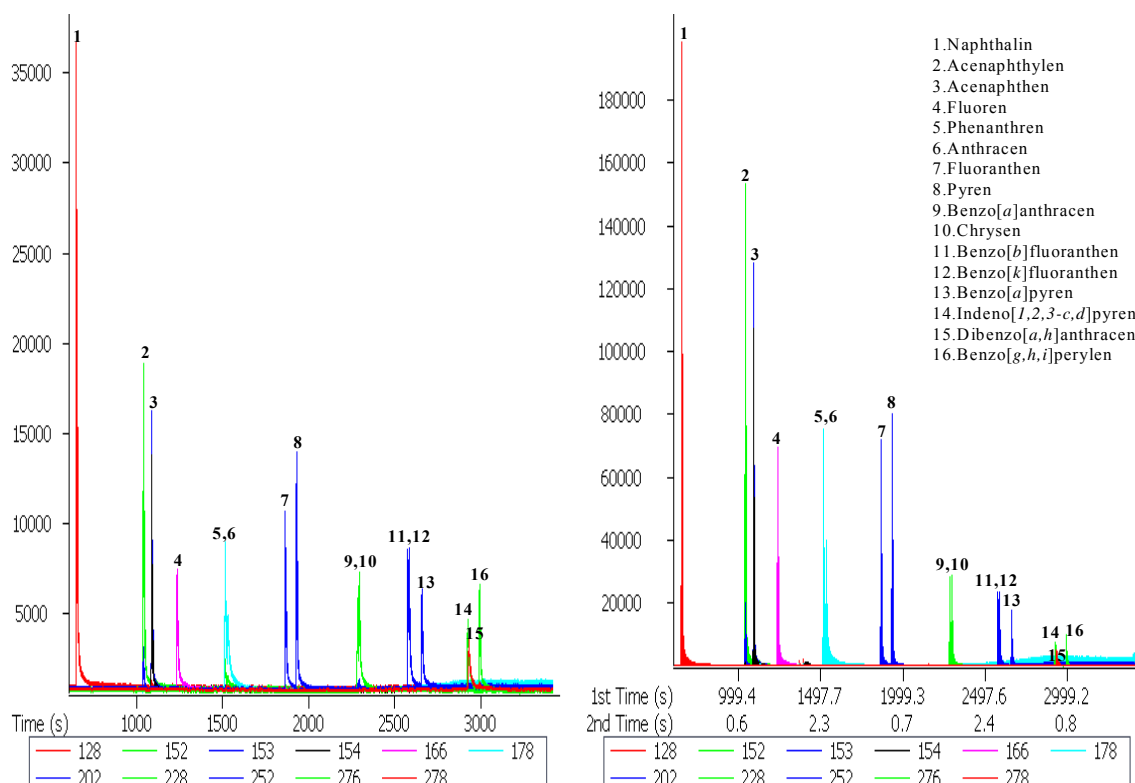


Abb. 26: Analyse von PAKs mittels GC-(TOF)MS (links) und GCxGC-(TOF)MS (rechts)

### 3.1.4 Analyse von PAKs in Tocopherol-Proben

Die optimierte Analysenmethode wurde nun zur Analyse von Tocopherol-Proben der Cognis Deutschland GmbH & Co.KG eingesetzt. Zu diesem Zweck wurden die Proben in der zertifizierten Eurofins Analytik GmbH (Hamburg) vorbereitet. Dabei wurden die Proben, inklusive Blindproben, mit internen Standards (deuterierte PAKs) versetzt und einer Koffein-Komplexierung und GPC unterzogen. Die Blindproben bestanden aus Toluol (Lösungsmittel der realen Proben) und wurden wie die Proben vorbereitet. Als interne Standards wurden die in Tabelle 11 aufgelistete deuterierten PAKs verwendet, wobei die Quantifizierung aller PAKs über insgesamt vier Standards durchgeführt wurde.

<b>Analyt</b>	<b>Interner Standard</b>
Fluoren	D10-Phenanthren
Phenanthren	D10-Phenanthren
Anthracen	D10-Phenanthren
Fluoranthren	D10-Fluoranthren
Pyren	D10-Fluoranthren
Benzo[ <i>a</i> ]anthracen	D12-Chrysen
Chrysen	D12-Chrysen
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranthren	D12-Benzo[ <i>a</i> ]pyren
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranthren	D12-Benzo[ <i>a</i> ]pyren
Benzo[ <i>a</i> ]pyren	D12-Benzo[ <i>a</i> ]pyren
Indeno[ <i>1,2,3-c,d</i> ]pyren	D12-Benzo[ <i>a</i> ]pyren
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracen	D12-Benzo[ <i>a</i> ]pyren
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perylene	D12-Benzo[ <i>a</i> ]pyren
Benzo[ <i>e</i> ]pyren	D12-Benzo[ <i>a</i> ]pyren
Perylen	D12-Benzo[ <i>a</i> ]pyren
Anthanthren	D12-Benzo[ <i>a</i> ]pyren
Coronen	D12-Benzo[ <i>a</i> ]pyren

Tab. 11: Die Analyten und die für die Auswertung herangezogenen internen Standards

Um mögliche Kontaminierungen des Systems auszuschließen, wurden die Säulen vor den Messungen ausgeheizt. Vor dem Beginn einer Analysensequenz wurde mehrmals Lösungsmittel



(Toluol) vermessen, um die Anwesenheit von PAKs im System auszuschließen. Erst wenn keine PAKs detektiert werden konnten, folgte die Analyse der Blindproben ( $n = 3$ ). Anschließend wurden die von Eurofins je zweimal (Doppelbestimmung) vorbereiteten Tocopherol-Proben, ( $n = 3$ ) und zum Schluss, zur Ermittlung des Responsfaktors, der PAK-Standard ( $n = 3$ ) vermessen. Beispielhaft zeigen die Abbildungen 27 und 28 die Chromatogramme einer GCxGC-(TOF)MS-Analyse des Tocopherols (Probe C). In Abbildung 27 wurde ein TIC-Chromatogramm des Tocopherols dargestellt. Aufgrund der hohen Koffein-Konzentration ist die TIC-Darstellung wenig aussagekräftig. Deshalb wurden in Abbildung 28 nur die Spots mit den zu analysierenden Analytmolekülen dargestellt.

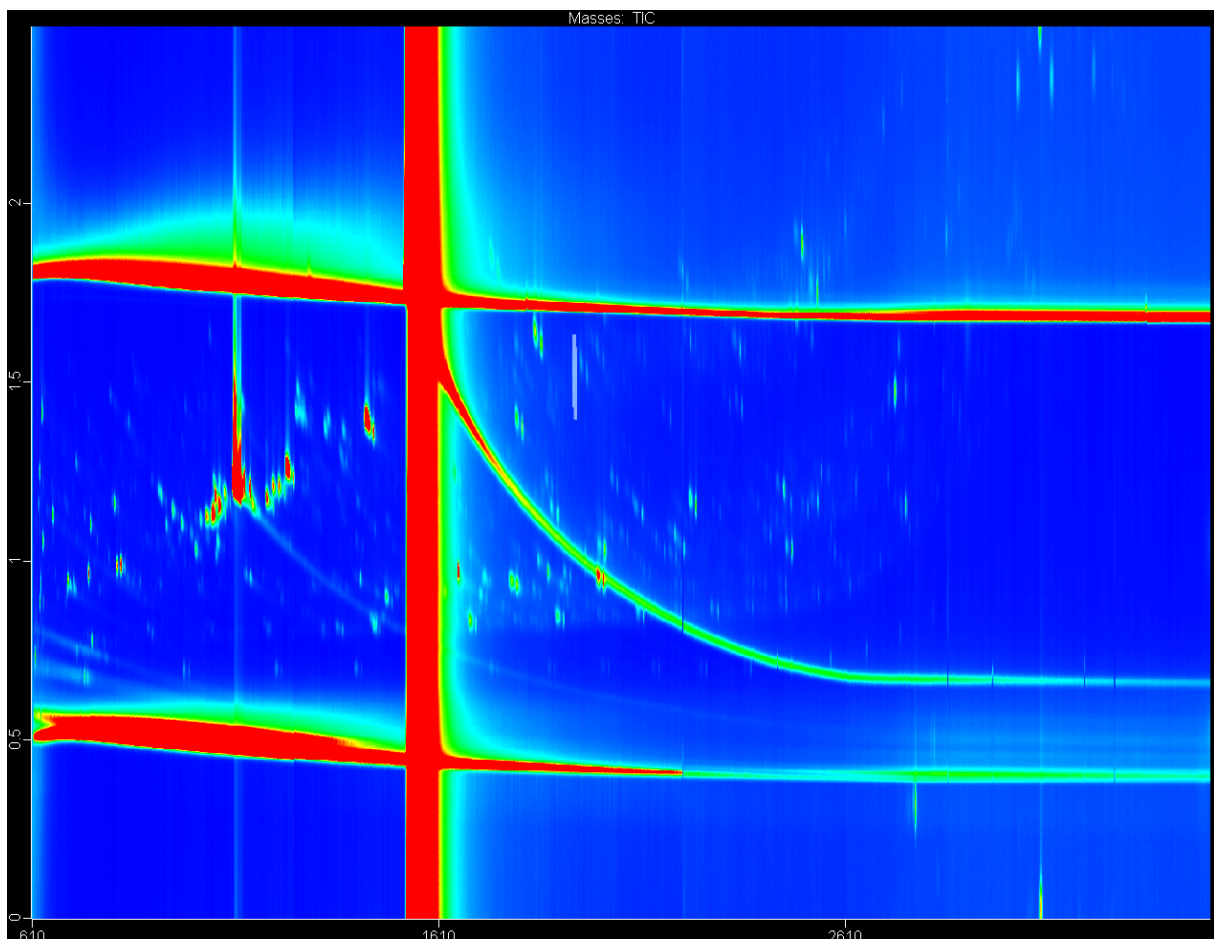


Abb. 27: TIC-Chromatogramm einer Tocopherol-Probe (Probe C)

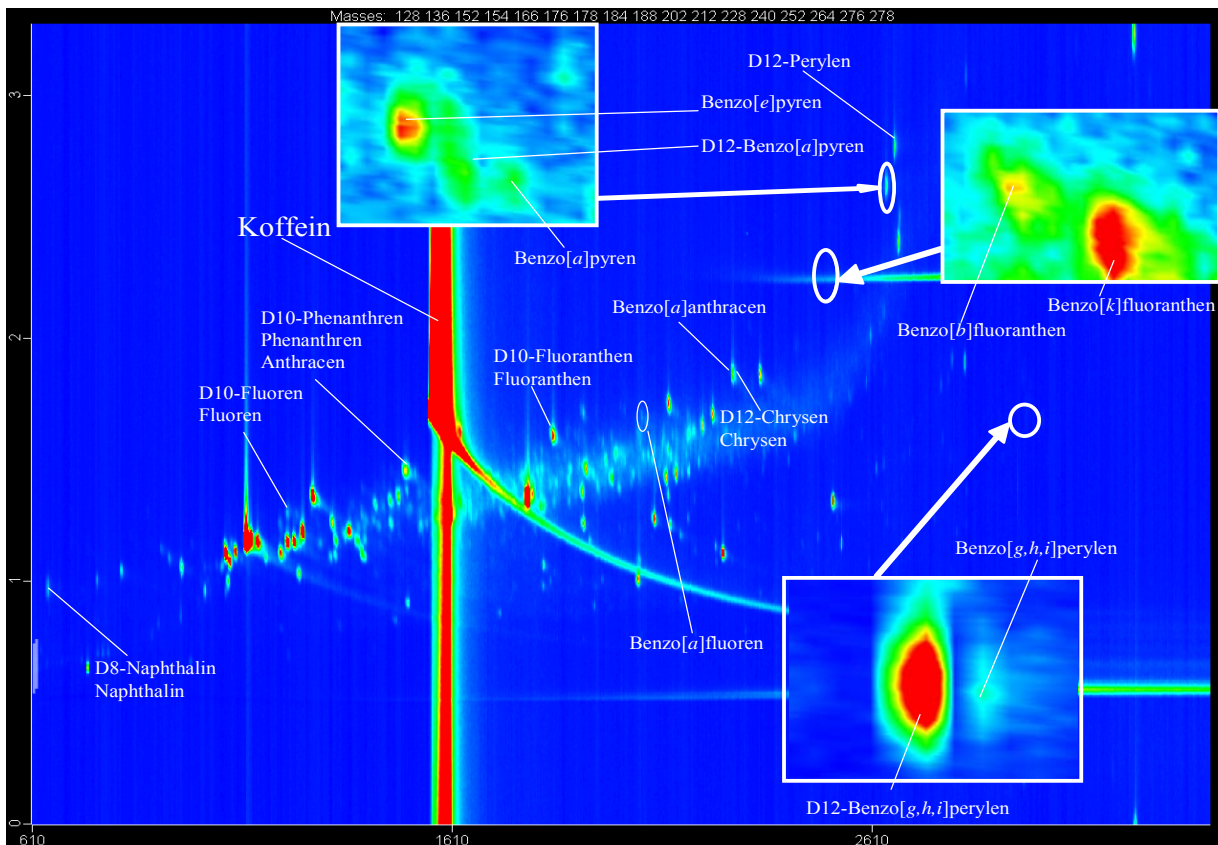


Abb. 28: Darstellung der PAKs in einer Tocopherol-Probe (Probe C). Die Darstellung zeigt nur die Massenfragmente der Molekülonen  $m/z$ : 128, 136, 152, 154, 166, 176, 178, 184, 188, 202, 212, 228, 240, 252, 264, 276, 278, 288

Die entwickelte Methode reduziert aufgrund ihrer Trennleistung und spezifischen Detektion im Vergleich zu eindimensionalen Analysensystemen falsch-positive Ergebnisse. Abbildung 29 zeigt ein Beispiel für die Trennung von zwei PAKs in einer Vitamin E-Probe. Die analysierten PAKs, Pyren und 2,3,5-Trimethylphenanthren, haben sowohl die gleichen Retentionszeiten in der ersten Dimension als auch ein gemeinsames Massenfragment von 202 Dalton. Bei der Analyse dieser Probe mittels eindimensionaler GC-MS(SIM,  $m/z = 202$ ) wäre nur ein Signal von beiden Substanzen zu sehen gewesen, was zu einem falschen Ergebnis geführt hätte. Die Trennung und die Identifizierung beider Substanzen erfolgt bei der GCxGC-(TOF)MS anhand der unterschiedlichen Retentionszeiten in der 2. Dimension und der so erhaltenen „sauberen“ Spektren.

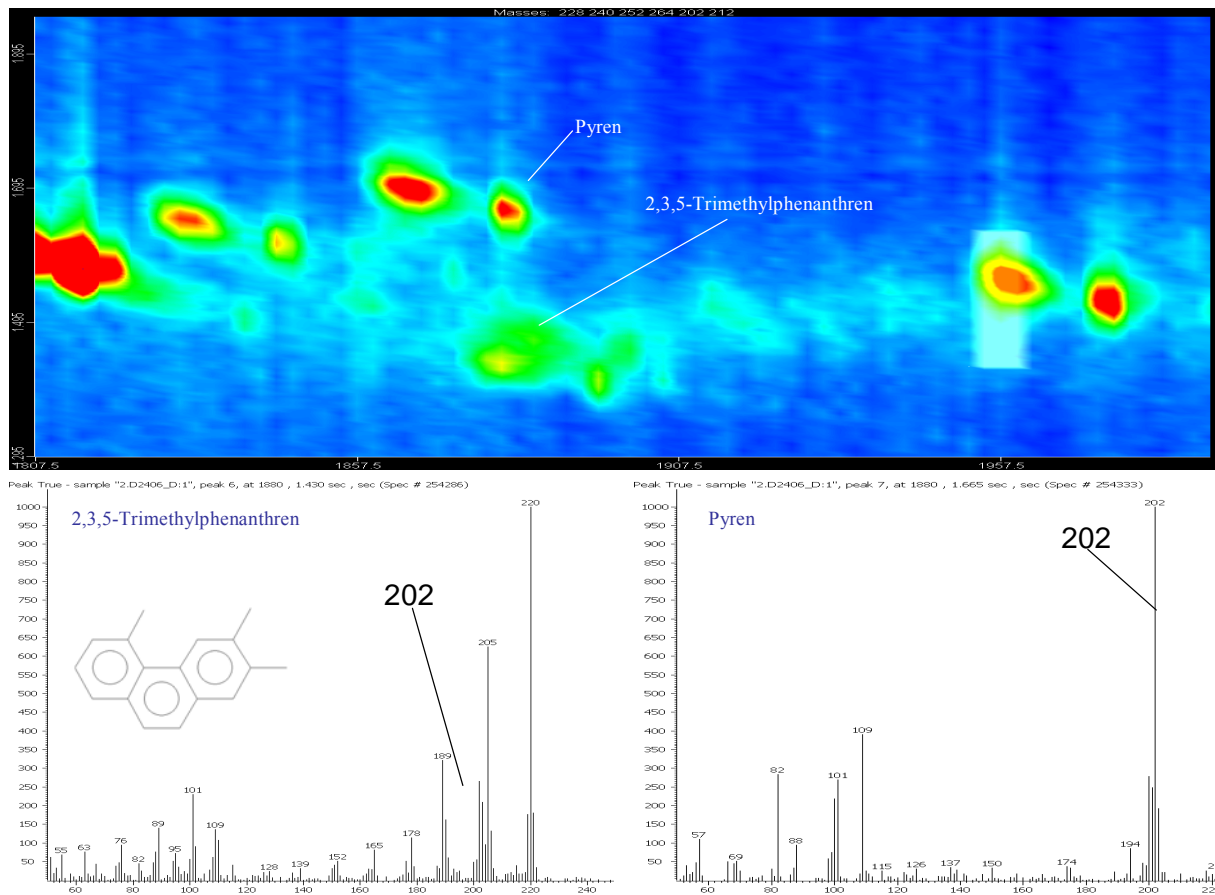


Abb. 29: Ausschnitt einer zweidimensionalen Darstellung der Analyse von Tocopherol mit Retentionszeiten und MS-Spektren zweier Probenkomponenten. Die Darstellung zeigt nur die Massenfragmente der Molekülonen  $m/z$ : 202, 212, 228, 240, 252, 264

Zur Ermittlung der Responsefaktoren  $RF$  einzelner Probenkomponenten wurde die Standardmischung dreimal analysiert und der  $RF$  mit den gemittelten Flächenwerten nach Gleichung 4 ermittelt:

$$RF = \frac{A_{(IS)} \cdot C_{(PAK)}}{A_{(PAK)} \cdot C_{(IS)}} \quad (5)$$

$RF$  = Responsefaktor

$C_{(IS)}$  = Konzentration des internen Standards

$C_{(PAK)}$  = Konzentration der PAKs in der Standardprobe

$A_{(IS)}$  = Peakfläche des internen Standards

$A_{(PAK)}$  = Peakfläche der PAKs in der Standardprobe

Zur Berechnung der PAK-Konzentration in der Probe müssen neben dem RF noch weitere Faktoren berücksichtigt werden. Da bei der Probenvorbereitung eine Kontamination nicht ausgeschlossen werden kann, wurde einer Blindprobe (Toluol) wie eine reale Tocopherol-Probe vorbereitet. Die gemittelten Peakflächen der PAKs in den Blindproben wurden von den gemittelten Peakflächen der PAKs in den realen Proben subtrahiert. Es zeigte sich, dass die PAK-Konzentration in den Blindproben zwischen 10-60 % der Probenkonzentration betragen konnte. Bei einer noch größeren PAK-Konzentration in der Blindprobe wurde der entsprechende Analyt in der Realprobe nicht mehr quantifiziert. Ferner musste auch ein Anreicherungsfaktor bei den Berechnungen berücksichtigt werden, da bei der Vergleichsanalyse im Eurofins-Labor ein Large-Volume Injektor (Injektionsvolumen: 50 µl) eingesetzt wurde. Mit dem GCxGC-System konnten aber nur 2 µl injiziert werden. Um trotzdem im gewünschten Konzentrationsbereich messen zu können, wurde deshalb im Eurofins-Labor eine Aufkonzentrierung der Probe nach der GPC-Aufreinigung durchgeführt. Dabei wurden 4 ml des nach der Probenvorbereitung erhaltenen Endvolumens (10 ml) auf 250 µl eingeeengt, so dass eine ähnliche Stoffmenge (1,6-fache Stoffmenge bei der eindimensionalen GC) an PAKs bei beiden Methoden injiziert werden konnte. Nach Abzug der ermittelten Blindwerte einzelner PAKs (korrigierte Peakflächen) und unter Berücksichtigung der Response- und Anreicherungsfaktoren wurden die PAK-Konzentrationen in der Probe wie folgt berechnet:

$$Gehalt_{(PAK)} [\mu g/kg] = \frac{C_{(IS)} [\mu g/ml] \cdot A_{kor} \cdot RF}{A_{(IS)}/E [\mu g/ml]} \quad (6)$$

$A_{kor}$  = korrigierte Peakfläche der PAKs in der Probe

E = Einwaage in Lösungsmittel (LM)

Die so bestimmten PAK-Konzentrationen sind in Tabelle 12 und im Anhang aufgelistet. Zur Überprüfung der in dieser Arbeit entwickelten Methode wurden die gleichen Proben im Eurofins-Labor ebenfalls analysiert. Im Gegensatz zu der hier angewandten Methode wurde dort, wie bereits erwähnt, eine Large-Volume Injektion (50 µl) eingesetzt und die Trennung erfolgte mittels eindimensionaler Gaschromatographie. Zur Detektion wurde ein Massenspektrometer im Single Ion Monitoring (SIM)-Modus verwendet (Anhang 5.2.1).

PAK	Tocopherol (Probe A)			
	1. Probenvorbereitung		2. Probenvorbereitung	
	GC (n=1) [µg/kg]	GCxGC (n=3) [µg/kg]	GC (n=1) [µg/kg]	GCxGC (n=3) [µg/kg]
Fluoren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Phenanthren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Anthracen	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Fluoranthen	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Pyren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Benzo[ <i>a</i> ]anthracen	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Chrysen	2,47	2,70 ± 0,26	2,24	2,74 ± 0,21
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranthen	1,12	Σ=1,19 ± 0,09	1,21	Σ=1,35 ± 0,37
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranthen	0,45		0,50	
Benzo[ <i>a</i> ]pyren	0,83	0,66 ± 0,03	0,77	0,67 ± 0,07
Indeno[1,2,3- <i>c,d</i> ]pyren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracen	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perylene	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Benzo[ <i>e</i> ]pyren	3,31	3,22 ± 0,14	2,99	2,71 ± 0,11
Perylen	< 1	< 1	< 1	< 1

Tab. 12: Vergleich der Analyse von Tocopherol (Probe A) mit GC-MS(SIM) und GCxGC(TOF)MS

Die Ergebnisse stimmen mit den Daten des Eurofins sehr gut überein, obwohl sie mit verschiedenen Injektions-, Trenn- und Detektionsmethoden ermittelt wurden. Die Wiederfindung wurde anhand der Peakflächen der eingesetzten deuterierten PAKs vor und nach der Analyse der Tocopherole berechnet und lag über 80 %. Für die nicht quantifizierten PAKs, Fluoren, Phenanthren, Anthracen, Fluoranthen, Pyren und Benzo[*a*]anthracen, wurden entweder zu hohe Werte beim Blindwert gefunden oder die Konzentrationen waren kleiner als die Bestimmungsgrenze (0,5 µg/kg). Bei Benzo[*b*]- und Benzo[*k*]fluoranthen wurden die Summen bestimmt, da beide Peaks nicht Basislinien getrennt waren. Die Trennung dieser Substanzen gelang auch mit der Methode in Eurofins-Labor nicht optimal [163]. Es wurde aber trotzdem eine separate Quantifizierung durchgeführt. Benzo[*a*]pyren wird als Leitsubstanz verwendet, um das Auftreten von kanzerogenen PAKs in Lebensmitteln zu ermitteln, weshalb speziell für Benzo[*a*]pyren Höchstwerte in bestimmten Lebensmitteln festgesetzt wurden [164]. Öle und Fette, wie auch Tocopherole zum direkten Konsum oder als Zutat in einem Lebensmittel, dürfen eine Höchstmenge an Benzo[*a*]pyren von 2 µg/kg nicht überschreiten. Deshalb wurden aus den ermittelten Werten der Doppelbestimmung für jede Analysenmethode ein Mittelwert gebildet und die Analysenergebnisse in Tabelle 13 zusammengefasst:

Substanz	Tocopherol A		Tocopherol B		Tocopherol C	
	GC [µg/kg]	GCxGC [µg/kg]	GC [µg/kg]	GCxGC [µg/kg]	GC [µg/kg]	GCxGC [µg/kg]
<b>Benzo[a]pyren</b>	0,80	0,67± 0,005	0,57	0,49 ± 0,075	1,85	1,82 ± 0,03
<b>Summe aller PAKs</b>	4,79	4,66	9,31	9,38	6,35	5,97

Tab. 13: Zusammenfassung der Mittelwerte der Analysenergebnissen der Tocopherol-Probe A, B und C

Unter Berücksichtigung der Höchstmenge für Benzo[a]pyren sind die Tocopherol-Proben A, B und C im gesetzlichen Rahmen, obwohl Probe B wegen der Gesamtmenge an PAKs bedenklich erscheint.

### 3.1.5 Analyse von PAKs in Olivenöl

#### 3.1.5.1 Probenvorbereitung des Olivenöls

Zur Aufarbeitung des Olivenöls wurde die Methode von Larsson verwendet [75]. Die Probenvorbereitungsschritte sind in Abbildung 30 dargestellt.

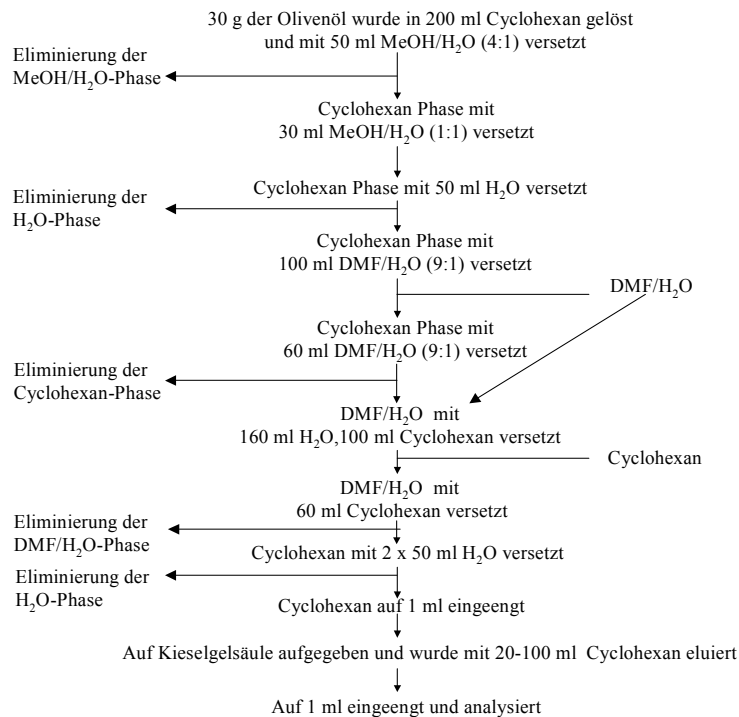


Abb. 30: Vorbereitung der Olivenölprobe nach Larsson [75]

Diese aufwendige Probenvorbereitung hat den Vorteil, dass keine weiteren Geräte benötigt werden und an einem Tag bis zu 8 Proben vorbereitet werden können. Bei dieser Probenvorbereitung kann eine Kontamination nicht ausgeschlossen werden, weshalb alle Glasgeräte mehrmals mit Aceton gespült wurden. Trotz dieser Maßnahme und um eine Analysenverfälschung durch Kontamination zu reduzieren, wurde eine Cyclohexan-Blindprobe, wie in Abb. 30 gezeigt, vorbereitet. Die in der Blindprobe ermittelten Peakflächen der PAKs wurden von den aus der Analyse der Probe bestimmten Peakflächen subtrahiert.

Um mögliche Kontaminierungen des Analysensystems auszuschließen, wurden die Säulen vor den Messungen erhitzt und anschließend 2-3 mal Lösungsmittel (Cyclohexan) analysiert, bis das System PAK-frei war. In jeder Messreihe wurden zuerst drei Cyclohexan-Blindproben analysiert, um alle Verunreinigungen in den Probenvorbereitungsschritten zu erfassen. Erst dann wurde das Olivenöl der Firma ALDI (La Villa Natives Olivenöl Extra) dreimal analysiert. Im Anschluss daran, nach zweimaliger Aufstockung mit PAK-Standards zwischen 3 und 35 µg/kg, wurde das Standardadditionsverfahren durchgeführt (je Aufstockung wurde dreimal analysiert).

### **3.1.5.2 Analysenbedingung und Optimierung der Methode bei GCxGC-(TOF)MS und GCxGC-FID**

Zur Analyse der PAKs in Olivenöl wurden zwei verschiedene GCxGC-Systeme eingesetzt.

- GCxGC-(TOF)MS (Cold- und Hot-Jet-Modulatoren)
- GCxGC-FID (“longitudinally modulation cryogenic system”, LMCS)

Normalerweise werden die Analysen bei der GCxGC bei konstantem Fluss durchgeführt (siehe Kapitel 3.1.2). Um aber beide GCxGC-Systeme miteinander vergleichen zu können, war es notwendig bei konstantem Druck zu analysieren, da systembedingt bei variierenden Temperaturen der Druck einfacher als der Fluss konstant gehalten werden kann. Dadurch wurden auf beiden Systemen nahezu identische Retentionszeiten erhalten (bei konstantem Fluss konnte eine bis zu 10 min große Differenz festgestellt werden). Abbildung 31 zeigt den Vergleich der Analyse des Olivenöls mit GCxGC-FID (links) und GCxGC-(TOF)MS (rechts). Zur Verdeutlichung der guten Übereinstimmung der Analyseergebnisse beider Systeme wurde in Abbildung 32 der Bereich der PAKs stark vergrößert.

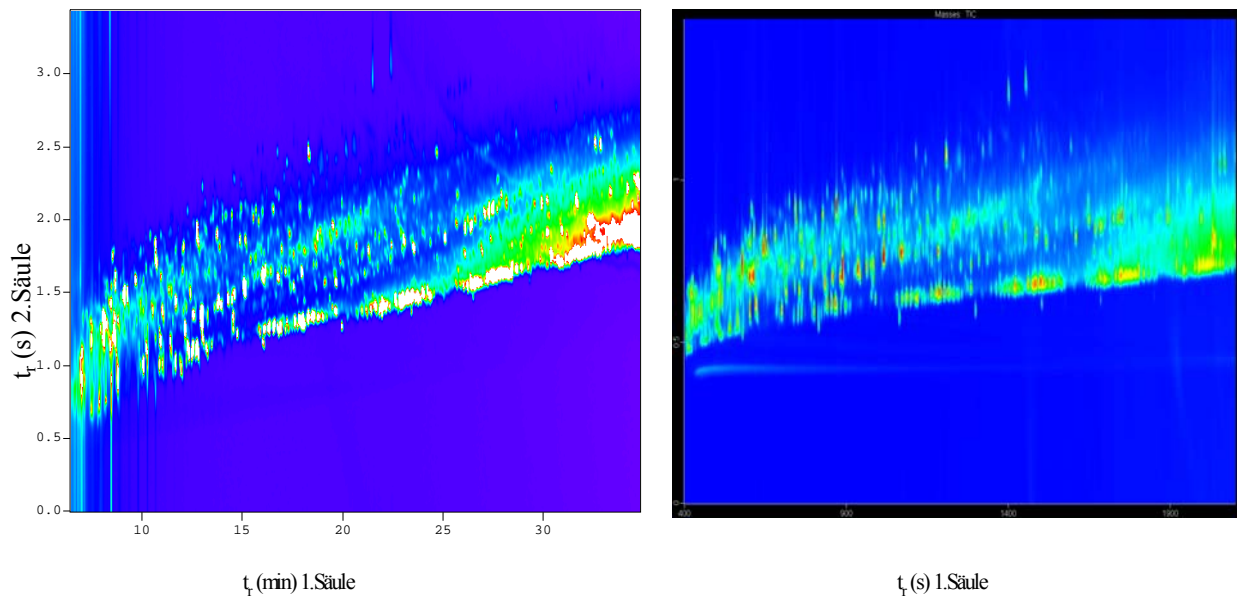


Abb. 31: Analyse des Olivenöls mittels GCxGC-FID (links) und GCxGC-(TOF)MS (rechts)

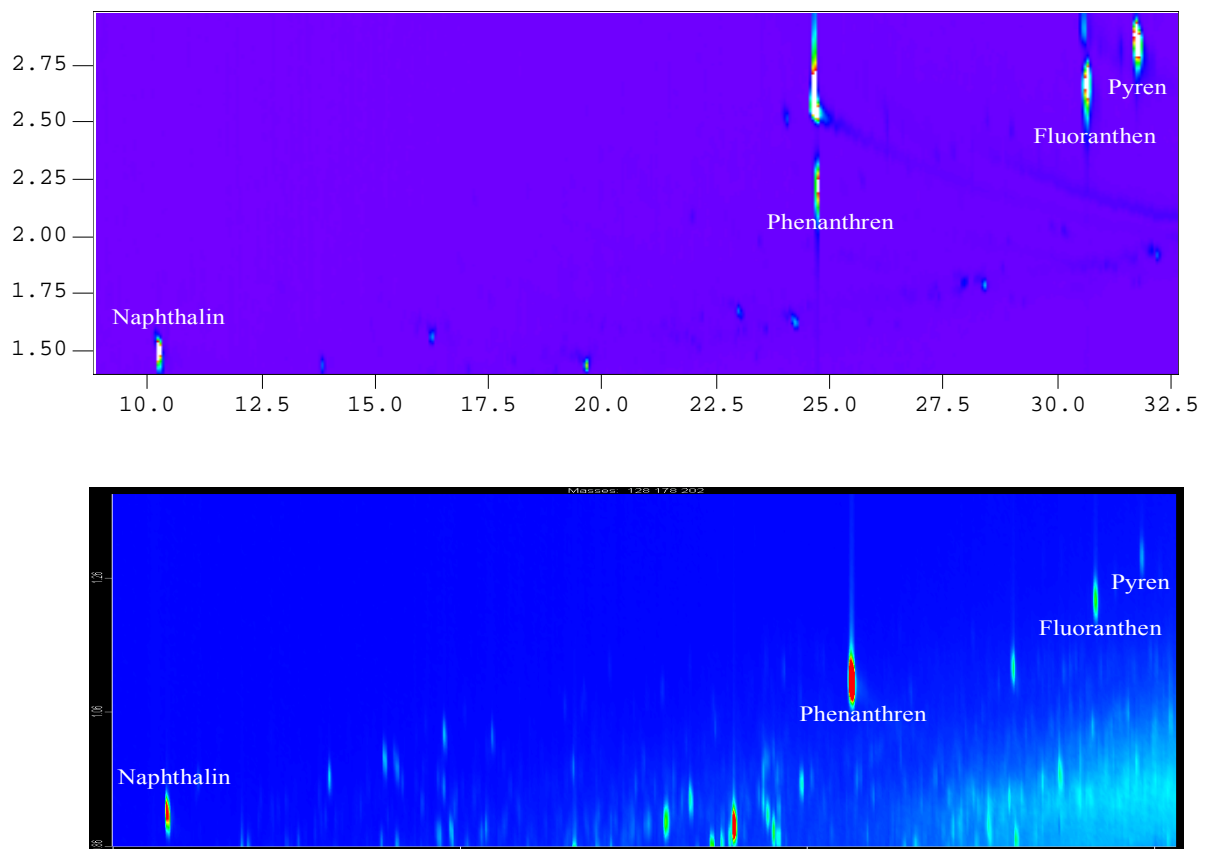


Abb. 32: Darstellung der nachgewiesenen PAKs in Olivenöl mittels (GCxGC)-FID (oben) und GCxGC(TOF)MS (unten)

Parameter: GCxGC-(TOF)MS: Säule 1: BPX5; Länge = 30 m; I.D = 0,25 mm,  $d_f = 0,25 \mu\text{m}$  (SGE), Säule 2: BPX50; Länge = 1 m, I.D. = 0,1 mm,  $d_f = 0,1 \mu\text{m}$  (SGE); Trägergas: Helium 32 psi (Konstanter Druck);



Temperaturprogramm Ofen 1: 60 °C (1 min halten), 40 °C/min auf 100 °C (0 min halten), 5 °C/min auf 320 °C (8 min halten), Temperaturprogramm Ofen 2: 120 °C (1 min halten), 5 °C/min auf 330 °C (8 min halten), Injektor 320 °C, splitless, 60 s Purgezeit, Modulationszeit 3 s (0,9 s Hot-Jet-Zeit, 0,6 s Cold-Jet-Zeit), Ionenquellentemperatur 250 °C, Transferline 300 °C, Detektorspannung 1600 V, Filament Bias Voltage -70 V, Solvent-delay 400 s

GCxGC-FID: Modulationszeit 3 s, alle anderen Parameter wie beim obigen System.

### 3.1.5.3 Bestimmung der Nachweis-, Erfassungs-, und Bestimmungsgrenzen der PAKs nach DIN 32645

Nach der Erstellung einer Kalibriergeraden für die PAKs in 10 verschiedenen Konzentrationen von 0,5 µg/l bis 5 µg/l wurde für jede Substanz eine Kalibriergerade erhalten (Tabelle 14), mit der die Nachweis- (NG), Bestimmungs- (BG) und Erfassungsgrenze (EG) ermittelt wurde.

PAKs (EPA)	Kalibriergrade	R <sup>2</sup>
Naphthalin	$Y = 57143x + 26489$	0,9984
Acenaphthylen	$Y = 29837x - 4518,7$	0,9974
Acenaphthen	$Y = 18913x - 285,8$	0,9987
Fluoren	$Y = 18745x - 3220,5$	0,9977
Phenanthren	$Y = 24571x + 28456$	0,9977
Anthracen	$Y = 18605x + 25227$	0,9981
Fluoranthen	$Y = 14224x + 3896,6$	0,9976
Pyren	$Y = 8474,3x - 2668,1$	0,9989
Benzo[a]anthracen	$Y = 2907,8x - 99,533$	0,9976
Chrysen	$Y = 6107,4x - 3580,7$	0,9975
Benzo[b]fluoranthen, Benzo[k]fluoranthen	$Y = 11318x - 4645,9$	0,9976
Benzo[a]pyren	$Y = 2989,9x - 1555,5$	0,9976
Dibenzo[a,h]anthracen	$Y = 1027,8x - 412,6$	0,9964
Indeno[1,2,3-c,d]perylen	$Y = 1313,6x - 483,8$	0,9982
Benzo[g,h,i]perylen	$Y = 3195x - 1677,7$	0,9979

Tab. 14: Zusammenfassung der ermittelten Kalibriergeraden der EPA-PAKs nach DIN

Beispielhaft wurde die Kalibriergerade für Acenaphthylen, Phenanthren, Anthracen, Fluoranthen und Pyren in Abbildung 33 dargestellt (siehe auch Anhang 6.1).

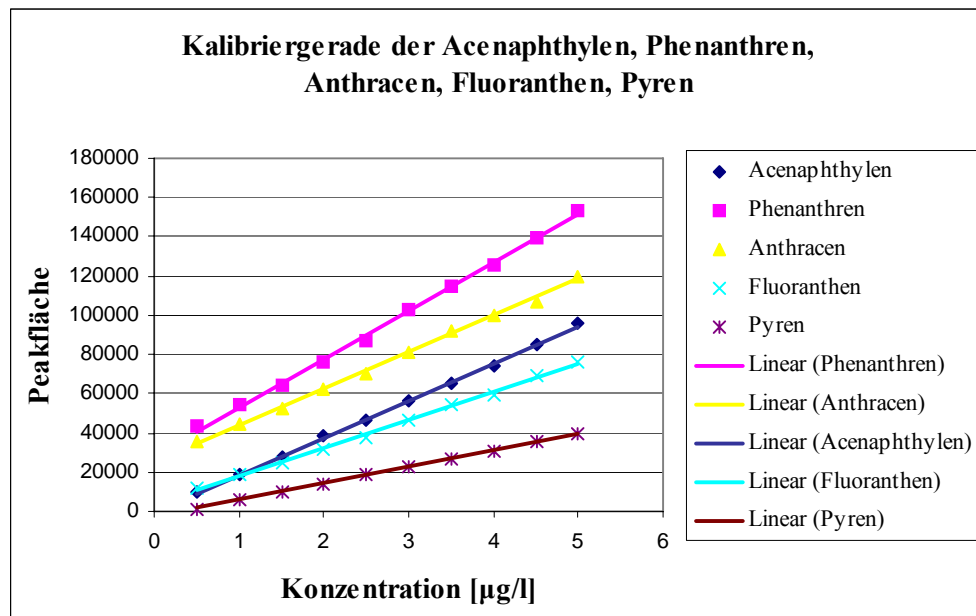


Abb. 33: Kalibriergerade für Acenaphthylen, Phenanthren, Anthracen, Fluoranthen und Pyren

PAKs (EPA)	NG [µg/l]	EG [µg/l]	BG [µg/l]
Naphthalin	0,20	0,40	0,62
Acenaphthylen	0,26	0,52	0,80
Acenaphthen	0,20	0,40	0,62
Fluoren	0,27	0,54	0,80
Phenanthren	0,27	0,54	0,82
Anthracen	0,24	0,48	0,76
Fluoranthen	0,27	0,54	0,82
Pyren	0,18	0,36	0,56
Benzo[ <i>a</i> ]anthracen	0,28	0,56	0,88
Chrysen	0,28	0,56	0,88
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranthen	0,28	0,56	0,88
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranthen	0,28	0,56	0,88
Benzo[ <i>a</i> ]pyren	0,27	0,54	0,84
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracen	0,34	0,68	1,1
Indeno[ <i>1,2,3-c,d</i> ]perylene	0,36	0,72	0,98
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perylene	0,27	0,54	0,83

Tab. 15: NG, BG und EG der EPA-PAKs nach DIN

Die aus den Kalibriergeraden ermittelten Werte für NG, EG und BG sind in Tabelle 15 für die einzelnen PAKs zusammengefasst. Aus der Tabelle wird ersichtlich, dass Pyren, Naphthalin und Acenaphthen am empfindlichsten nachgewiesen werden können, während Indeno[1,2,3-*c,d*]perylen und Dibenzo[*a,h*]anthracen eine deutlich schlechtere NG zeigen.

#### 3.1.5.4 Vergleich der Quantifizierungsergebnisse von GCxGC-(TOF)MS und GCxGC-FID

In Abbildung 32 wurden die mit beiden Systemen nachgewiesenen PAKs in Olivenöl gezeigt. Um die Quantifizierung auch mit dem FID-System durchführen zu können, konnten die deuterierten Standards (siehe PAK-Analytik in Vitamin E) nicht eingesetzt werden. Stattdessen wurde bei beiden Systemen zur Quantifizierung der PAKs das zuvor beschriebene Standardadditionsverfahren durchgeführt. Die Kalibriergeraden aus der Analyse des Olivenöls mittels GCxGC-(TOF)MS sind für die nachgewiesenen PAKs in Abbildung 34 dargestellt:

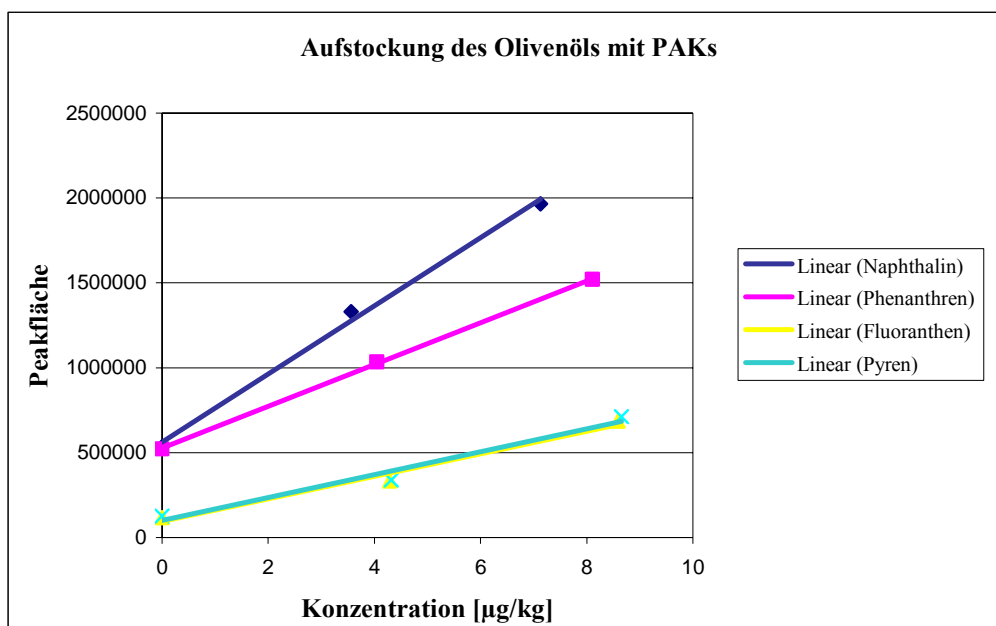


Abb. 34: Kalibriergerade des Olivenöls mit Aufstockungsverfahren mittels GCxGC-(TOF)MS

Anhand der Kalibriergeraden des Olivenöls wurde die PAK-Konzentration berechnet und die Ergebnisse in Tabelle 16 zusammengefasst:

<b>PAKs</b>	<b>Konzentration der PAKs in Olivenöl mittels GCxGC-FID [µg/kg]</b>	<b>Konzentration der PAKs in Olivenöl mittels GCxGC-(TOF)MS [µg/kg]</b>
Naphthalin	2,3 ± 0,7	2,80 ± 0,30
Phenanthren	1,7 ± 0,2	4,27 ± 0,30
Fluoranthren	0,7 ± 0,1	1,42 ± 0,03
Pyren	1,2 ± 0,2	1,47 ± 0,11
	Σ = 5,9	Σ = 9,96

Tab. 16: Analysenergebnisse mittels GCxGC-FID und GCxGC-(TOF)MS

Während die Konzentrationen für Naphthalin und Pyren eine sehr gute Übereinstimmung aufweisen, zeigen die Messwerte beider Systeme für Phenanthren und Fluoranthren etwas größere Abweichungen. Dabei liegen die mit dem GCxGC-FID ermittelten Werte beider PAKs um ca. 50 % niedriger. Ein Grund hierfür liegt in der höheren Empfindlichkeit der beiden Detektoren für Naphthalin und Pyren, wodurch der Analysenfehler im unteren Konzentrationsbereich reduziert wird. Ein weiterer Grund für die Abweichung der Analysenergebnisse kann durch eine erschwerte Quantifizierung mittels GCxGC-FID erklärt werden. Es gibt für das verwendete System leider noch keine geeignete Auswerte-Software, die käuflich zu erwerben ist. Alle Peaks müssen manuell einer Substanz zugewiesen werden. Bei der Quantifizierung mittels GCxGC-(TOF)MS kann jeder fraktionierte Peak mit dem Massenspektrum und den Retentionszeiten in beiden Säulen genau überprüft werden. Daher sind die Ergebnisse mit der GCxGC-(TOF)MS genauer als die der GCxGC-FID-Ergebnisse einzustufen. Die Konzentration der berechneten PAKs im untersuchten Olivenöl liegen bei beiden Analysen in der gesetzlich zugelassenen Höchstmenge für die Öle und Fette (Summe der schwere PAKs  $\leq 5 \mu\text{g/kg}$ ). Damit ist dieses Olivenöl verkehrsfähig.

## 3.2 Untersuchung von Tensiden und Tensidvorstufen

### 3.2.1 Tensidvorstufen

Produkte, die aus Naturfetten hergestellt werden (Fettsäuren, Fettsäuremethylester, Fettalkohole, u. a.), bestehen oft aus einer Vielzahl verschiedener Homologe [108]. Die Art und Anzahl dieser Homologe hängt vom Ausgangsrohstoff ab [108]. Neben den Hauptbestandteilen sind häufig

kleine Mengen an Nebenbestandteilen im Endprodukt enthalten. Für die Identifizierung der Nebenbestandteile ist der Einsatz der comprehensiven zweidimensionalen Gaschromatographie vorteilhaft, da diese eine hohe Trennleistung aufweist. Eine Kopplung der (TOF)MS mit der GCxGC ermöglicht somit eine umfassende Identifizierung der Bestandteile. Durch das Trennprinzip dieses Systems lassen sich homologe Reihen leicht erkennen.

Um Produkte, die auf Basis natürlicher Fette hergestellt wurden, charakterisieren zu können, ist eine Datenbank mit Massenspektren aus der Analyse einzelner Tensidvorstufen sowie technischen Gemischen erforderlich.

Mit den Massenspektren einer großen Anzahl von Verbindungen der Firma Cognis und anderer Hersteller (ca. 100) wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Spektren-Bibliothek („Cognis-Bibliothek“) erstellt, da diese speziellen Spektren zu einem großen Teil nicht in der NIST-Library vorhanden sind. Die Liste der analysierten Substanzen der Firma Cognis und anderer Hersteller ist im Anhang (5.1.1) ausgeführt.

### **3.2.1.1 Nebenbestandteile in Fettalkoholgemischen**

Ausgehend von einer früheren im Arbeitskreis der Analytischen Chemie, Bergische Universität Wuppertal, durchgeführten Arbeit [165], bei der Fettalkohole mittels schneller GC (Fast-GC) analysiert wurden, stand nun in der vorliegenden Arbeit die Analyse der Nebenbestandteile in Fettalkoholgemischen mittels GCxGC-(TOF)MS im Mittelpunkt. Bei der von der Firma Cognis zur Verfügung gestellten Probe handelte es sich um eine Mischung aus Decanol bis Octadecanol mit den Hauptkomponenten Dodecanol und Tetradecanol. Ergebnisse der eindimensionalen GC lieferten Hinweise, dass neben den 1-Fettalkoholen als Nebenkomponenten u. a. Alkane, Fettsäuremethylester, Aldehyde, Isomere der Fettalkohole (2-Fettalkohole) und Diole vorliegen.

Da die EI-MS-Spektren einiger Bestandteile fast identisch waren, wurden die Proben mit und ohne Silylierung analysiert. Bei den silylierten Substanzen kann eine Eliminierungsreaktion oder Umlagerung weitgehend ausgeschlossen werden. Die Ergebnisse der silylierten und nicht silylierten Probe wurden verglichen. Wenn das Vorhandensein einer Substanz durch beide Verfahren bestätigt wurde, galt diese Substanz als identifiziert.

#### *Analyse der Probe ohne Silylierung*

Die Probe wurde mit Methanol verdünnt und wie in 5.1.2.3 beschrieben analysiert (Abb. 35).

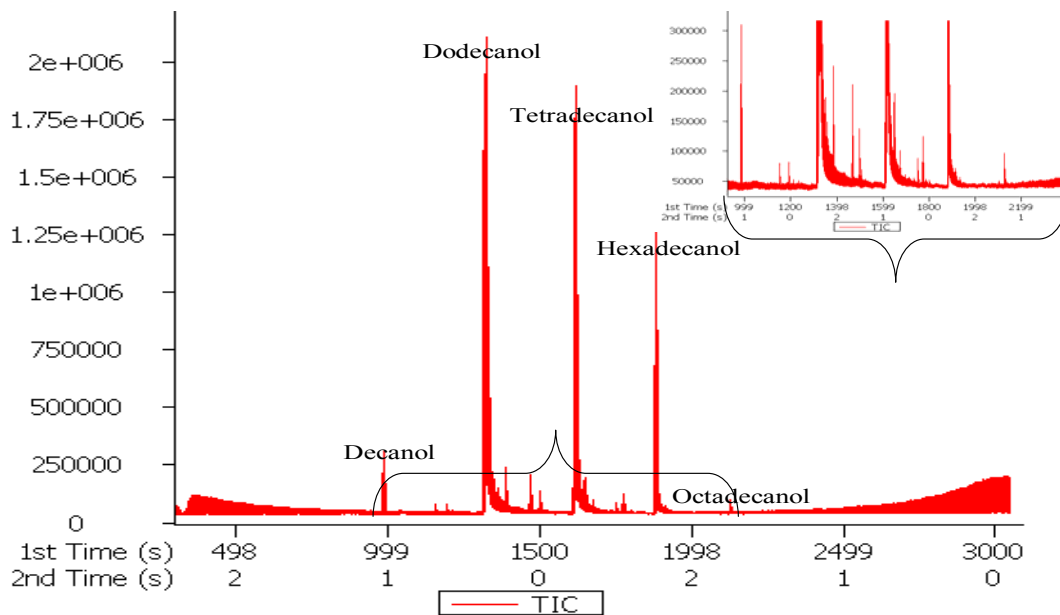


Abb. 35: GCxGC-(TOF)MS-Analyse der Fettalkohole

In der zweidimensionalen Darstellung können die Komponenten der Fettalkoholprobe klassifiziert werden. Ohne Silylierung sind im Chromatogramm vier Gruppen zu sehen: Fettalkohole, Fettsäuremethylester, Aldehyde/Diole und Alkane (Abb. 36).

Jedes kleine Signal entspricht einem Spot in der zweidimensionalen Darstellung und liefert das zur Identifizierung notwendige Massenspektrum. Die Spektren der Probe weisen im Vergleich zu den Spektren der Cognis-Bibliothek eine Übereinstimmung von über 90 % auf. Durch die Wechselwirkung der Komponenten in der zweiten Säule (2. Dimension) lassen sich auch bei gleichem Dampfdruck Gruppen unterschiedlicher Polarität wie Alkane (unpolar), Aldehyde/Diole (mittelpolar) und Fettsäuremethylester (polar) neben den 1-Fettalkoholen nachweisen.

Bei einigen Komponenten war die Zuordnung zu Aldehyden oder Diolen nicht möglich, da beide Substanzklassen ähnliche EI-MS-Spektren liefern und das Molekülion fehlt. Nur Decanal konnte mit ausreichender Sicherheit identifiziert werden. Zur weiteren Identifizierung wurde die silylierte Probe untersucht.

Da die Massenspektren der NIST-Library keine sichere Identifizierung der n-Alkane ermöglichen, wurde eine Standardmischung, die als „Crude Oil Qualitative Mix“ bezeichnet wird, analysiert und die erhaltenen Massenspektren in die Cognis-Bibliothek aufgenommen. Damit war nachfolgend eine bessere Identifizierung der Alkane in den Fettalkoholgemischen möglich.

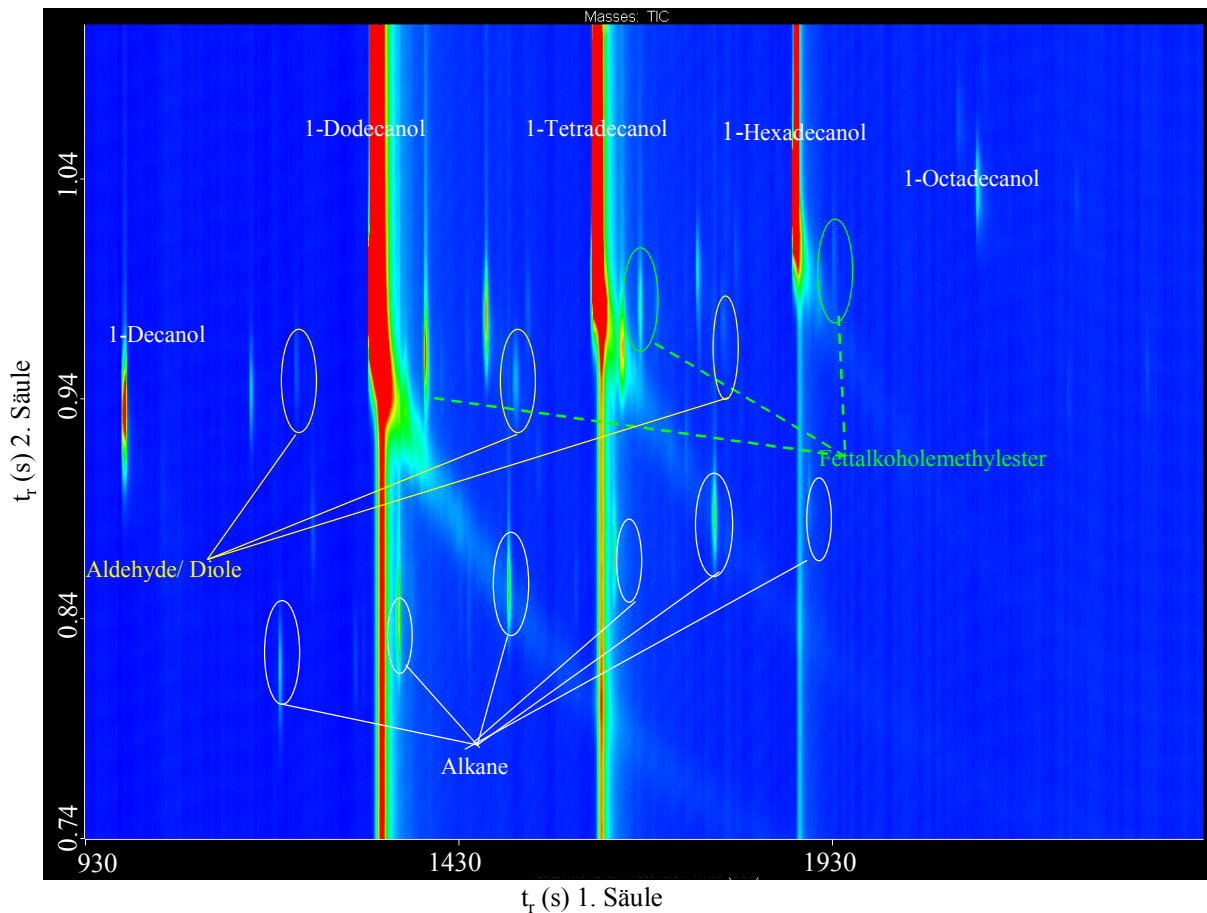


Abb. 36: Gruppen von Nebenbestandteilen in einem Fettalkoholgemisch (C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub>)

Für die zweidimensionale Darstellung der Chromatogramme wurde die Software „ChromaTOF“ verwendet. Mit Hilfe der Einstellung der Farbfunktion (color) (Skala 1–100 %) wurden die Spots in unterschiedlichen Größen dargestellt. Für das in der Abb. 35 gezeigte Chromatogramm wurde eine Einstellung von 10 % gewählt. Mit dieser Skala werden größere Spots überproportional groß dargestellt, es handelt sich somit nicht um eine Überladung der zweiten Säule. Durch diese Einstellung auf der Farbskala werden aber kleine Spots erst sichtbar.

Durch die Orthogonalität des Systems können homologe Reihen leicht erfasst und identifiziert werden. In Tabelle 17 sind die Komponenten eines Fettalkoholgemisches mit den zugehörigen Retentionszeiten in der ersten und zweiten Dimension ( $t_{r1D}$ ,  $t_{r2D}$ ) zusammengefasst worden.

<b>Bestandteile eines Fettalkoholgemisches</b>	<b>t<sub>r 1D</sub> [s]</b>	<b>t<sub>r 2D</sub> [s]</b>
1-Decanol	984	0,935
1-Undecanol	1152	0,945
Tetradecan	1191	0,815
Decanal	1212	0,955
1-Dodecanol	1314	1,050
Pentadecan	1350	0,840
Dodecansäuremethylester	1386	0,960
1-Tridecanol	1467	0,980
Hexadecan	1497	0,855
2-Tridecanol	1509	0,945
1-Tetradecanol	1611	1,050
Heptadecan	1647	0,870
1-Pentadecanol	1650	0,965
Tetradecansäuremethylester	1674	0,980
2-Pentadecanol	1749	1,000
Octadecan	1773	0,885
1-Hexadecanol	1878	1,035
Nonadecan	1899	0,900
Hexadecansäuremethylester	1932	1,005
1-Octadecanol	2124	1,035

Tab. 17: Komponenten eines Fettalkoholgemisches (Decanol bis Octadecanol) mit den zugehörigen Retentionszeiten

Parameter: Säule 1: FactorFour VF-5MS; Länge = 30 m, I.D = 0,25 mm,  $d_f = 0,25 \mu\text{m}$  (Varian, Darmstadt), Säule 2: BPX50; Länge = 1 m, I.D. = 0,1 mm,  $d_f = 0,1 \mu\text{m}$  (SGE); Trägergas: Helium 1,4 mL/min (Konstanter Fluss); Temperaturprogramm Ofen 1: 70 °C (1 min halten), 5 °C/min, 310 °C, (2 min halten), Temperaturprogramm Ofen 2: 90 °C (2 min halten), 5 °C/min auf 320 °C (3 min halten), Injektor 250 °C, split 1:100, Modulationszeit 3 s (0,9 s Hot-Jet-Zeit, 0,6 s Cold-Jet-Zeit), Ionenquelletemperatur 200 °C, Detektorspannung 1600 V, Filament Bias Voltage -70 V

Hier zeigt sich die Leistungsfähigkeit der zweidimensionalen Gaschromatographie, mit der ein großer Teil der Nebenbestandteile in den Fettalkoholgemischen identifiziert werden konnte.

#### *Analyse der Probe nach Silylierung*

In der silylierten Probe wurden die 1- und 2-Fettalkohole sowie die Dirole als Trimethylsilylether und die Fettsäuren als Trimethylsilylester identifiziert (Abbildung 37).



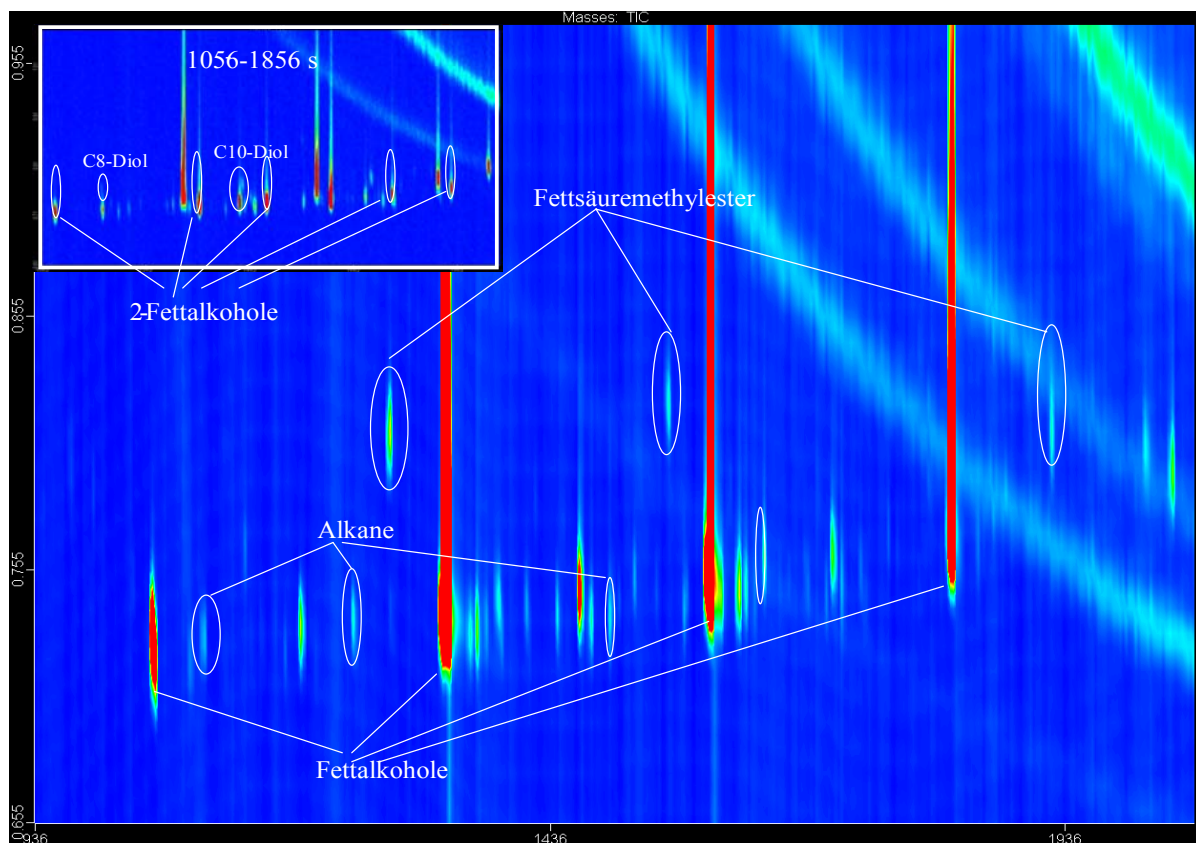


Abb. 37: Gruppen von Nebenbestandteilen in einem Fettalkoholgemisch (C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub>) nach Silylierung.  
Das kleine Bild zeigt den Ausschnitt von  $t_r = 1056-1856$  s. Hier sind beide Diole gut zu erkennen.

In Abb. 38 wurden die Massenspektren von 1-Tetradecanol (silyliert) und 2-Tetradecanol (silyliert) gegenübergestellt.

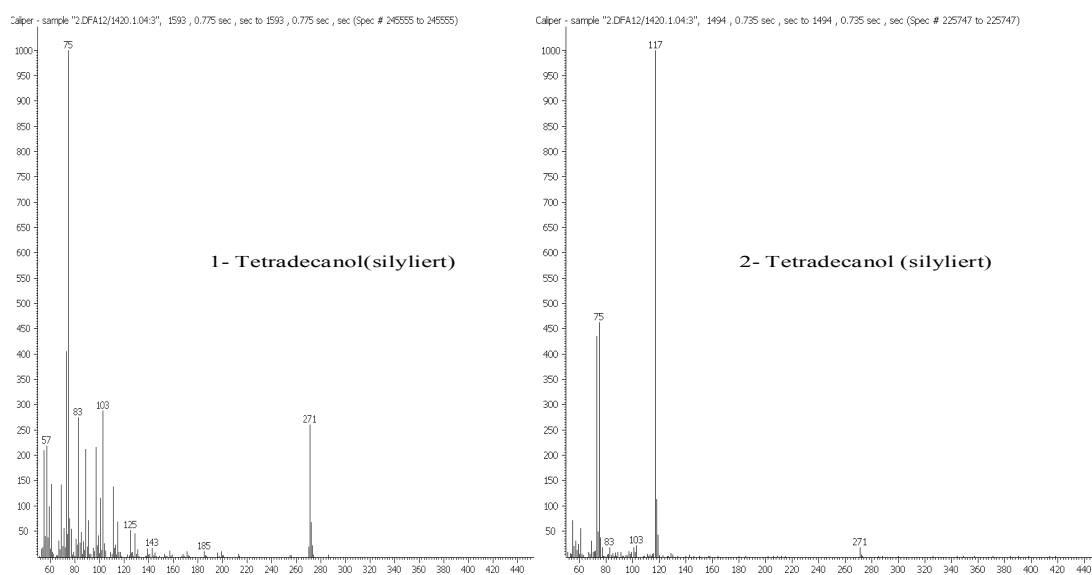


Abb. 38: Vergleich der Massenspektren von 1- und 2-Fettalkohole (silyliert)

Anhand der silylierten Probe wurde die Identifizierung der 2-Fettalkohole bestätigt. Diese besitzen im Unterschied zu den 1-Fettalkoholen ein deutlich anderes Fragmentierungsmuster. Beispielhaft für die 2-Fettalkohole (silyliert) wurden in Abbildung 39 die folgenden vier Spektren dargestellt.

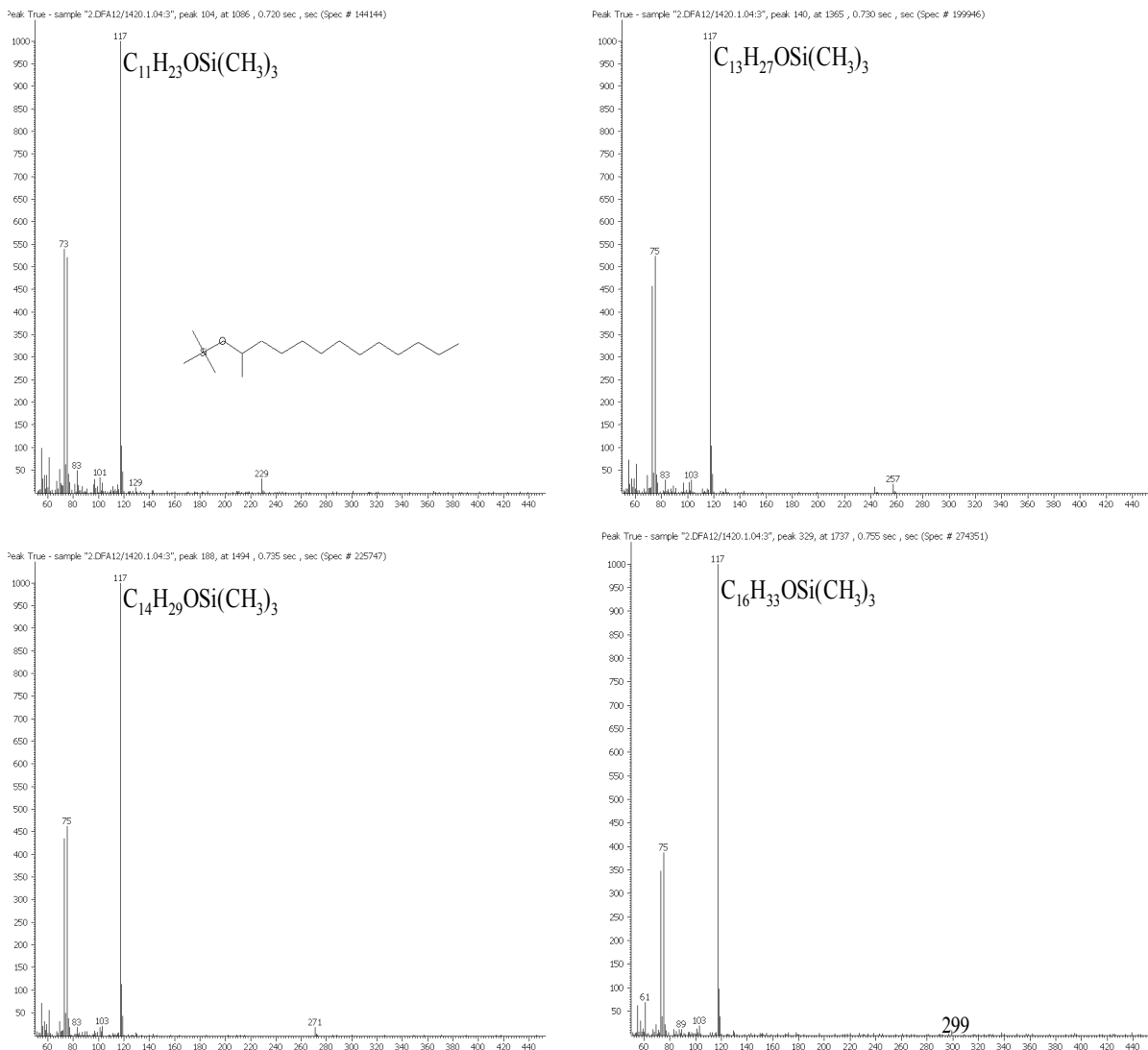


Abb. 39: EI-MS-Spektrum von 2-Undecanol bis 2-Hexadecanol nach der Silylierung

Abbildung 40 zeigt das 2D-Gaschromatogramm der homologen Reihe der 2-Fettalkohole von 2-Undecanol bis 2-Heptadecanol. 2-Tridecanol und 2-Pentadecanol sind als Hauptkomponenten zu erkennen.

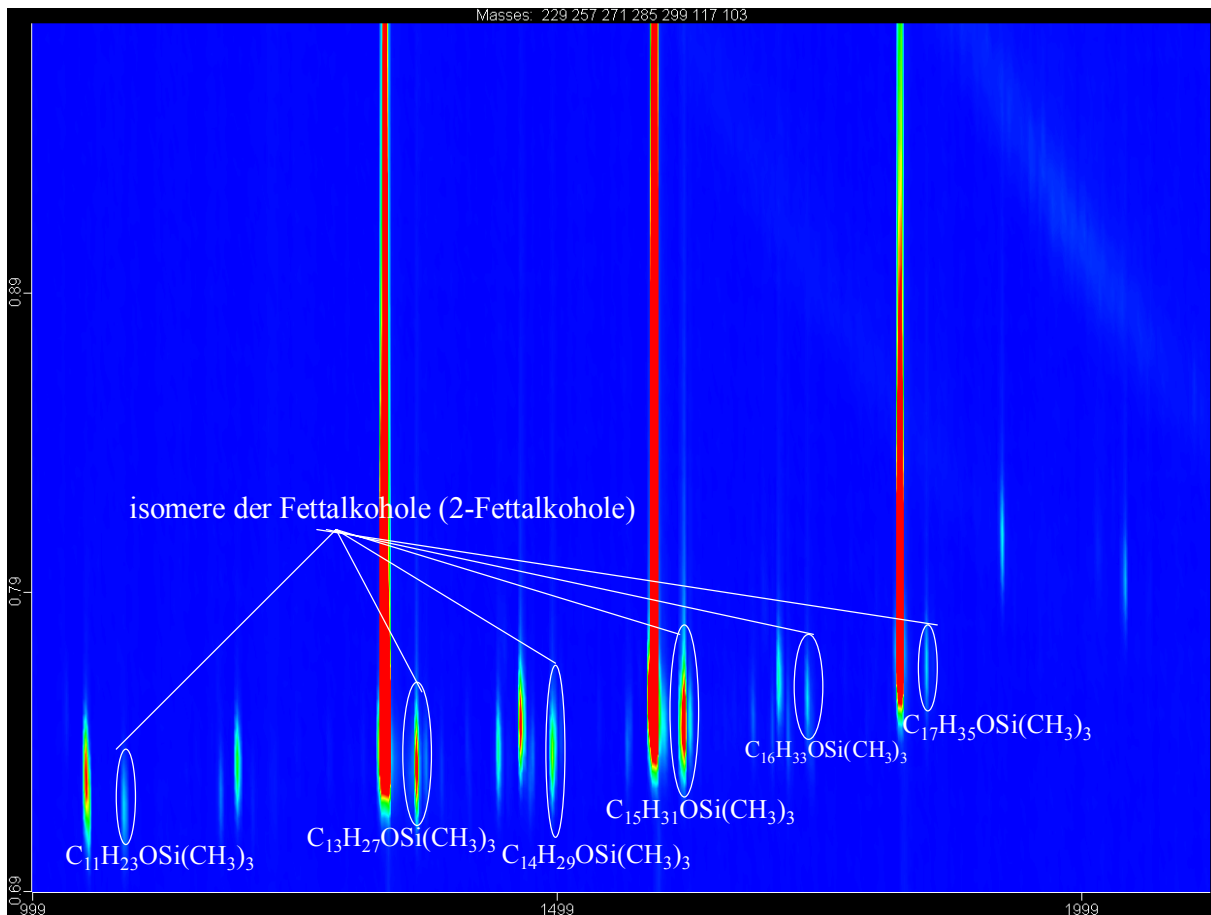
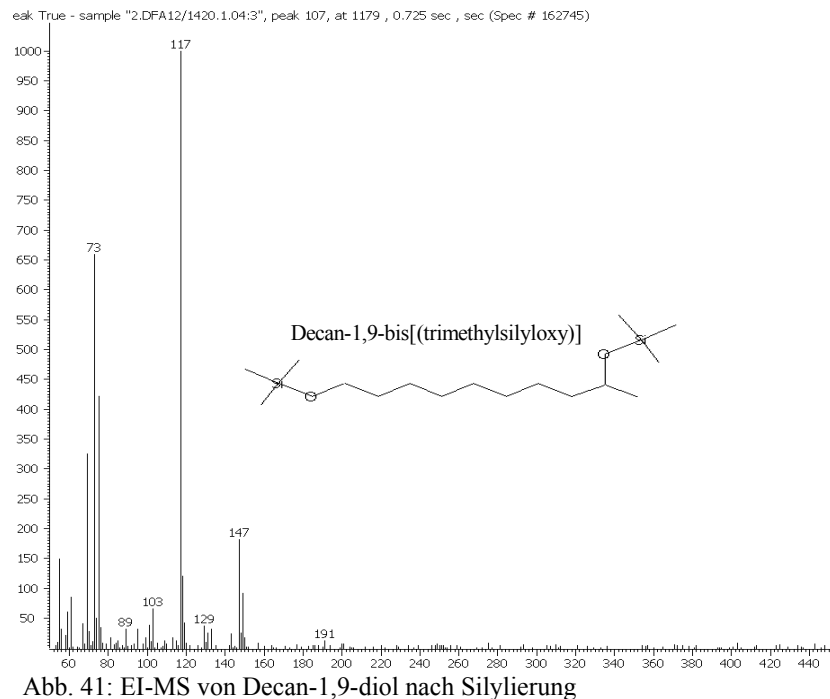


Abb. 40: GCxGC-(TOF)MS-Analyse der 2-Fettalkohole

Durch Analyse der silylierten Probe wurde deutlich, dass keine Aldehyde, sondern Diole in dem Fettalkoholgemisch vorhanden sind. Nach der Silylierung besitzen die Diole zwei Trimethylsilylgruppen und lassen sich durch das Molekülion identifizieren. Dagegen werden die Aldehyde nicht silyliert. Dieser Befund erlaubt eine deutliche Unterscheidung der Aldehyde und Diole. Bei dem einzigen Aldehyd in der Probe handelt es sich um Decanal.

Mittels NIST-Library wurde das Decan-1,9-diol (silyliert) mit einer Sicherheit von 90 % identifiziert. Da von dieser Substanz kein Standard vorhanden war, ließen sich keine weiteren Analysen durchführen, die diese Identifizierung hätten bestätigen können.



## 3.2.2 Fettalkoholethoxylate

### 3.2.2.1 Gaschromatographie zur Analyse der Fettalkoholethoxylate

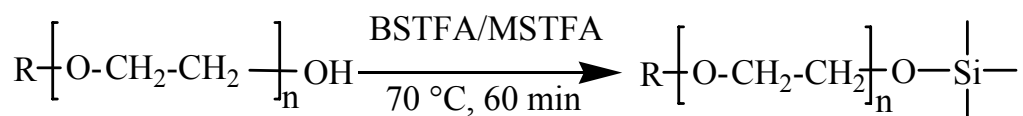
Die herkömmliche GC-MS-Säule wird nicht bei Temperaturen größer als 360 °C betrieben. Aufgrund dieser Einschränkung kann mittels GC-MS eine Analyse der Fettalkoholethoxylate nur bis C12E7 und C18E5 durchgeführt werden. Da in handelsüblichen Tensiden Kettenlängen von C12 bis C18 oder C9 bis C15 und Ethoxylierungsgrade von E7 bis E8 vorkommen, ist die Temperatur für die Untersuchung dieser Substanzen vollkommen ausreichend und der Einsatz der HT-GC nicht notwendig.

### 3.2.2.2 Probenvorbereitung zur Analyse der FAEOs in Waschmitteln und Körperpflegemitteln

Die Probenvorbereitung zur Analyse der FAEOs in Wasch- und Körperpflegemitteln mittels GCxGC-(TOF)MS ist nicht aufwendig. Durch die hohe Leistungsfähigkeit dieser Methode wird eine vollständige Trennung aller Inhaltsstoffe erreicht. Die Matrix zeigt keine störenden Effekte, wenn bei gleichem Dampfdruck der Substanzen unterschiedliche Polaritäten vorliegen.

Diese Problematik wird in der Dissertation von C. Asmussen (Universität Berlin) „Chemische Charakterisierung von Alkylethoxylaten“ diskutiert [166]. Das Vorhandensein von tensidischer Matrix insbesondere von Alkylpolyglucosiden (APGs) führt zu Problemen bei der Bestimmung der FAEOs mittels HT-GC. Ein Alkylpolyglucosidmolekül weist mehrere Hydroxylgruppen auf. Die Umsetzung bei der Derivatisierung mit Bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid (BSTFA) ist nicht vollständig und ergibt mehrere Produkte. Geht man davon aus, dass das Gaschromatogramm eines technischen FAEO-Gemisches im Durchschnitt 45 Signale aufweist, so sind Überlagerungen mit Matrixpeaks zu erwarten. Anionische und kationische Tenside dagegen beeinflussen die GC-Bestimmung von FAEOs nicht, da sie nicht GC-gängig sind. Zur Aufarbeitung von Wasch- und Reinigungsmitteln wurde aufgrund der genannten Schwierigkeiten ein Trennungsgang entwickelt, durch den sowohl vorhandene APGs als auch FAEOs abgetrennt werden können [166].

In der hier vorliegenden Arbeit wurden die technischen FAEO-Gemische ohne weitere Vorbereitung nach der Einwaage mit einer Mischung aus BSTFA/MSTFA (5:1) versetzt, mit Toluol verdünnt und analysiert. Der Vergleich mit der oben beschriebenen Methode zeigt, dass die Probenvorbereitung und die gesamte Analytik mittels GCxGC-(TOF)MS deutliche Vorteile gegenüber der konventionellen GC-MS aufweist. Hier wurden in einer einzigen Analyse APGs sowie FAEOs getrennt und bestimmt. Die FAEOs werden, wie in nachfolgender Reaktionsgleichung gezeigt, silyliert.



Verläuft die Silylierung nicht vollständig, werden zwei Reihen von Substanzen mit verschiedener Polarität beobachtet. Ethoxylate mit kleinem Ethoxylierungsgrad können mittels GC auch ohne Derivatisierung analysiert werden, allerdings verlängert sich die Retentionszeit jeder Substanz geringfügig. Durch Derivatisierung können die Ethoxylate leichter in die Dampfphase überführt werden.

### 3.2.2.3 Identifizierung von Einzelkomponenten durch EI-Massenspektroskopie

Nach der GCxGC-(TOF)MS-Analyse wird für jede einzelne Substanz ein typisches Massenspektrum erhalten. Da in der NIST-Library alle Spektren der FAEOs nicht vollständig vorhanden sind, wurde die Identifizierung anhand charakteristischer Fragmente in den Massenspektren von technischen Standards wie Brij 30, 72, 56, Dehydol LS 4N, Dehydol LS 6 (mit und ohne Silylierung) vorgenommen.

Die Geräteparameter für die FAEO-Messungen sind im Anhang 5.1.2.5 aufgeführt. Abbildung 42 zeigt beispielhaft das EI-Massenspektrum eines längerkettigen n-Alkohols (C12E0). Die EI-Spektren der Alkohole weisen durch Fragmentierung der Kohlenwasserstoffkette charakteristische Ionenserien auf, die sich durch CH<sub>2</sub>-Gruppen ( $\Delta m/z = 14$ ) unterscheiden. Mit abnehmender Intensität werden z.B. bei  $m/z$  41 ([C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>),  $m/z$  55 ([C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup>),  $m/z$  69 ([C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>),  $m/z$  83 ([C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>),  $m/z$  97 ([C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>]<sup>+</sup>),  $m/z$  111 ([C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>]<sup>+</sup>) etc. Fragmentionen beobachtet, was der Formel ([C<sub>n</sub>H<sub>2n-1</sub>]<sup>+</sup>) entspricht.

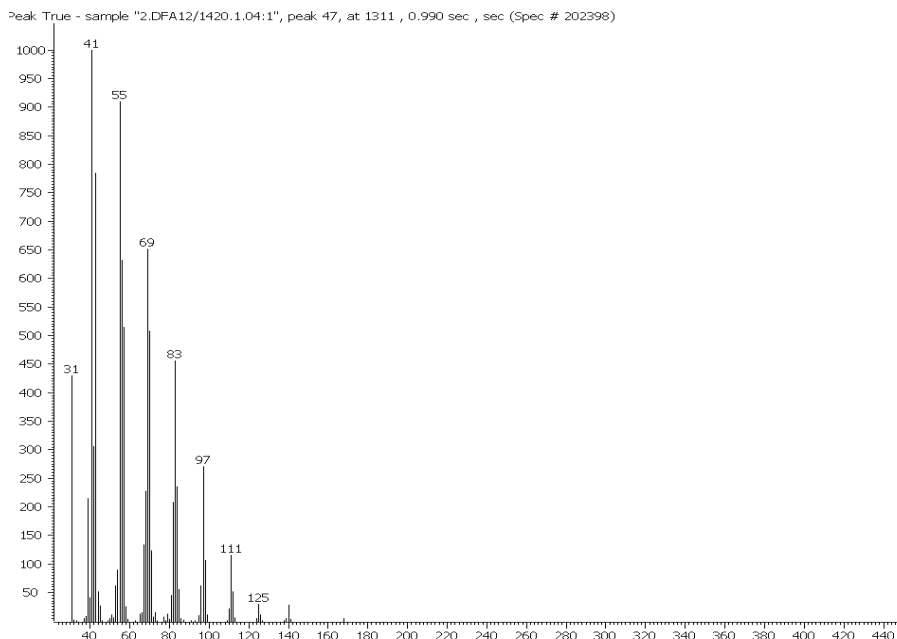


Abb. 42: Massenspektrum von 1-Dodecanol

Nach Scheidegger [122] kann bei diesen Ionenserien festgestellt werden, ob eine Verzweigung im Alkylrest vorliegt. Isomere mit einer Alkylgruppe in  $\alpha$ -Position unterscheiden sich, wie in Abbildung 43 gezeigt, durch den Bindungsbruch am tertiären C-Atom, wodurch sauerstoffhaltige

Fragmente der Zusammensetzung  $[C_nH_{2n-1}O]^+$  ( $m/z$  57, 71, 85, 99) gebildet werden.

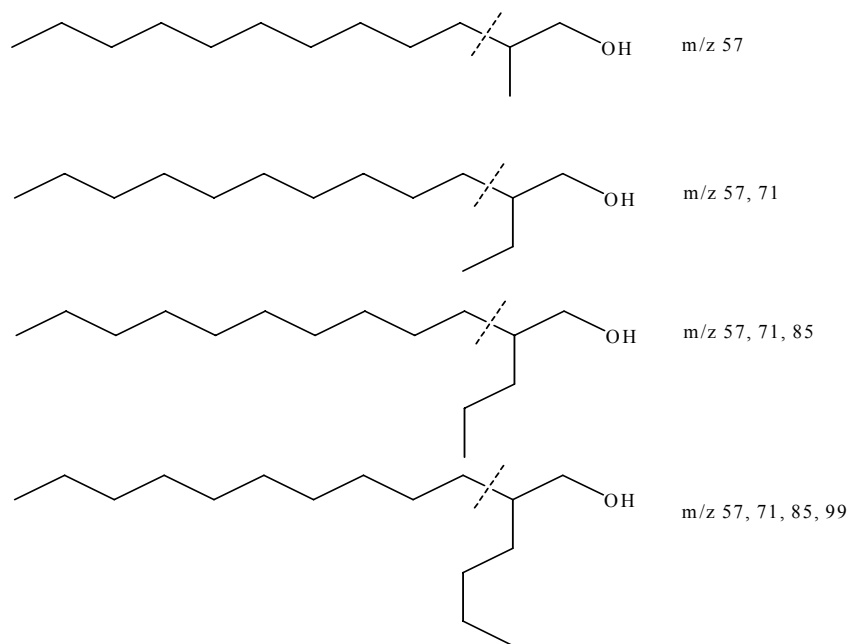


Abb. 43: Charakteristische Fragmente von  $\alpha$ -alkylsubstituierten Alkoholen [122]

Weiterhin typisch für underivatisierte FAEOs sind Fragmentationen der Polyethylenglykolkette mit der Zusammensetzung  $[45+n \cdot 44]^+ = m/z$  45, 89, 133 etc. Die für die Alkylkette typische Ionenserie  $[C_nH_{2n+1}]^+$  weist die Massen  $m/z$  57, 71, etc auf (Abbildung 44).

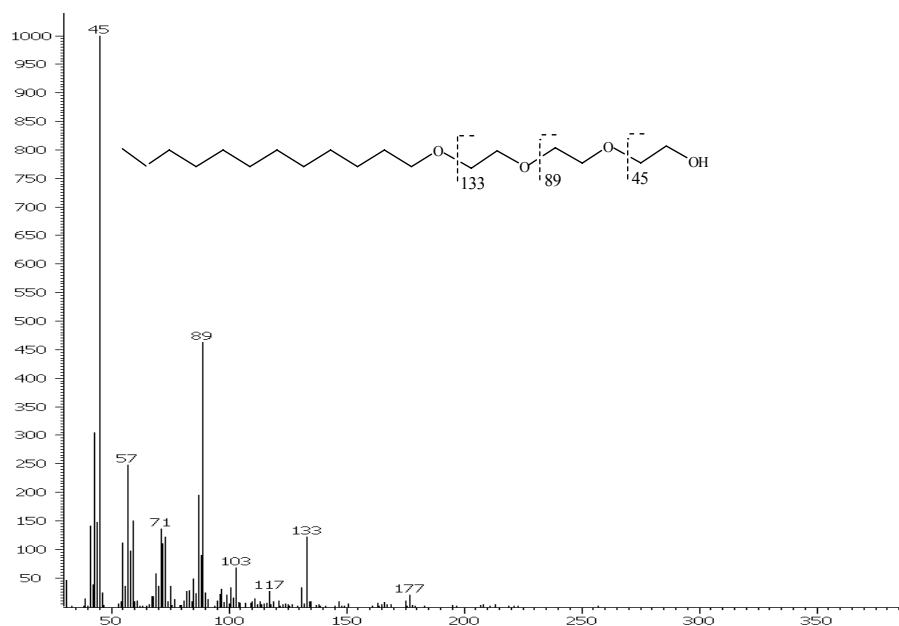


Abb. 44: Massenspektrum des underivatisierten Fettalkoholethoxylats C12E3

Die technischen Standards wurden mit und ohne Derivatisierung analysiert. Jedem Signal (durch die Modulation in eng beieinander liegende Signale aufgespalten) ist ein Spot im 2D-Gaschromatogramm zuzuordnen. Abbildung 45 zeigt ein TIC-Chromatogramm (Bild oben links) von Brij 30 ohne Silylierung. Die Probe wurde mit Methanol verdünnt und analysiert.

Ebenfalls wurde Brij 30 nach Silylierung mit BSTFA/MSTFA untersucht. In der Probe sind Verbindungen mit einer Länge der Alkylkette von C10 bis C16 vorhanden. Der Hauptbestandteil der Probe ist Tetraethylglykoldodecylether (C12E4). Mit steigendem Ethoxyierungsgrad nimmt die Retentionszeit auf der 1. Säule annähernd linear zu. Auch auf der 2. Säule wird mit ansteigendem Ethoxyierungsgrad zunächst ein linearer Anstieg der Retentionszeit beobachtet, der einer entsprechenden Zunahme der Polarität entspricht. Erst bei größeren EO-Ketten ( $EO \geq 6$ ) zeigt sich ein überproportionaler Polaritätsanstieg.

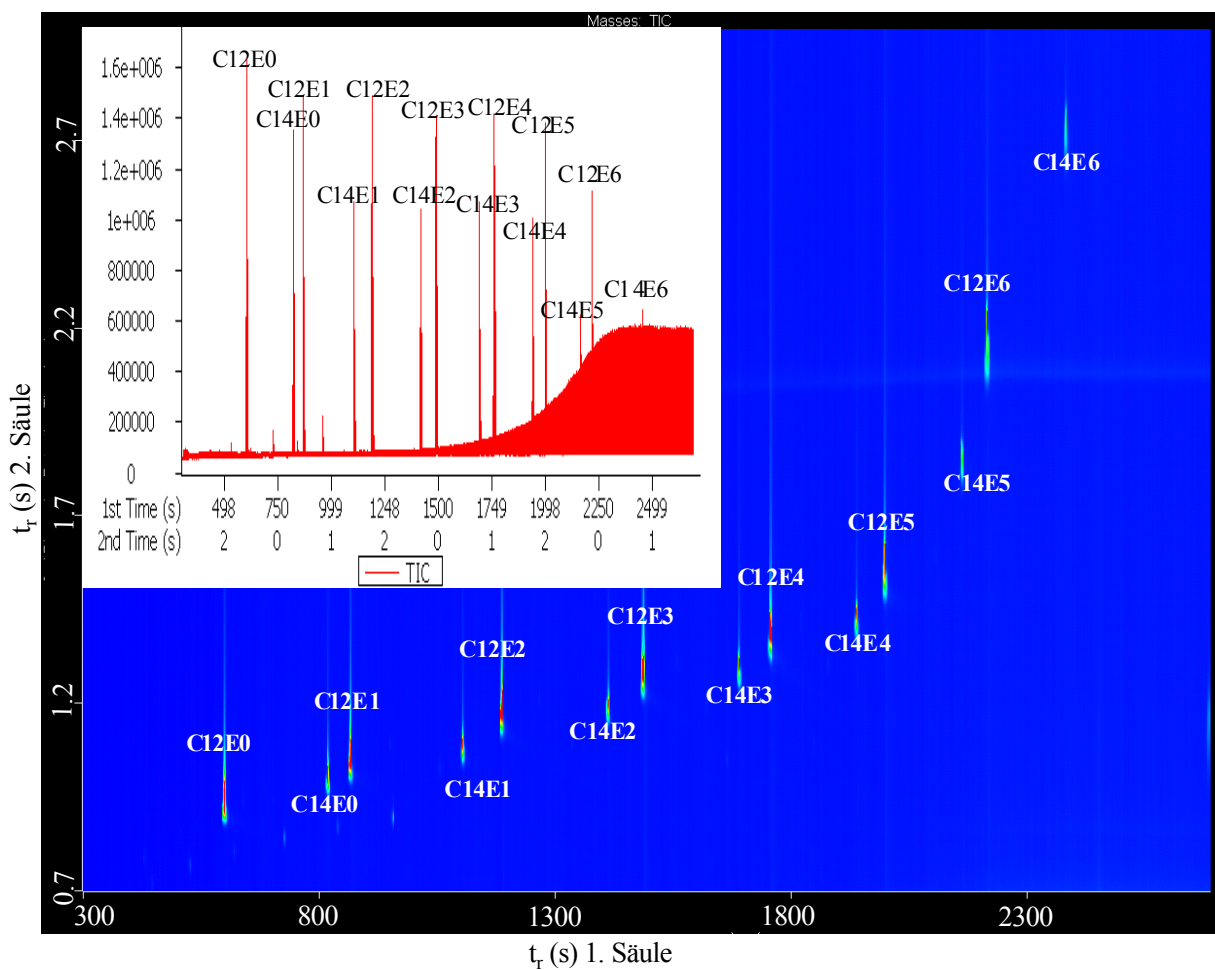


Abb. 45: GCxGC-(TOF)MS-Analyse von Brij 30 ohne Silylierung



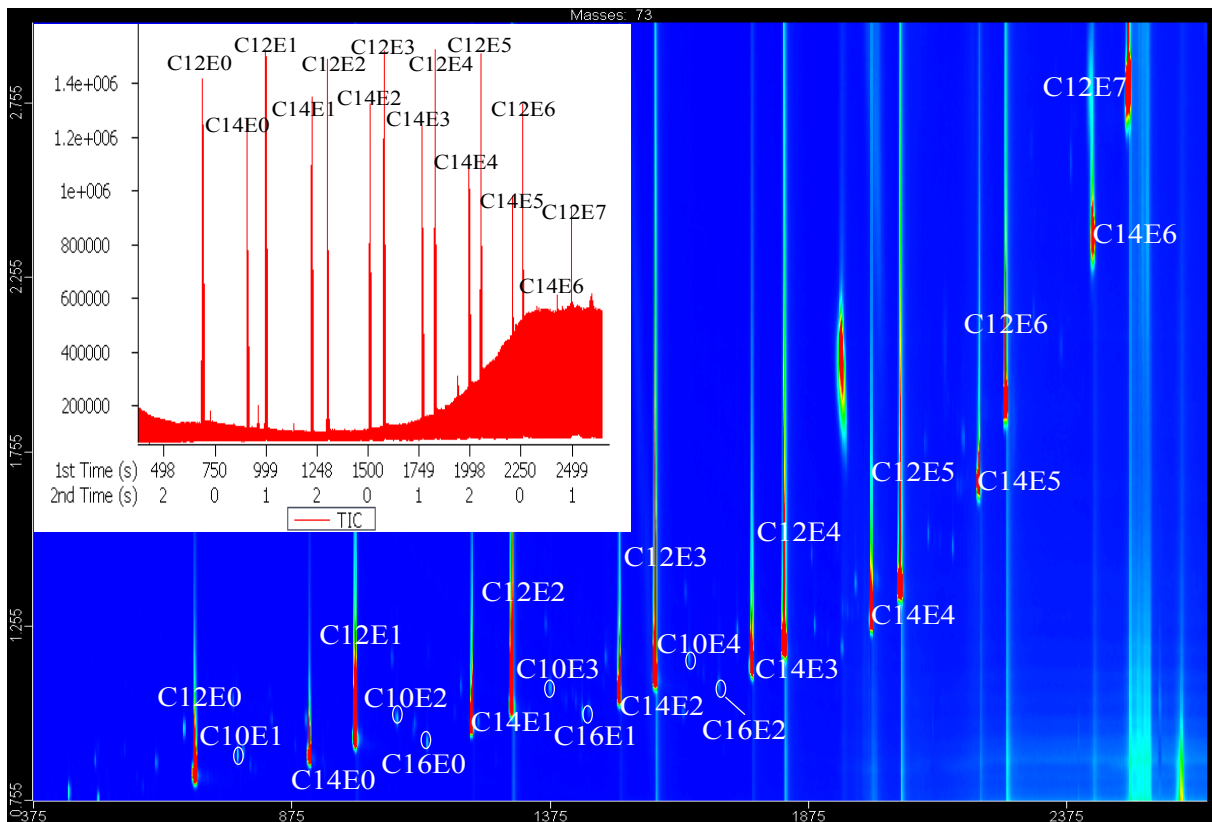


Abb. 46: GCxGC-(TOF)MS-Analyse von Brij 30 mit Silylierung

Das Fragmentierungsschema von C12E3 ist beispielhaft für alle C<sub>n</sub>E<sub>3</sub>-Homologen in Abb. 47 dargestellt. In den EI-Spektren der C<sub>n</sub>E<sub>1</sub>-Verbindungen sind die Molekülionen nicht zu beobachten. Stattdessen treten [M-15]<sup>+</sup>-Ionen auf, die auf den Verlust einer Methylgruppe hinweisen. Verbindungen mit dem Ethoxylierungsgrad zwei zeigen die [M-15]<sup>+</sup>-Ionen nur für die Homologen mit kurzer Alkylkette. Dagegen ist ein [M-15]<sup>+</sup>-Ion bei Verbindungen mit längerer Alkylkette wie C16E2 nicht mehr zu sehen (Abbildungen 48 und 49). Bei allen größeren EO-Graden ist die Masse des [M-15]<sup>+</sup>-Ions im Spektrum (z.B. bei C12E3) nicht zu beobachten.

390 Da

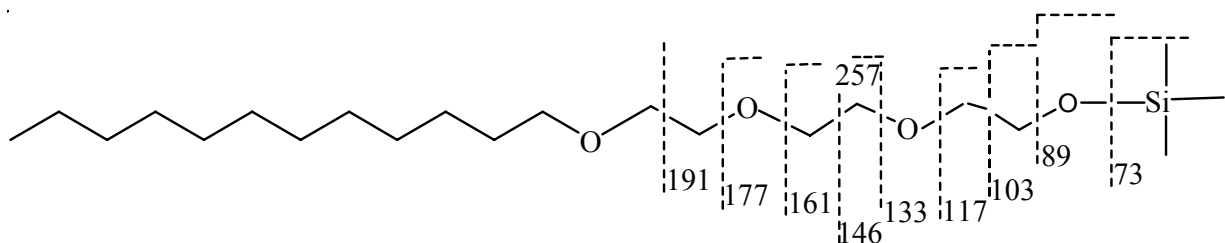


Abb. 47: Fragmentierungsschema des silylierten C12E3 (MG 390 Da)

Anhand der Spektren der technischen Standards (siehe oben) konnten die FAEOs nach Silylierung in kommerziellen Proben (Pfleagemitteln) identifiziert werden. Zur Identifizierung wird folgende Systematik vorgeschlagen:

1. Prüfung auf CnE1 für alle Kettenlängen (Abb. 48)  
Bei CnE1 ist immer ein Fragment  $m/z$  119 mit höchster Intensität zu sehen.
2. Prüfung auf CnE2 für alle Kettenlängen (Abb. 49)  
Bei CnE2 ist immer ein Fragment  $m/z$  116 mit großer Intensität zu sehen.
3. Prüfung auf CnE3 für alle Kettenlängen.  
Bei CnE3 ist immer ein Fragment  $m/z$  117 mit großer Intensität zu sehen.
4. Überprüfung der Retentionsreihenfolge.  
C10E0, C12 E0, C10E1, C14E0, C12E1, C10E2, C16E0, C14E1, C12E2

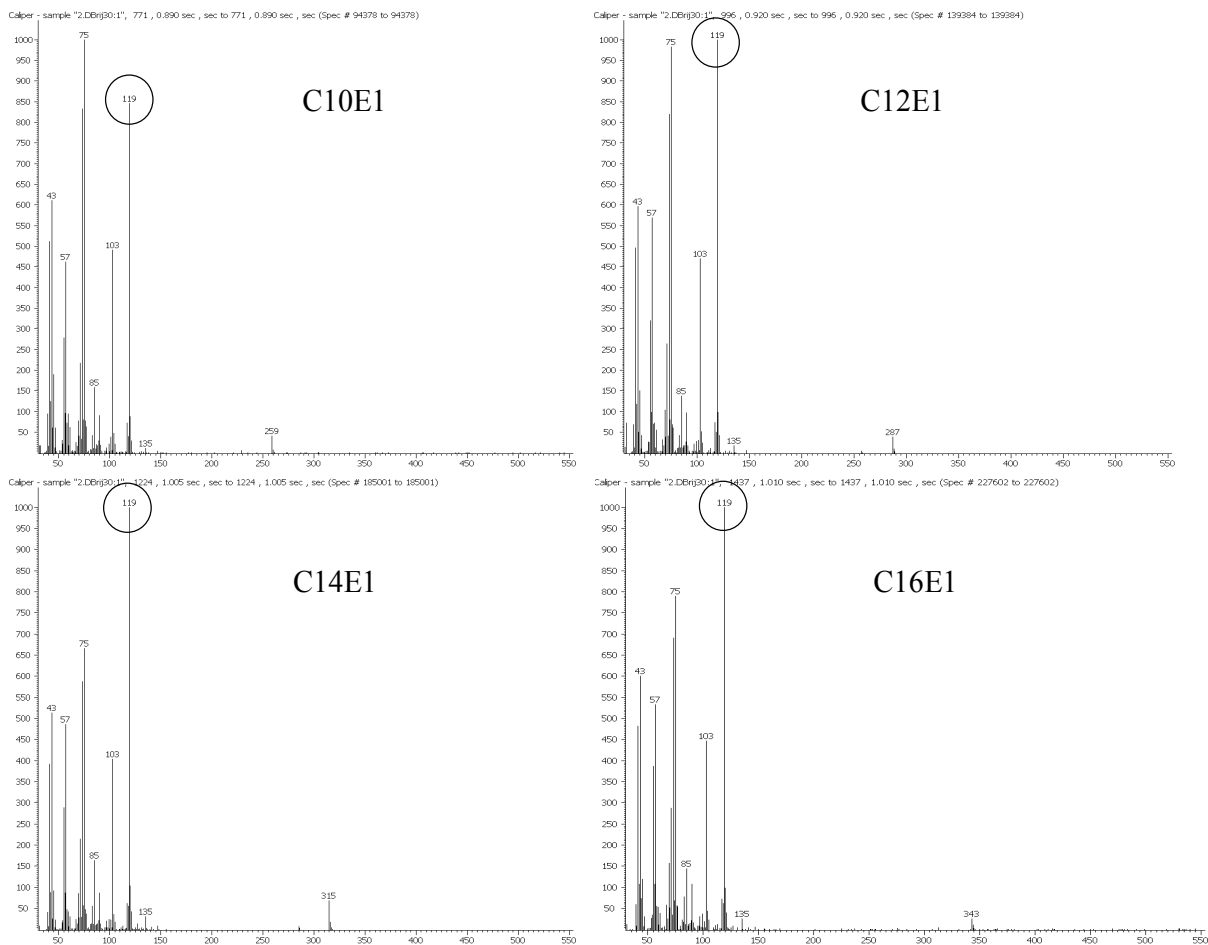


Abb. 48: Massenspektren der derivatisierten C10E1 bis C16E1 (charakteristische Fragment bei  $m/z$  119)

Wie in Abbildung 48 sehr gut zu sehen ist, ist bei allen CnE1 das Schlüsselfragment  $m/z$  119 mit großer Intensität vorhanden. Abbildung 50 zeigt die mittels GCxGC-(TOF)MS silylierten Ethoxylate eines Testshampoos (Cognis).

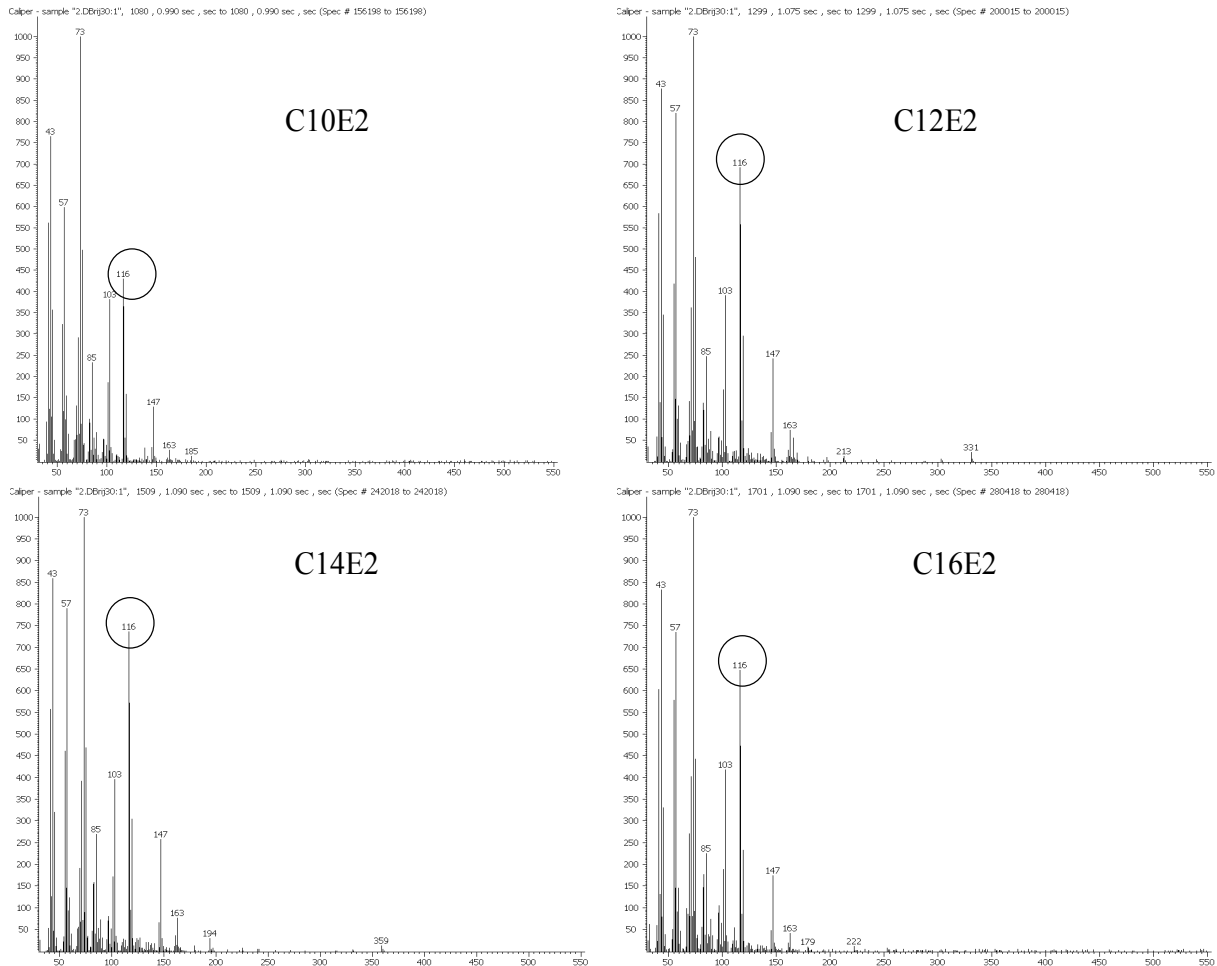


Abb. 49: Massenspektren der derivatisierten C10E2 bis C16E2 (charakteristische Fragment bei  $m/z$  116)

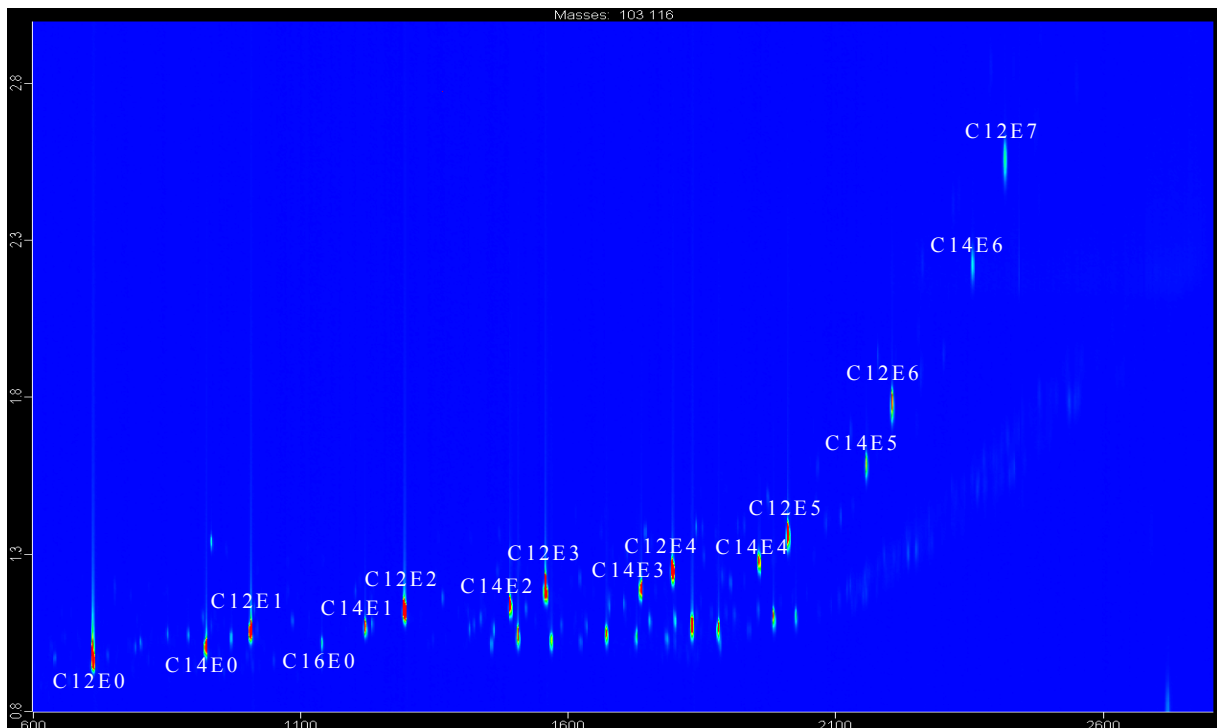


Abb. 50: GCxGC-(TOF)MS-Analyse von „Testshampoo“ (Cognis) nach Silylierung

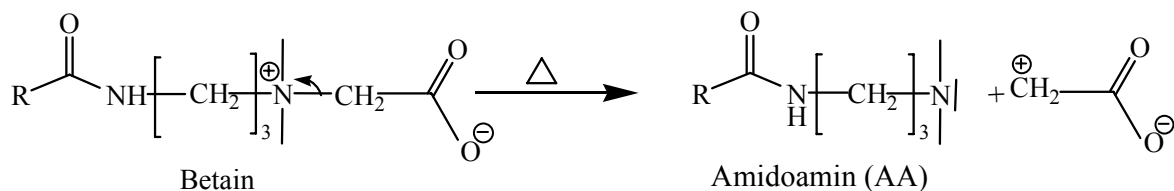
### 3.2.3 Untersuchung der Betaine

#### 3.2.3.1 GC-FID- und GC-MS-Analyse der Cocamidopropylbetaine

Da über die Untersuchung von Amidalkylbetainen mittels GC meines Wissens (Ausnahme: Glycinbetaine mittels GC [147]) keine Veröffentlichungen vorliegen, musste zunächst die Frage geklärt werden, ob bzw. unter welchen Bedingungen, diese Betaine mittels GC zu bestimmen sind. Zur Entwicklung einer geeigneten Methode kamen verschiedene käufliche Standards zum Einsatz, die in zwei Laboratorien, zum einen bei der BAYER AG (Bayer) und zum anderen an der Bergischen Universität Wuppertal (BUW), mittels GC-CI/MS (Bayer), GC-EI/MS (Bayer), GC-(TOF)MS (BUW) und GCxGC-(TOF)MS, GCxGC-FID (BUW) analysiert wurden:

- Dehyton K (Aktive Substanz 29-32 %, Wasser 63-65 %, Natriumchlorid 4,5-6,0 %, pH 10,0-11,0, Monochloracetat < 5 ppm, Amidoamine max. 0,3 %)
- Dehyton PK (Aktive Substanz 50 %)
- Amidoamine mit unterschiedlicher n-Alkylkette (R = C7, C10, C11, C13, C14, C15, C17), jeweils als reine Substanz

Zunächst wurde versucht, die Standardverbindungen zur Probenvorbereitung mit einer Mischung aus BSTFA und MSTFA zu silylieren, was jedoch nicht erfolgreich war, so dass schließlich eine 1 %ige (w/w) Lösung der Standards in Methanol hergestellt wurde. Diese Lösung wurde ohne weitere Schritte der Vorbereitung injiziert. Auffällig bei der Analyse des Dehyton PK-Standards mittels GC-FID war das Vorhandensein von Signalen mit hoher Intensität im Chromatogramm, welche nach GC-(TOF)MS-Analyse eine jeweils um 58 Dalton geringere Molekülmasse aufwiesen als die für das Amidalkylbetain mit entsprechendem Alkylrest berechnete Masse. Die Massedifferenz von 58 Dalton ließ die Vermutung zu, dass das jeweilige Amidalkylbetain durch die thermische Belastung im Injektor unter Verlust der  $\text{CH}_2\text{COO}$ -Gruppe zum Amidoamin reagiert. Zur Verifizierung dieser Annahme wurden Amidoamine mit verschiedenen Alkylresten ( $\text{R} = \text{C7}, \text{C10}, \text{C11}, \text{C13}, \text{C14}, \text{C15}, \text{C17}$ ) zunächst als Einzelsubstanzen und später auch als Mischung unter den gleichen Bedingungen analysiert wie zuvor der Dehyton PK-Standard. Das Chromatogramm von Dehyton PK (Abb. 51, oben) zeigt die Amidoamine von C8-AA bis C18-AA als Hauptkomponenten. Der über eine Mischung von Standards (Abb. 51, unten) abgeschätzte Gehalt dieser Komponenten in der injizierten Dehyton PK-Probe (ca. 50 %) liegt weit über dem erwarteten Wert von maximal 0,3 %. Damit muß davon ausgegangen werden, dass die Amidoamine durch Thermolyse im Injektor aus den Betainen nach folgender Gleichung gebildet werden.



Das Auftreten zusätzlicher Signale im Dehyton PK-Chromatogramm deutet auf weitere Thermolyseprodukte hin, auf die später eingegangen wird.

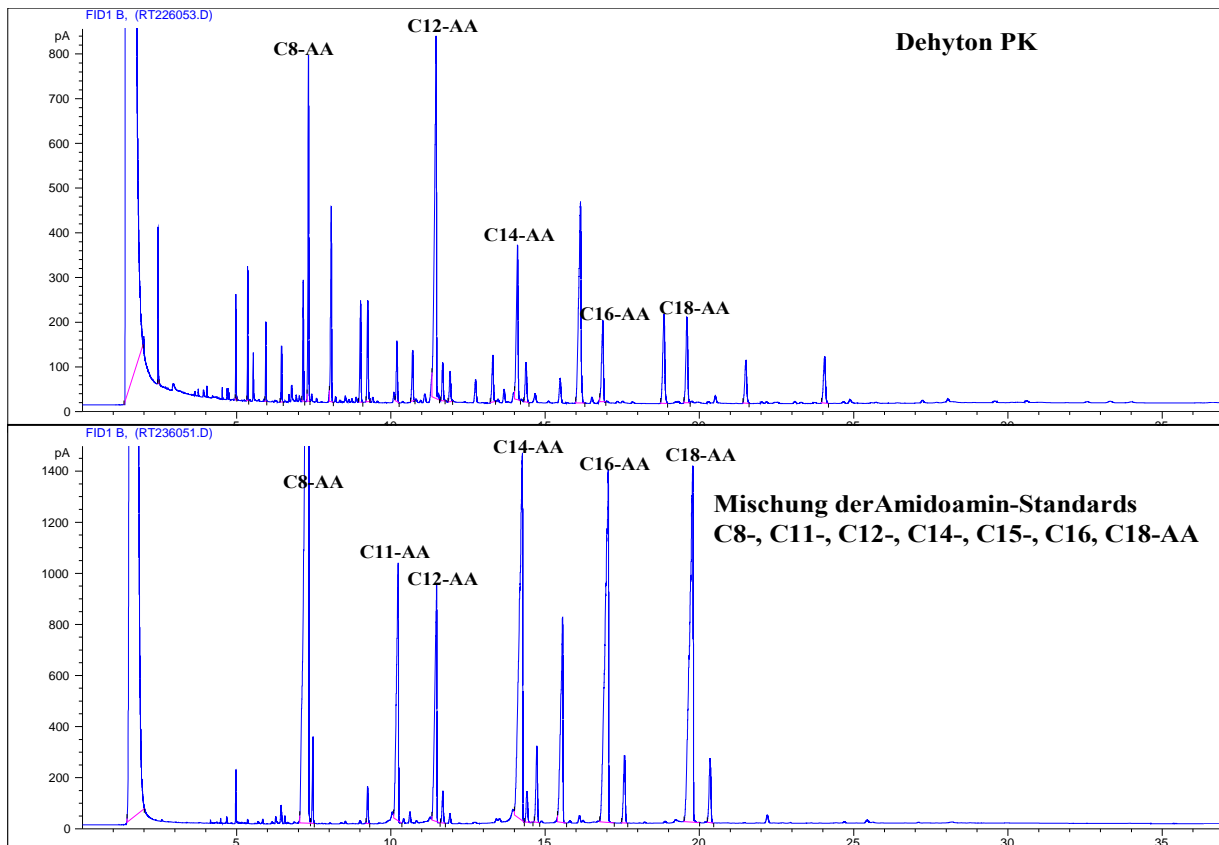


Abb. 51: GC-FID-Analyse der Dehyton PK- und Amidoamin-Standards

Abbildung 52 zeigt im Vergleich die Massenspektren der Amidoamine C8-AA und C14-AA mit den Spektren der als Amidoamine identifizierten Substanzen aus den untersuchten Standards Dehyton K bzw. Dehyton PK. Dieser Vergleich ergibt eine weitgehende Übereinstimmung der jeweiligen Spektren. Nach der eindeutigen Identifizierung der untersuchten Substanzen als Amidoamine musste geklärt werden, unter welchen Bedingungen die Zersetzungsreaktion der Amidalkylbetaine im Injektor abläuft. Daher wurden sowohl der Amidoamin- als auch der Dehyton PK-Standard bei verschiedenen Injektortemperaturen (180 °C, 200 °C, 240 °C, 260 °C, 280 °C, 300 °C, 320 °C) injiziert. Während bei der Amidoamin-Mischung, wie Abbildung 53 beispielhaft für die Injektortemperaturen von 180 °C bzw. 320 °C zeigt, über den gesamten untersuchten Bereich von 180 °C bis 320 °C keinerlei Änderung in der Signalintensität oder das Auftreten von Zersetzungsprodukten beobachtet wurde, ergab sich beim Dehyton PK-Standard eine deutliche Abhängigkeit des Analyseergebnisses von der Injektortemperatur (Abb. 54). So konnten bei einer Injektortemperatur von 200 °C keinerlei Amidoamine nachgewiesen werden. Dagegen wurde mit steigender Injektortemperatur eine deutliche Zunahme der Signalintensität

beobachtet. Dieses Ergebnis zeigt, dass es tatsächlich zu einer Zersetzung der Betaine in Injektor kommt und die Amidoamine nicht etwa schon im Dehyton PK-Standard enthalten gewesen waren. Ansonsten hätten diese bereits bei einer Injektortemperatur von 200 °C nachweisbar sein müssen, da bei dieser Temperatur die Amidoamin-Standards schon zu analysieren waren. Damit ist klar, dass Amidalkylbetaine erst bei höheren Temperaturen im Injektor einer Zersetzungsreaktion unterliegen.

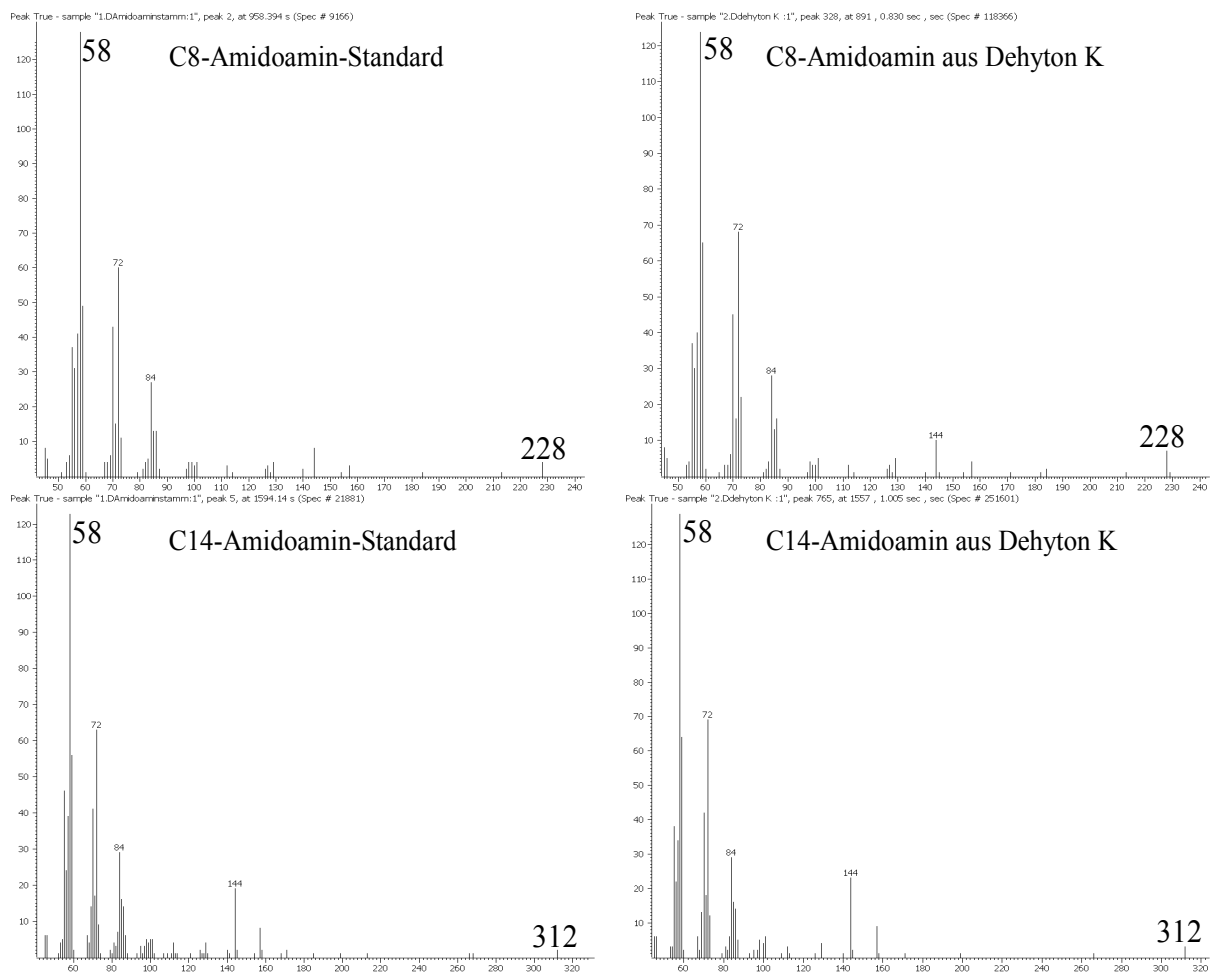


Abb. 52: Vergleich der Massenspektren der Amidoamin-Standards C8-AA und C14-AA und der aus Dehyton K-Standard gebildeten Amidoamine

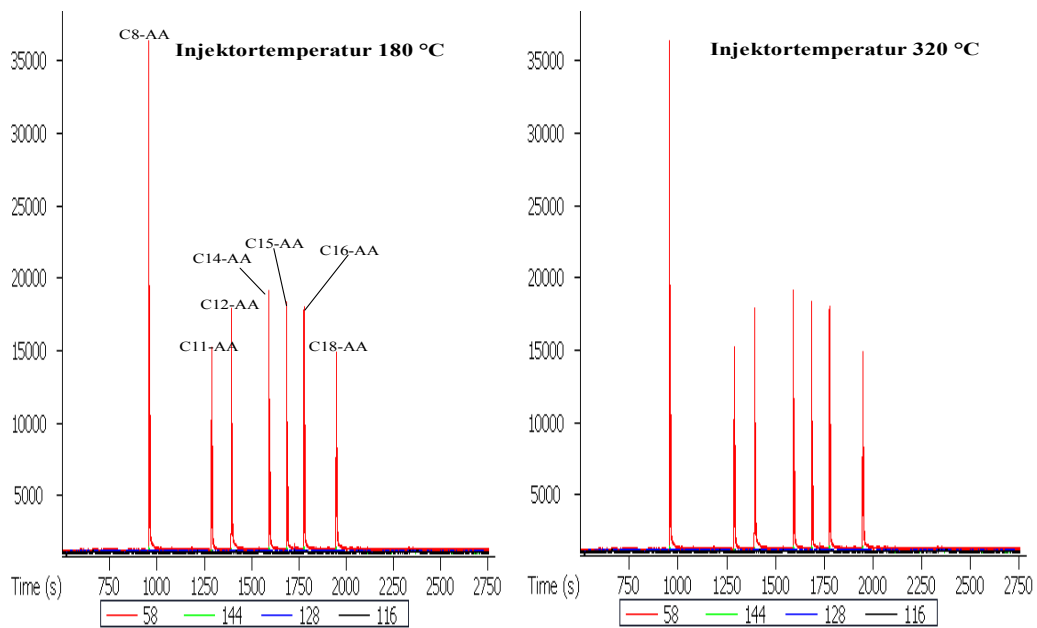


Abb. 53: Vergleich der GC-(TOF)MS-Chromatogramme der Amidoamin-Standards bei Injektortemperaturen von 200 °C bzw. 320 °C

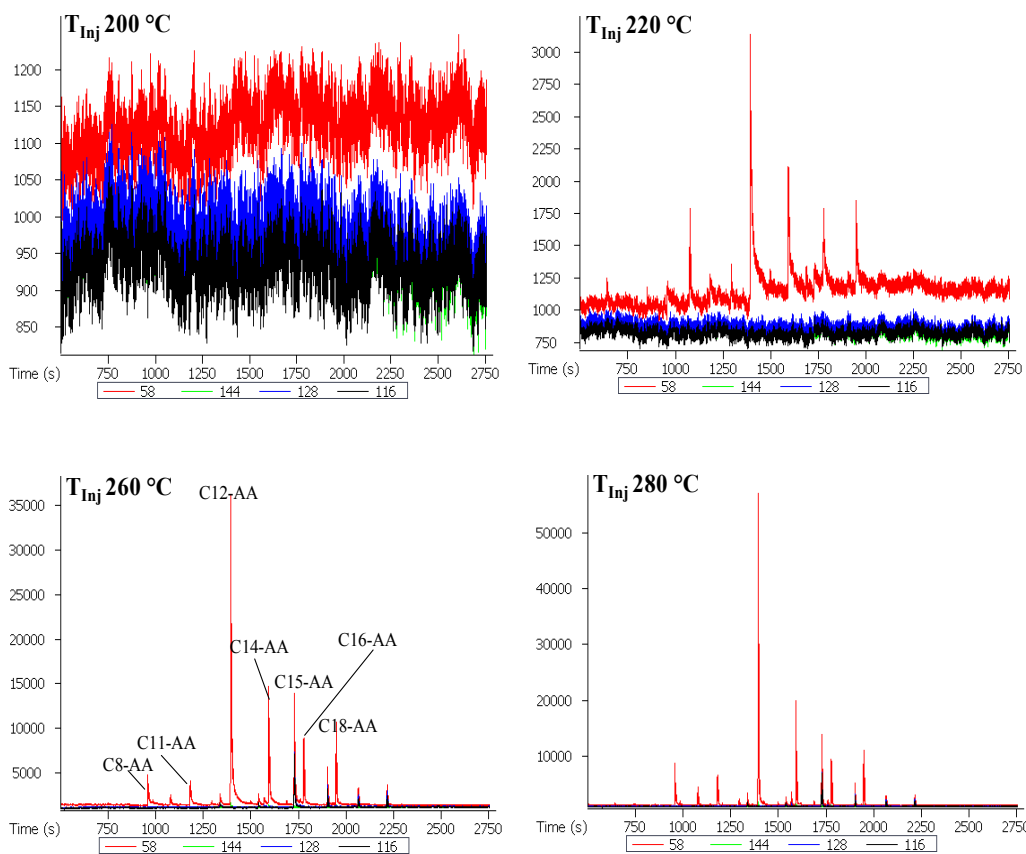


Abb. 54: Vergleich der GC-(TOF)MS-Chromatogramme von Dehyton PK-Standard bei Injektortemperaturen von 200 °C bis 280 °C



### 3.2.3.2 2D-GC-Analyse von Dehyton PK-Standard

Da die Silylierung der Standards nicht erfolgreich verlief, wurden diese 1:100 mit MeOH (w/w) verdünnt und mit den bereits oben genannten Analysemethoden untersucht. Abbildung 55 zeigt das Chromatogramm einer GCxGC-(TOF)MS-Analyse (Analysebedingungen siehe Kapitel 5.1.2.5) des Dehyton PK-Standards.

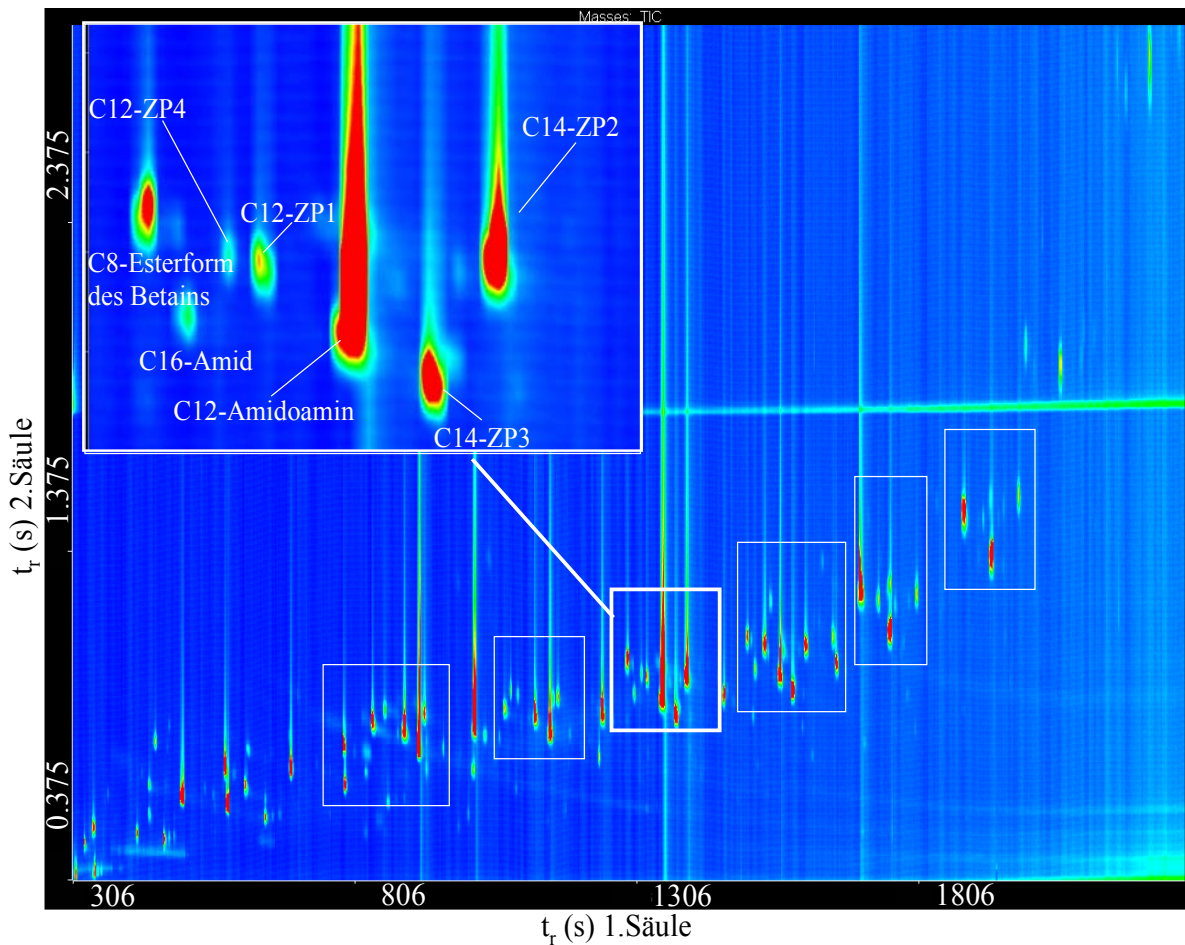


Abb. 55: GCxGC(TOF)MS-Analyse von Dehyton PK-Standard 1:100 verdünnt (ZP = Zersetzungsprodukt)

Die Auswertung des erhaltenen Chromatogramms zeigte das Vorhandensein von verschiedenen Substanzgruppen. Die Gruppen liegen in homologen Reihen vor und wurden als Esterform des Betains (Methylester als Isomer des Betains), Amide, Fettsäuremethylester und Amidoamine sowie anderen Zersetzungsprodukten (ZP1, ZP2, ZP3, ZP4) identifiziert. Die Substanzen einer homologen Reihe unterscheiden sich durch die Länge der Alkylkette. Daraus ergeben sich im 2D-Chromatogramm sich wiederholende Substanz(Spot)muster, die durch kleine Fenster in

Abb. 55 veranschaulicht sind. Im großen Fenster (oben links) ist das C16-Amid zu sehen, das als Bestandteil des Dehyton PK identifiziert wurde. Als Umlagerungsprodukt des C8-Betains tritt die C8-Esterform (Methylester) auf. Des weiteren sind Zersetzungsprodukte der Betaine zu erkennen, wie das C12-Amidoamin sowie die Verbindungen C12-ZP1, C14-ZP2, C14-ZP3 und C12-ZP4.

Die Identifikation der Amide und Fettsäuremethylester wurde unter Verwendung der NIST-Library und durch Vergleich mit den entsprechenden Standardverbindungen durchgeführt. Abbildung 56 zeigt die Untersuchung der Fettsäuremethylester im Dehyton PK Standard mittels GCxGC-(TOF)MS und GC-CI/MS (gelbe Beschriftung). Durch die Analyse mittels GC-CI/MS wurde die Anwesenheit von Dodecansäuremethylester bestätigt. Da die C12-Carbonsäure die Hauptkomponente aus Palmkernöl ist, war dieses Ergebnis zu erwarten. Wegen der hohen Empfindlichkeit der GCxGC lassen sich auch alle homologen der Fettsäuremethylester in Dehyton PK identifizieren.

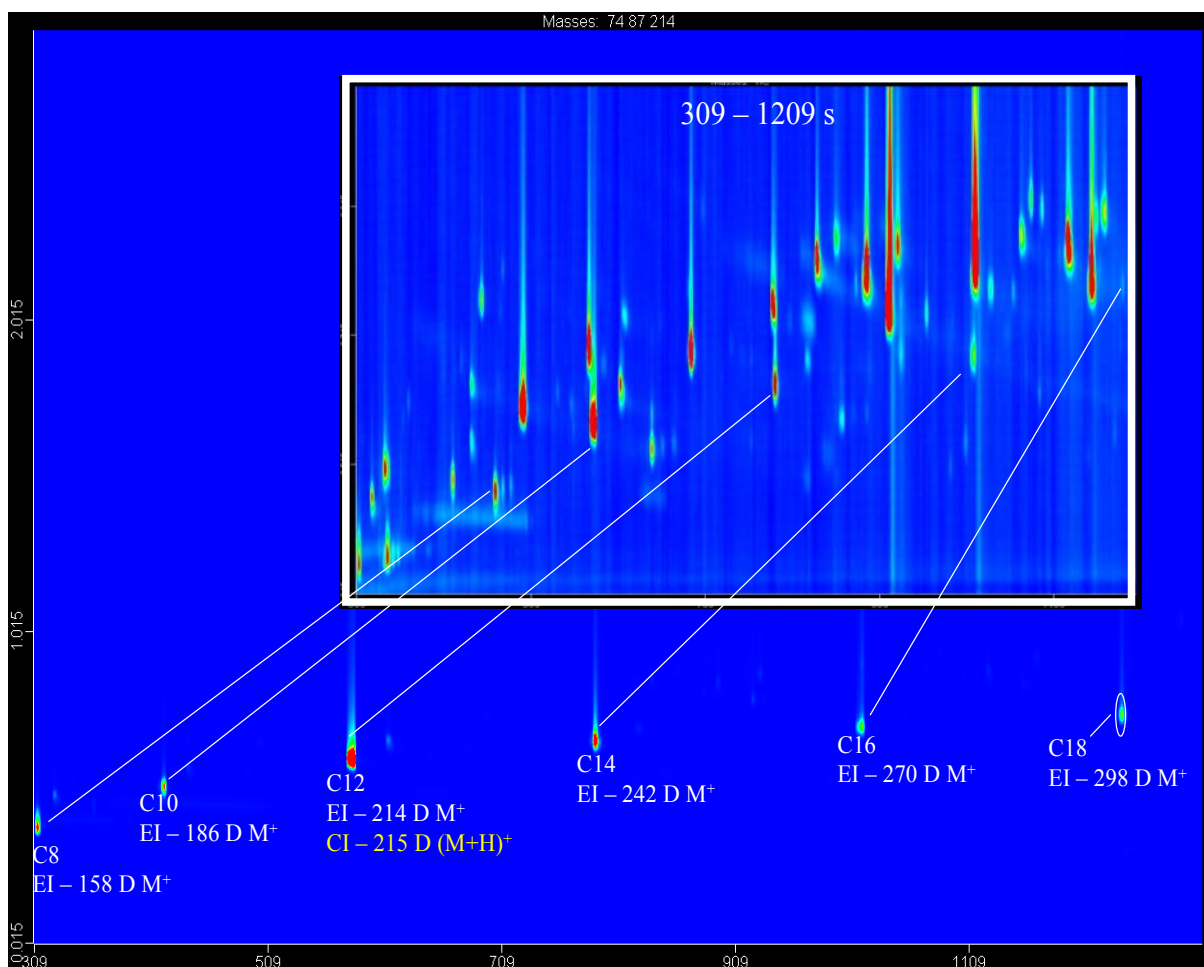


Abb. 56: Analyse der Fettsäuremethylester-Reihe in Dehyton PK-Standard

Als Hauptsignale konnten im untersuchten Dehyton PK-Standard mittels GCxGC-(TOF)MS und GC-CI/MS (gelbe Beschriftung) Amidoamine nachgewiesen werden (Abb. 57). Die CI/MS-Analyse wurde mit Isobutan als Reaktantgas durchgeführt. Erwartungsgemäß liefern die Amidoamine das Quasi-Molekülion  $[M+H]^+$ . Auf diese Weise war innerhalb der homologen Reihe eine eindeutige Zuordnung möglich.

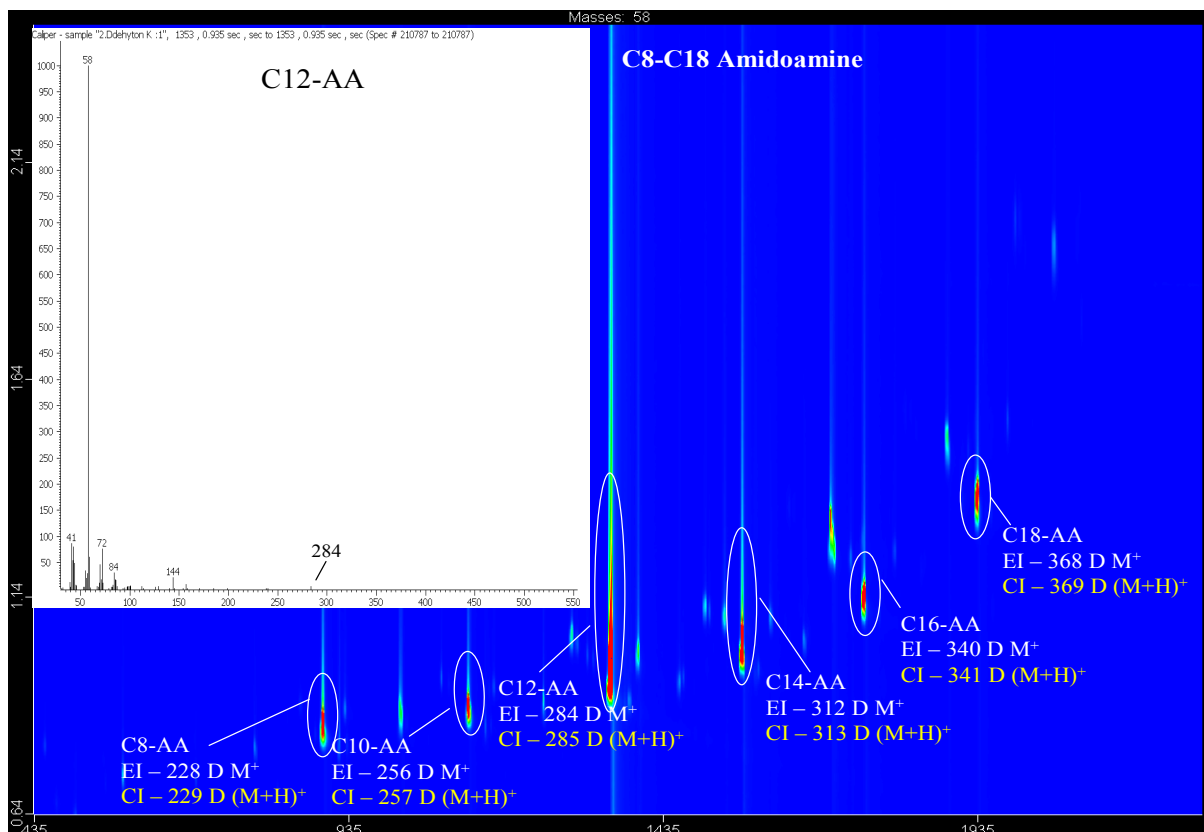
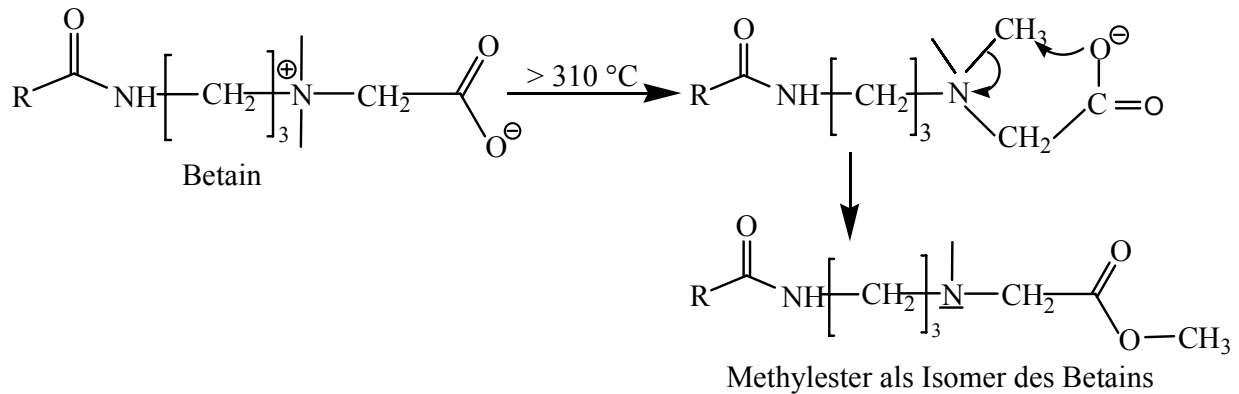


Abb. 57: Die Amidoamine-Reihe aus Dehyton PK-Standard mit zugehörigem Molekülion  $M^+$  (EI) und  $[M+H]^+$  (CI)

Glycinbetain lagert sich bei einer Temperatur von 310 °C zum Methyl ester der Dimethylaminoessigsäure um [167]. Da bei der GCxGC-(TOF)MS-Analyse der Dehyton PK-Standards routinemäßig eine Injektortemperatur von 320 °C eingesetzt wurde, ist die Wanderung einer Methylgruppe und somit die Bildung eines Methyl esters als Isomer des Betains zu erwarten. Diese Umlagerung läuft vermutlich nach unten dargestellter Reaktionsgleichung ab. Bei den Untersuchungen zeigte sich, dass der prozentuale Anteil der Esterform des Betains (ca. 10 %) über einen gewissen Bereich der Injektortemperatur (320 – 340 °C) konstant bleibt. Da bei Injektor-Temperaturen unter 320 °C nur kleine Anteile der Esterform der Betaine angezeigt werden, wird angenommen, dass die Umlagerung und die vollständige Überführung der Produkte in die Säule Temperaturen > 310 °C erfordern. Unterhalb dieser Temperatur erfolgt

aber bereits die Thermolyse zu Amidoaminen und anderen Zersetzungsprodukten. Abbildung 58 zeigt das Chromatogramm der Esterform des Betains im Dehyton PK-Standard. Unter den Substanzspots sind die Massen der beobachteten Molekül-(EI) bzw. Quasi-Molekülonen (CI) gegeben.



Das EI-Massenspektrum des C12-Esters als Isomer des Betains (Abb. 59) enthält Vorschläge zur Zusammensetzung und Struktur der gefundenen Molekül- und Fragmentationen.

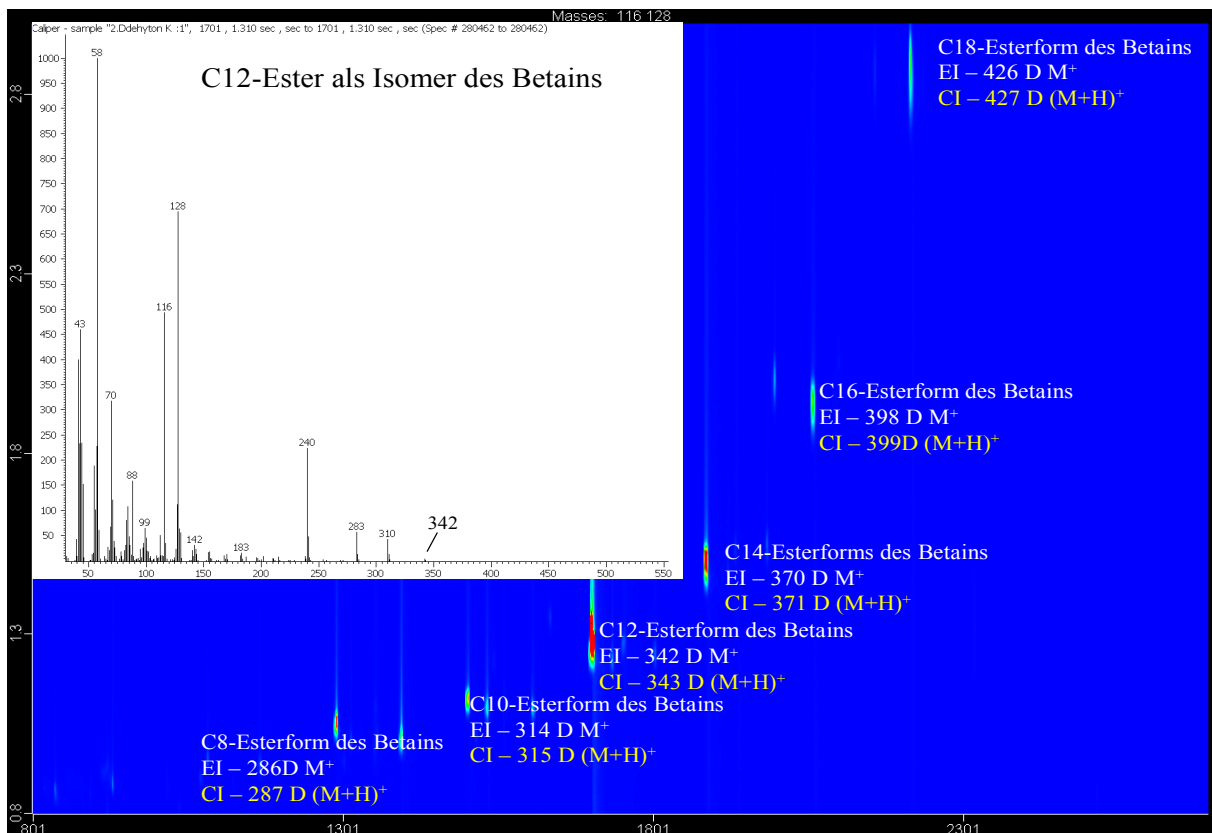


Abb. 58: GCxGC-(TOF)MS- und GC-CI/MS-Analyse (gelbe Beschriftung) der Esterform des C12-Betains im Dehyton PK-Standard

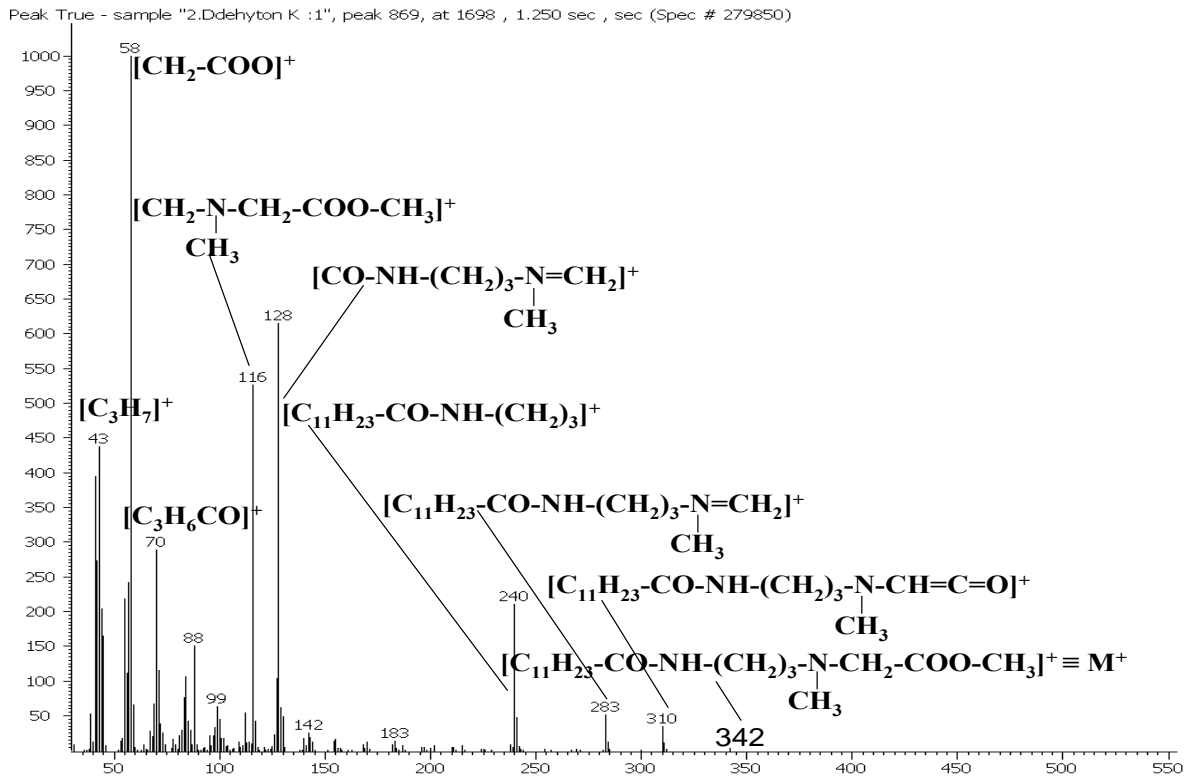


Abb. 59: EI-Massenspektrum der Esterform des C12-Betains

Für die vier Gruppen von Zersetzungsprodukten ZP1, ZP2, ZP3 und ZP4 ergaben die EI-Massenspektren typische Fragmentierungsmuster, die Rückschlüsse auf die Struktur der Verbindungen ermöglichten. Anhand der CI-Massenspektren war es zum Teil, über die  $(M+H)^+$ -Ionen die molare Masse der vorgeschlagenen Strukturen zu bestätigen. Durch EI-MS-Untersuchungen ergaben sich folgende Merkmale:

1. Die Zersetzungsprodukte 1 (ZP1) zeigen das Fragmentierungsmuster  $m/z$  43, 58, 99, 127, 141, 155. Der Anteil dieser Gruppe beträgt ca. 5 % im Chromatogramm der Betaine. Diese homologe Reihe konnte bei der Analyse des Dehyton PK-Standards mittels GC-CI/MS aufgrund der sehr kleinen Konzentration nicht nachgewiesen werden (Abb. 60).
2. Die Zersetzungsprodukte 2 (ZP2) zeigen das Fragmentierungsmuster  $m/z$  41, 57, 69, 84, 99, 112, 126, 154. Der Anteil dieser Gruppe beträgt ca. 10 % im Chromatogramm der Betaine (Abb. 61).
3. Die Zersetzungsprodukte 3 (ZP3) zeigen das Fragmentierungsmuster  $m/z$  41, 55, 71, 84, 99, 112, 126, 154. Der Anteil dieser Gruppe beträgt ca. 25 % im Chromatogramm der

Betaine (Abb. 62).

- Die Zersetzungsprodukte 4 (ZP4) zeigen das Fragmentierungsmuster  $m/z$  43, 58, 70, 84, 103, 128, 146, 174. Der Anteil dieser Gruppe beträgt ca. 8 % im Chromatogramm der Betaine,  $m/z$  128 ist relativ stark, diese Gruppe ist polarer als die Esterform des Betains (Abb. 63).

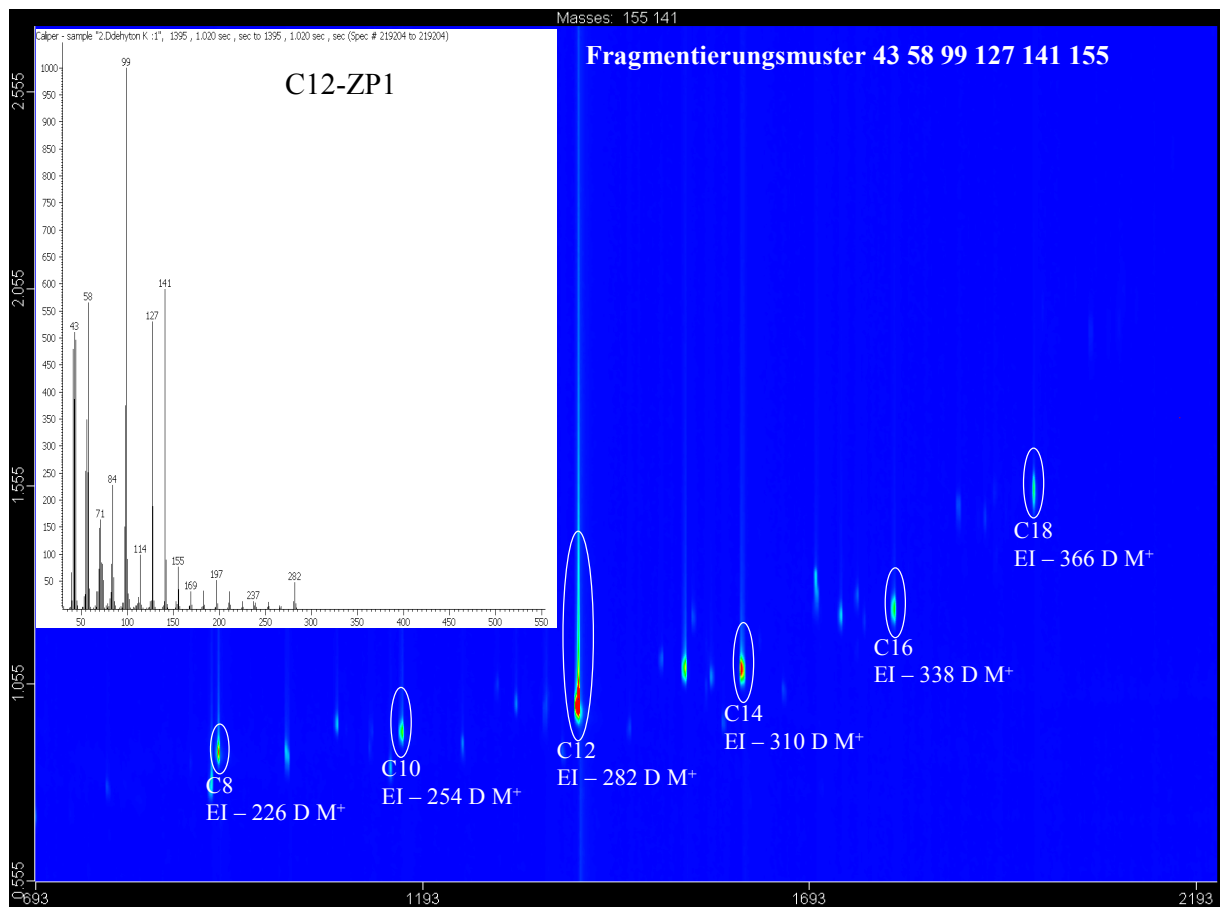


Abb. 60: Chromatogramm der Zersetzungsprodukte 1

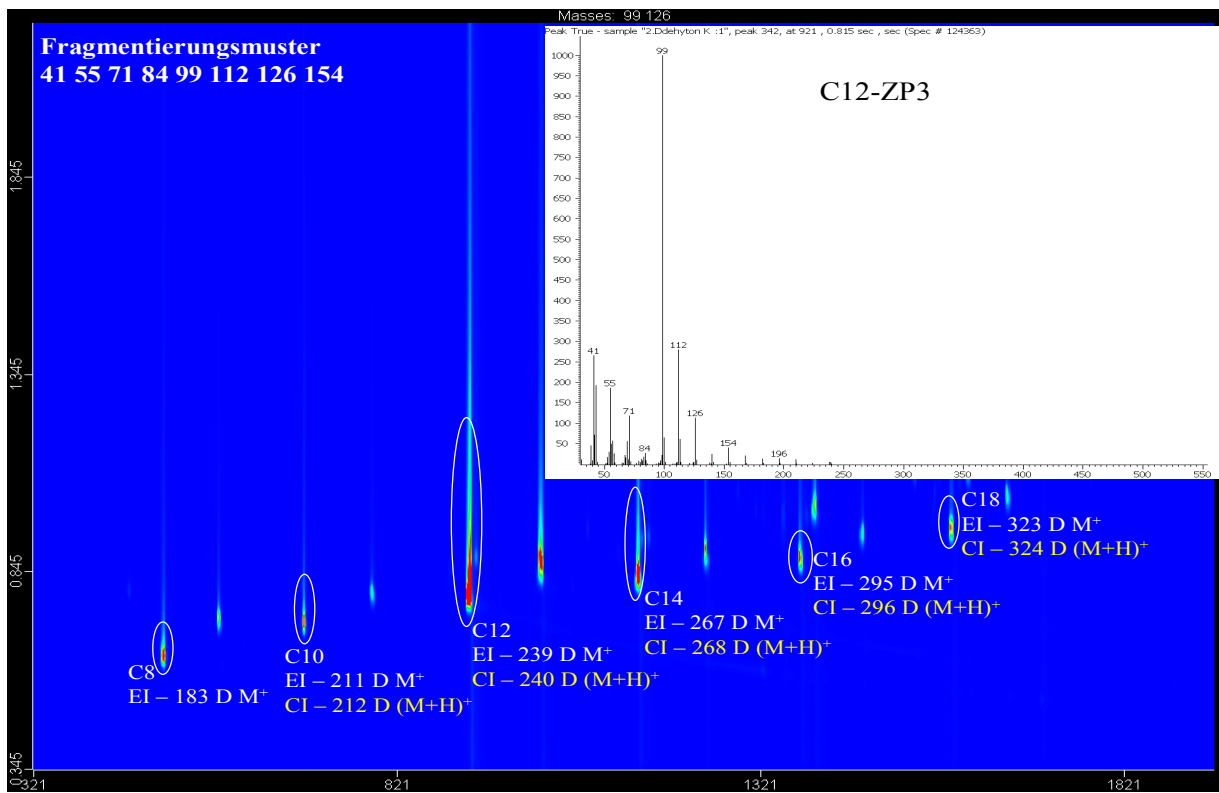
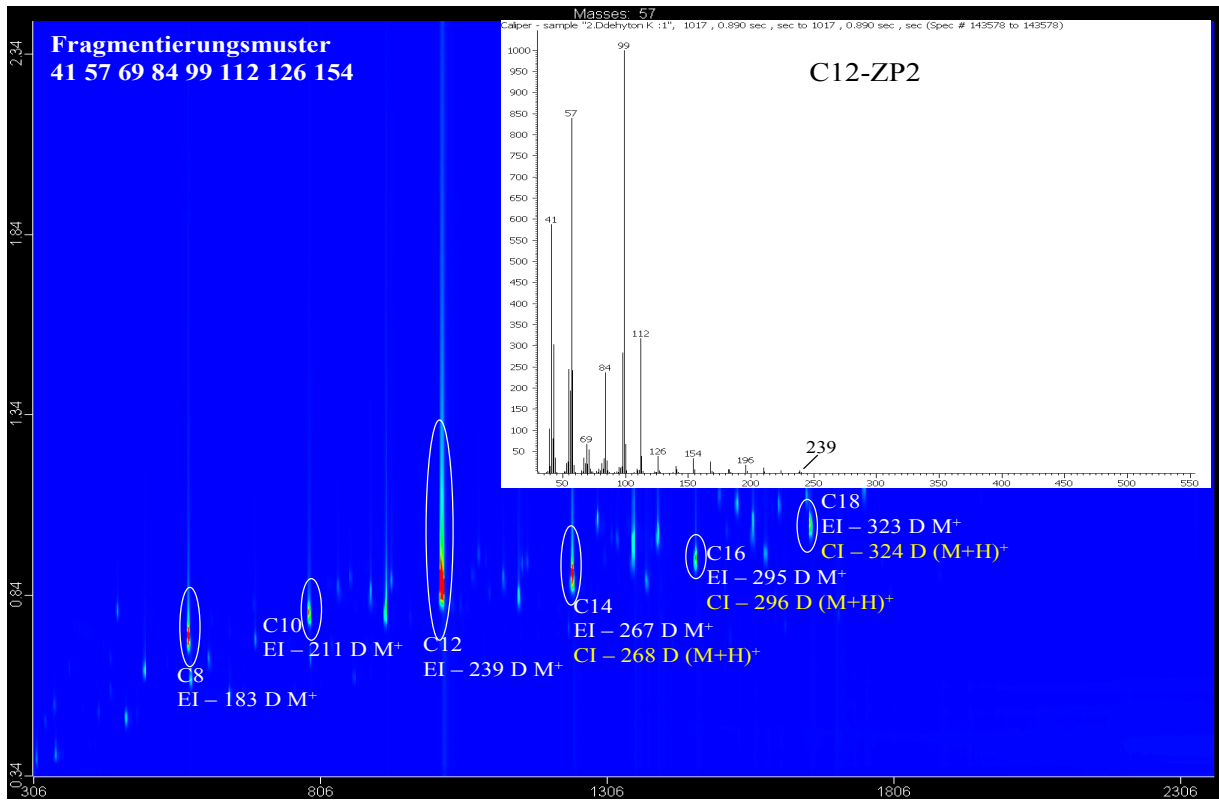


Abb. 61 (oben) und Abb. 62 (unten): GCxGC-TOFMS und GC-CI/MS-Analyse (gelbe Beschriftung) der Zersetzungsprodukte 2 und 3

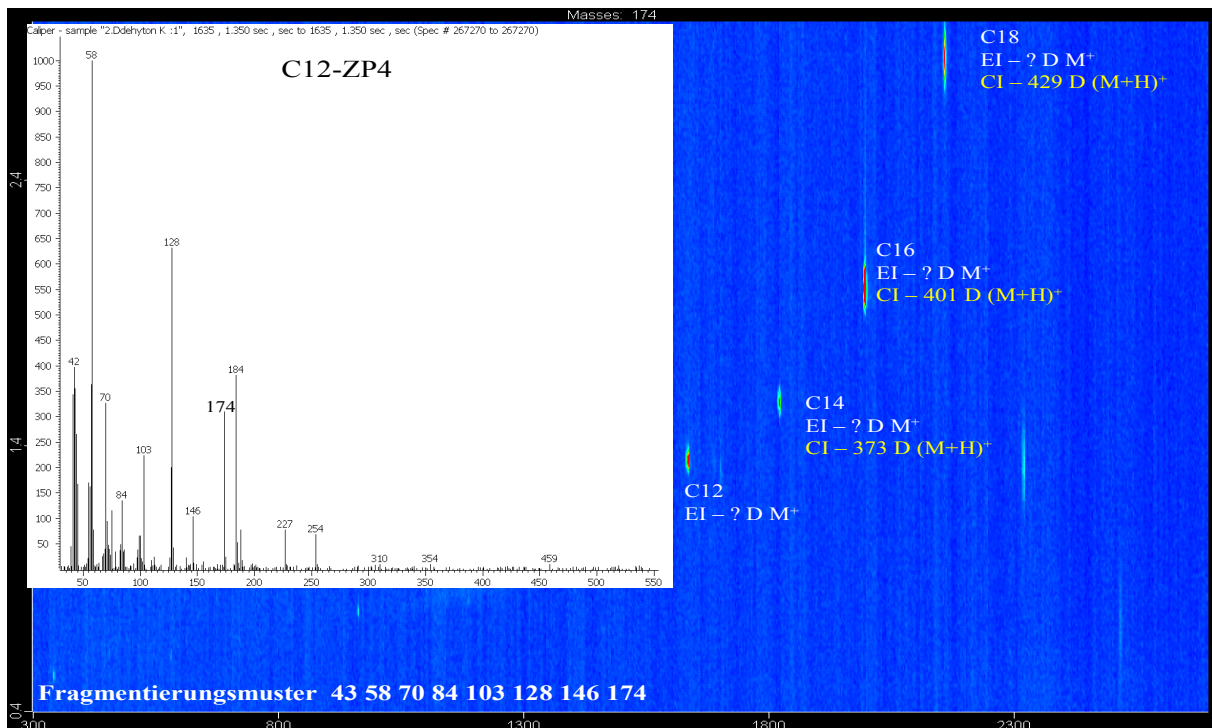
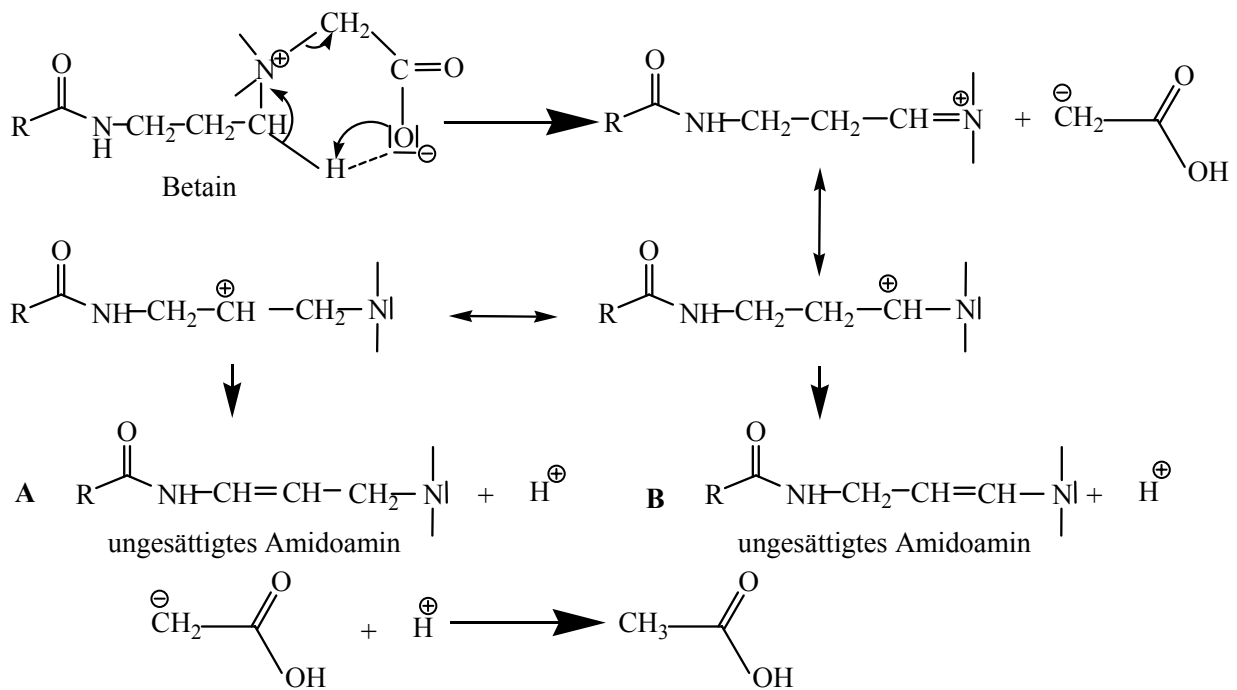


Abb. 63: GCxGC-(TOF)MS und GC-CI/MS-Analyse (gelbe Beschriftung) der Zersetzungsprodukt 4

Das folgende Reaktionsschema zeigt, wie ZP1 durch thermische Zersetzung entstehen kann:





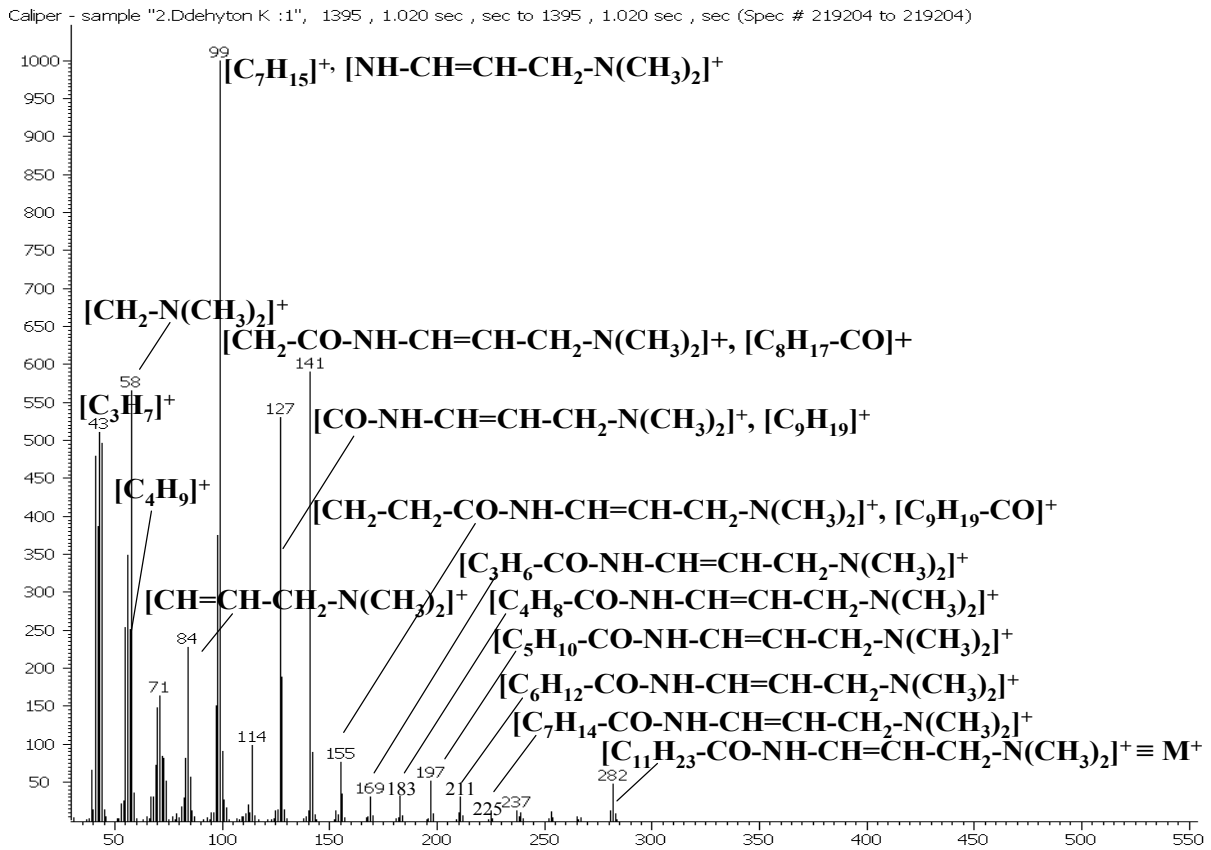
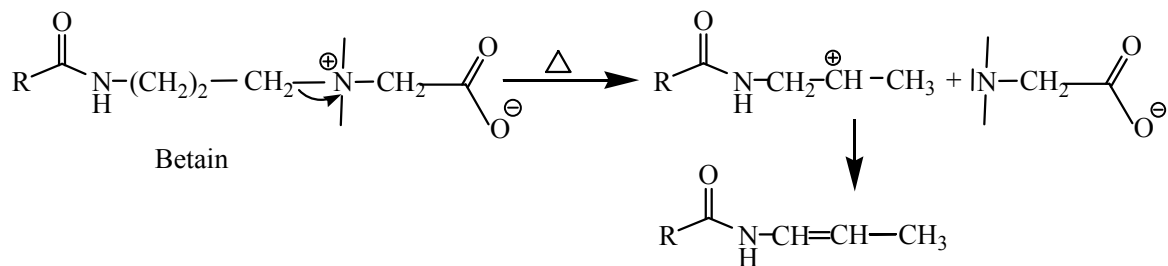
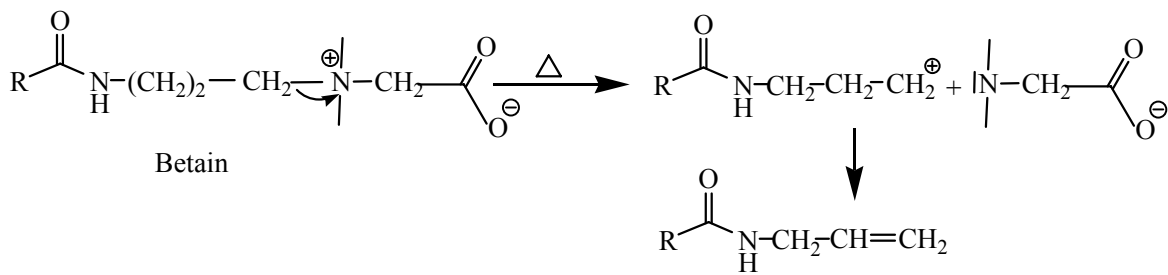


Abb. 64: EI-Massenspektrum des C12-ZP1

Aus der Abbildung 64 wird ersichtlich, dass es sich beim C12-ZP1 um ein ungesättigtes Amidoamin handelt. Da bei diesem Zersetzungsprodukt die Fragmentionen  $m/z$  99, 141 und 127 auftreten, kommt ein ungesättigtes Amidoamin in Betracht. Sollten diese Fragmente aus der Alkylkette stammen, wäre eine geringere Intensität zu erwarten. Bei den gesättigten Amidoaminen besitzt das Fragment  $m/z$  58 die größte Intensität, dagegen sind die Fragmente  $m/z$  99, 141 und 127 vernachlässigbar klein. Anhand der Massenspektren kann für das Produkt ZP1 die Struktur A vorgeschlagen werden. Die theoretisch mögliche isomere Struktur B ist weniger wahrscheinlich.

Zur Bildung der Produkte ZP2 und ZP3 kann nachfolgender Reaktionsweg vorgeschlagen werden.



Die Zersetzungsprodukte sind Amide des Allylamin bzw. 1-Propenylamin und bilden eine homologe Reihe mit verschiedenen Alkancarbonsäuren. ZP2 und ZP3 besitzen annähernd gleiche Polarität und Dampfdruck. Die Massenspektren der beiden Gruppen sind ebenfalls sehr ähnlich, was bei Isomeren nicht verwunderlich ist. Das Molekülion wie auch Schlüsselfragmente sind identisch. Unterschiede ergeben sich lediglich in der Intensität der Fragmente  $m/z$  57 und  $m/z$  41. Aufgrund fehlender Strukturinformationen ist die Zuordnung der Gruppen zu den Allylamiden oder Propylenamiden nicht möglich. Die EI-Massenspektren von C12-ZP2 und C12-ZP3 (Abb. 65, 66) stellen Vorschläge zur Zusammensetzung und Struktur der gefundenen Molekül- und Fragmentionen dar.

Die Ergebnisse der GC-CI/MS-Messungen haben die Anwesenheit von Amidoaminen, ungesättigten Amidoaminen (ZP1), Estern als Isomere der Betaine, Dodecansäuremethylestern, ZP2, ZP3 und ZP4 bestätigt. Die ungesättigten Amidoamine (ZP1) wurden aufgrund der niedrigen Konzentrationen (ca. 5 %) bei der Analyse mittels GC-CI/MS und GC-EI/MS nicht gefunden, da die Empfindlichkeit geringer ist als bei der zweidimensionalen GC.

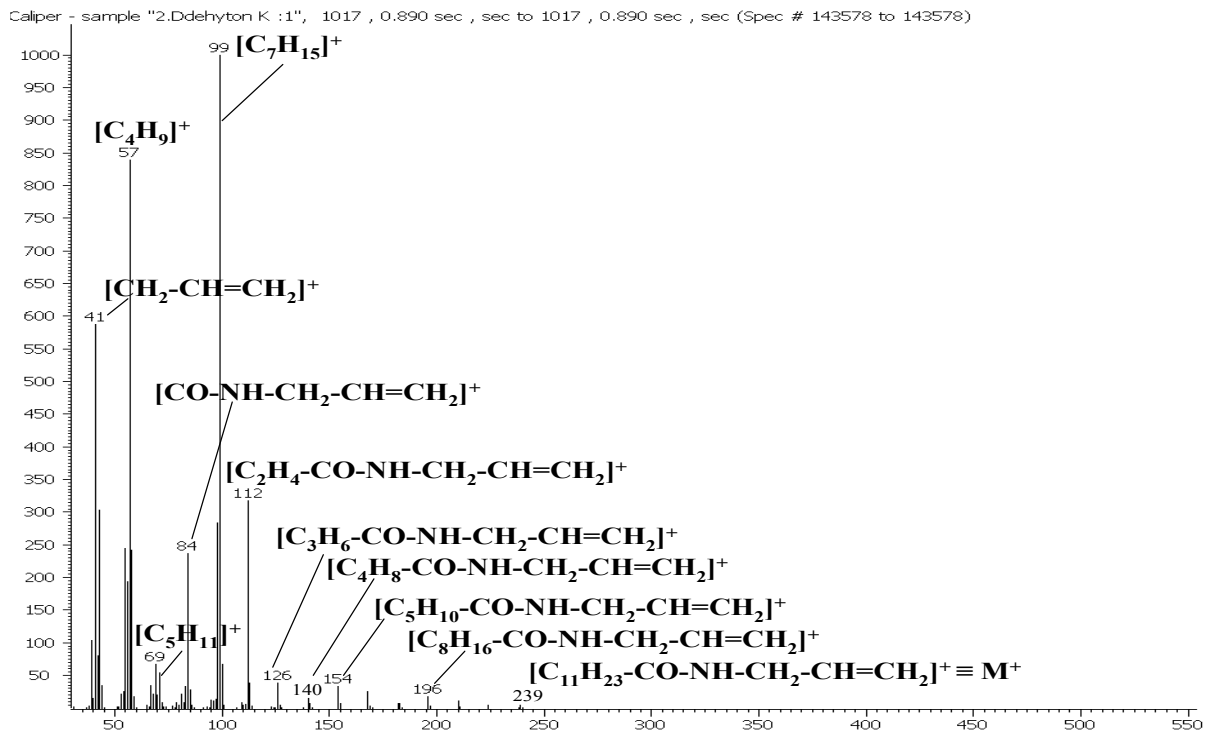


Abb. 65: EI-Massenspektrum des C12-ZP2

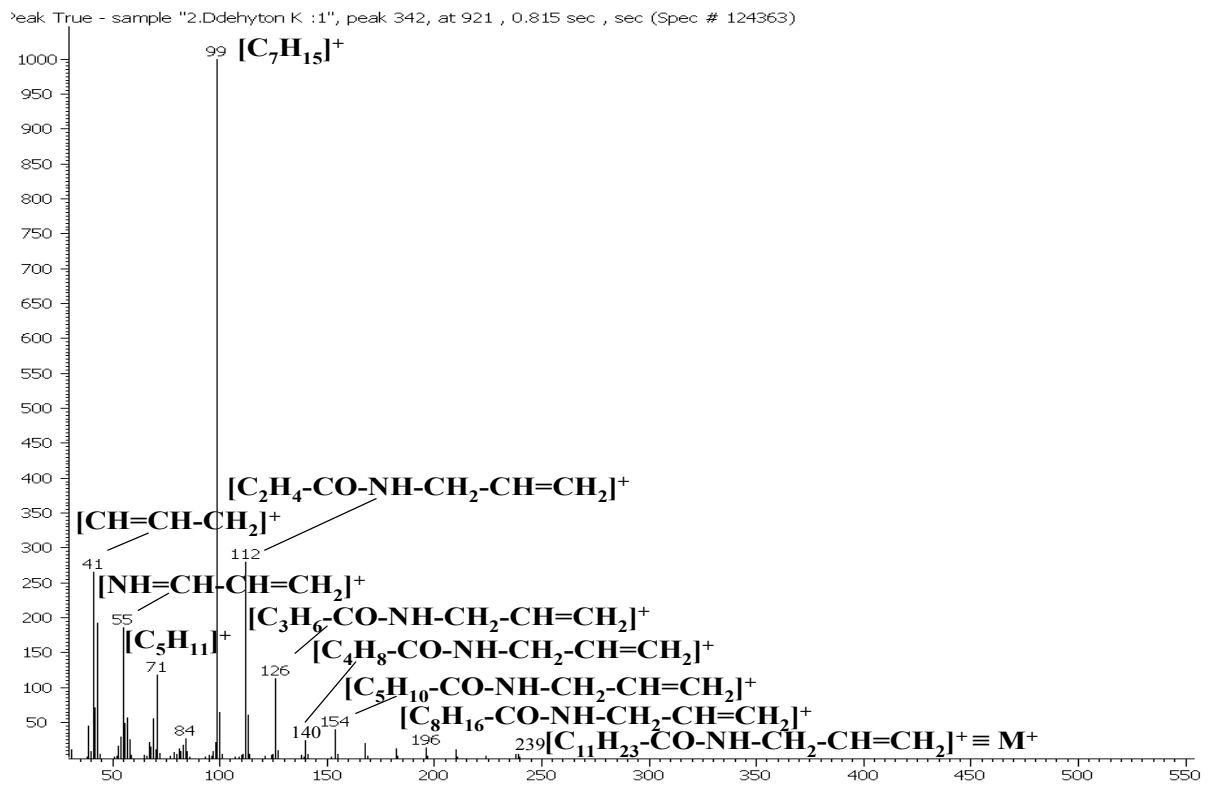


Abb. 66: EI-Massenspektrum des C12-ZP3

### 3.2.3.3 Analyse des silylierten Dehyton PK-Standards

Da bei der Untersuchung von Realproben (z.B. Shampoo, Flüssigseife) eine Probenvorbereitung im Form der Hydrolyse und/oder Silylierung erforderlich ist, wurden auch die Standards vom Dehyton K und Dehyton PK dieser Behandlung unterworfen und anschließend mittels GCxGC-(TOF)MS und GC-CI/MS analysiert. Alle mittels GCxGC-(TOF)MS erhaltenen Ergebnisse konnten durch die GC-CI/MS-Analyse bestätigt werden. Aufgrund der höheren Empfindlichkeit der GCxGC-(TOF)MS konnten über die auch mittels GC-CI/MS identifizierten Amidoamine hinaus, Fettsäuretrimethylsilylester, Fettsäureamide und weitere Zersetzungsprodukte der Betaine nachgewiesen werden.

In den Chromatogrammen des silylierten Dehyton PK-Standards sind hauptsächlich vier Gruppen von Verbindungen zu erkennen:

- Amide
- Amidoamine
- Fettsäuretrimethylsilylester
- Eine Reihe von Zersetzungsprodukten der Betaine (ZP3) mit dem Fragmentierungsmuster  $m/z$  41, 55, 71, 84, 99, 112, 126, 154.

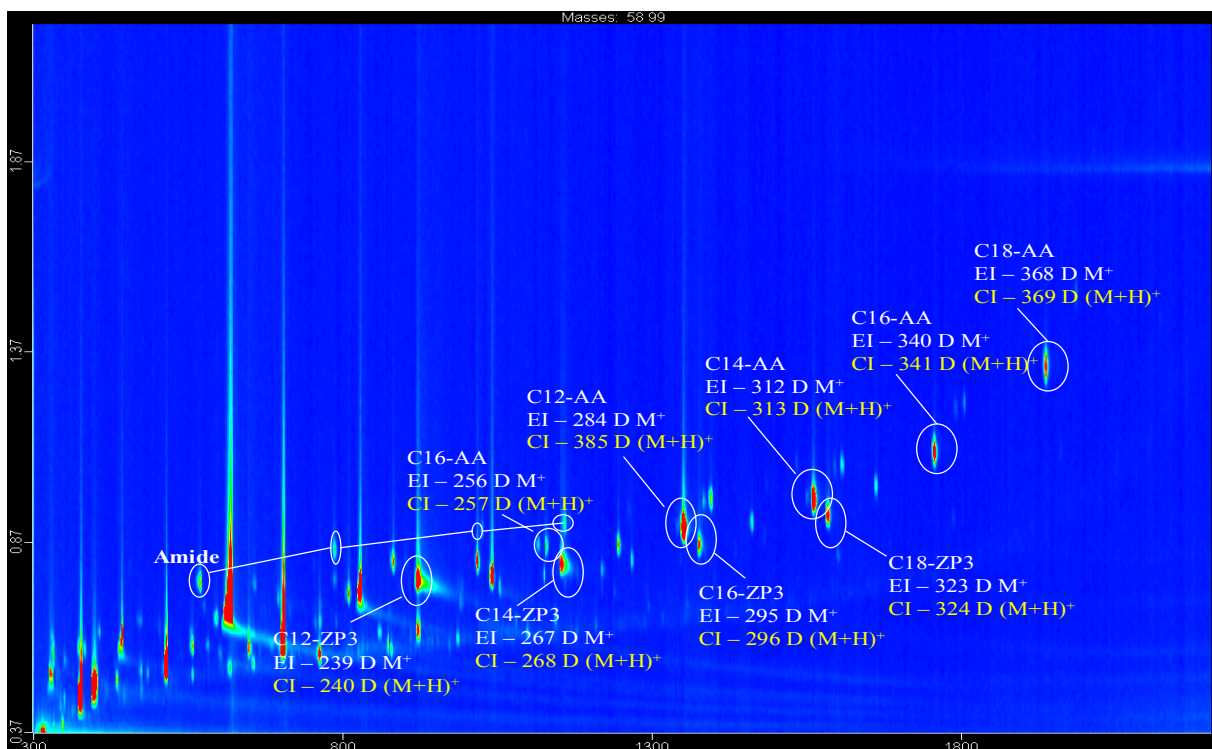


Abb. 67: Zweidimensionale Darstellung einer GCxGC-(TOF)MS-Analyse des Dehyton-PK Standards nach Silylierung (Amide, Amidoamine, ZP3)

Die Ergebnisse aus der GC-Cl/MS zeigen Amidoamine, die Reihe der Zersetzungsprodukte (ZP3) und Fettsäuretrimethylsilylester als Hauptkomponenten. Dazu kommen sehr kleine Anteile der Zersetzungsprodukte (ZP1) und (ZP2) (vermutlich nur die C12- und C14-Homologen). Die Zersetzungsprodukte (ZP4) wie auch Ester als Isomere des Betains sind in der silylierten Dehyton PK-Probe nicht zu sehen, da bei der Silylierung die Probe stark verdünnt wird. Es liegen auch silylierte Verbindungen, in sehr kleinen Konzentrationen vor, so dass diese nicht sicher identifiziert werden konnten. Diese Verbindungen bilden keine homologen Reihen. Insgesamt bestätigen diese Ergebnisse die Untersuchungen der GCxGC-(TOF)MS.

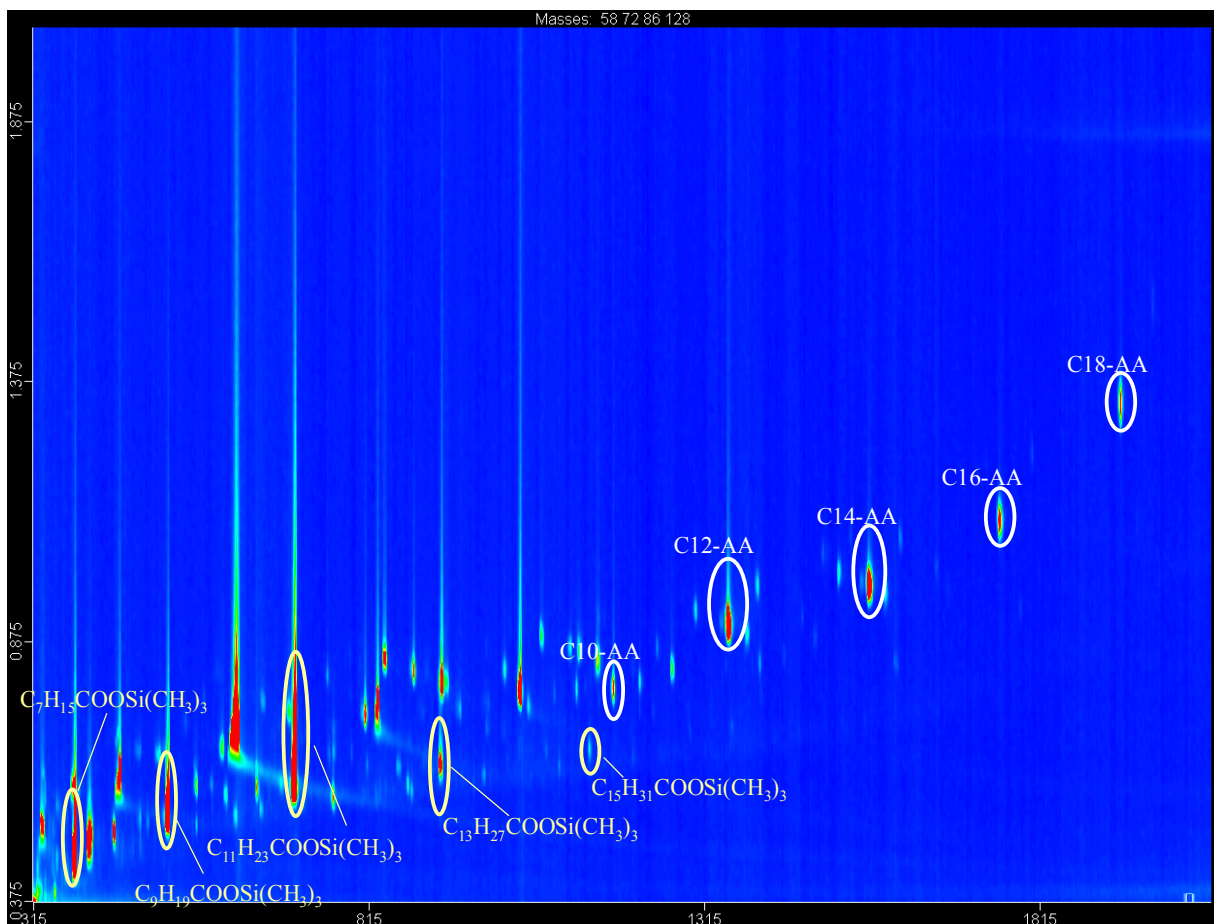


Abb. 68: Der Amidoamine und Fettsäuretrimethylsilylester in dem Dehyton PK-Standard nach Silylierung

Aus dem gezeigten Chromatogramm (Abb. 68) wird das Vorhandensein von Carbonsäuren und Amidoaminen mit Alkylketten von Octyl bis Octadecyl deutlich. Eine solche Verteilung der Kettenlänge mit den Hauptkomponenten Laurin- (ca. 50 %) und Myristinsäure (ca. 19 %) zeigt, dass die untersuchten Standards aus natürlichem Kokosöl oder Palmkernöl hergestellt wurden.

### 3.2.3.4 Identifizierung und Quantifizierung der Betaine über die gebildeten Amidoamine

Vorstehende Untersuchungen haben gezeigt, dass sich ein bei einer Injektionstemperatur von 320 – 340 °C ein konstantes Verhältnis zwischen Esterform des Betains und dem zugehörigen Amidoamin einstellt. Da die Amidoamine einen deutlich höheren Anteil (ca. 50 %) im Chromatogramm haben als die bei dieser Temperatur gebildete Esterform des Betains (ca. 10 % der Gesamtintensität), wurden die Amidoamine zur Quantifizierung des Betaingehaltes einer Probe verwendet. Ein weiterer Grund für die Quantifizierung der Betaine über die Amidoamine ist, dass in Realproben Umwandlungsprodukte der Betaine nur in geringem Ausmaß in Erscheinung treten. Zur Quantifizierung der Betaine wurde daher unter Verwendung von Amidoamin-Standards die nachfolgend beschriebene Methode eingesetzt:

1. Erstellung einer Kalibriergeraden für alle Amidoamin-Standards (C8-, C11-, C12-, C14-, C15-, C16- und C18-AA) im Konzentrationsbereich 0,0002-0,002 g/ml (siehe Anhang Abb. 6.2)
2. Bestimmung der Konzentrationen der Amidoamine in Dehyton PK-Standard anhand der Kalibriergeraden.
3. Die Konzentration des C10-Amidoamins in der Probe wurde über die Kalibriergerade für C11-AA ermittelt (Der Standard Amidoamin C10-AA ist nicht vorhanden). Es wurde auch die Konzentration des C10-Amidoamins über die Kalibriergerade des C12-Amidoamins berechnet. Dabei waren die ermittelten Werte identisch.
4. Das Verhältnis der Peakflächen (A) des aus dem Betain gebildeten Methylesters und des Amidoamins gleicher Kettenlänge wurde bestimmt und der Mittelwert für alle Kettenlängen berechnet (Faktor F):

$$F = \sum [A_{(\text{Esterform des Betains})} / A_{(\text{Amidoamin})}] / \text{Anzahl der Homologen}$$

5. Konzentration (c) der Betain wurde wie folgt berechnet:

$$c_{(\text{Betain})} = c_{(\text{Amidoamin aus der Kalibriergerade})} / F$$

Die folgende Tabelle (Tab. 18) zeigt eine Übersicht der im Dehyton PK-Standard enthaltenen Betaine. Die Einwaage betrug 0,0266 g bei 50 % aktiver Substanz.

<b>Betaine</b>	<b>c<sub>(AA)</sub> [g/ml] ermittelt aus der Kalibriergerade</b>	<b>F = A<sub>(Ester form des Betains)</sub> /A<sub>(AA)</sub></b>	<b>c<sub>(B)</sub> [g/ml] in Dehyton PK</b>	<b>Betaine in Dehyton PK [Gew.%]</b>
C8-Betain	0,00023	0,12	0,0019	14 %
C10-Betain	0,00014	0,12	0,0011	8 %
C12-Betain	0,0007	0,12	0,0058	44 %
C14-Betain	0,00028	0,12	0,0023	17 %
C16-Betain	0,00017	0,12	0,0014	11 %
C18-Betain	0,00021	0,12	0,0017	13 %
			$\Sigma = 0,0135$	$\Sigma = 106 \%$

Tab. 18: Betaingehalt im Dehyton PK-Standard

Auffällig bei der Quantifizierung ist, dass die Summe aller Betaine 106 % beträgt. Dieser etwas zu hohe Wert könnte durch mehrere Faktoren hervorgerufen worden sein. Möglicherweise betrug die für die Berechnung zugrunde liegende Menge an aktiver Substanz nicht exakt 50 % der Gesamtmasse der untersuchten Probe. Darüber hinaus könnten Rundungsfehler sowie das Fehlen eines internen Standards zu diesem Wert von 106 % beigetragen haben.

Um die Reproduzierbarkeit und Anwendbarkeit der beschriebenen Methode und insbesondere des Faktors F über einen weiten Konzentrationsbereich zu überprüfen, wurde die Quantifizierung der einzelnen Betaine im Dehyton PK-Standard bei drei verschiedenen Konzentrationen durchgeführt. Es wurde in allen Fällen konzentrationsunabhängig die gleiche Verteilung der Kettenlängen ermittelt (10 % C8-Betain, 6 % C10-Betain, 39 % C12-Betain, 14 % C14-Betain, 8 % C16-Betain 10 % C18-Betain).

Eine ähnliche Verteilung der Alkylkette wurde für Dehyton K mittels GC-EI/MS und GC-CI/MS gefunden.

### 3.2.3.5 Identifizierung der Betaine in Realproben

Betaine werden in verschiedenen Produkten wie etwa Geschirrspülmitteln und Körperreinigungsmitteln verwendet. Als Beispiel solcher Produkte wurde die kommerziell erhältliche „Palmolive-Aromatherapie Duschgel“ (Colgate-Palmolive) untersucht. Die Analyse ergab eine Betain-Konzentration von ca. 5 %. Als Hauptkomponente wurde das C12-Betain bestimmt (Abb. 69).

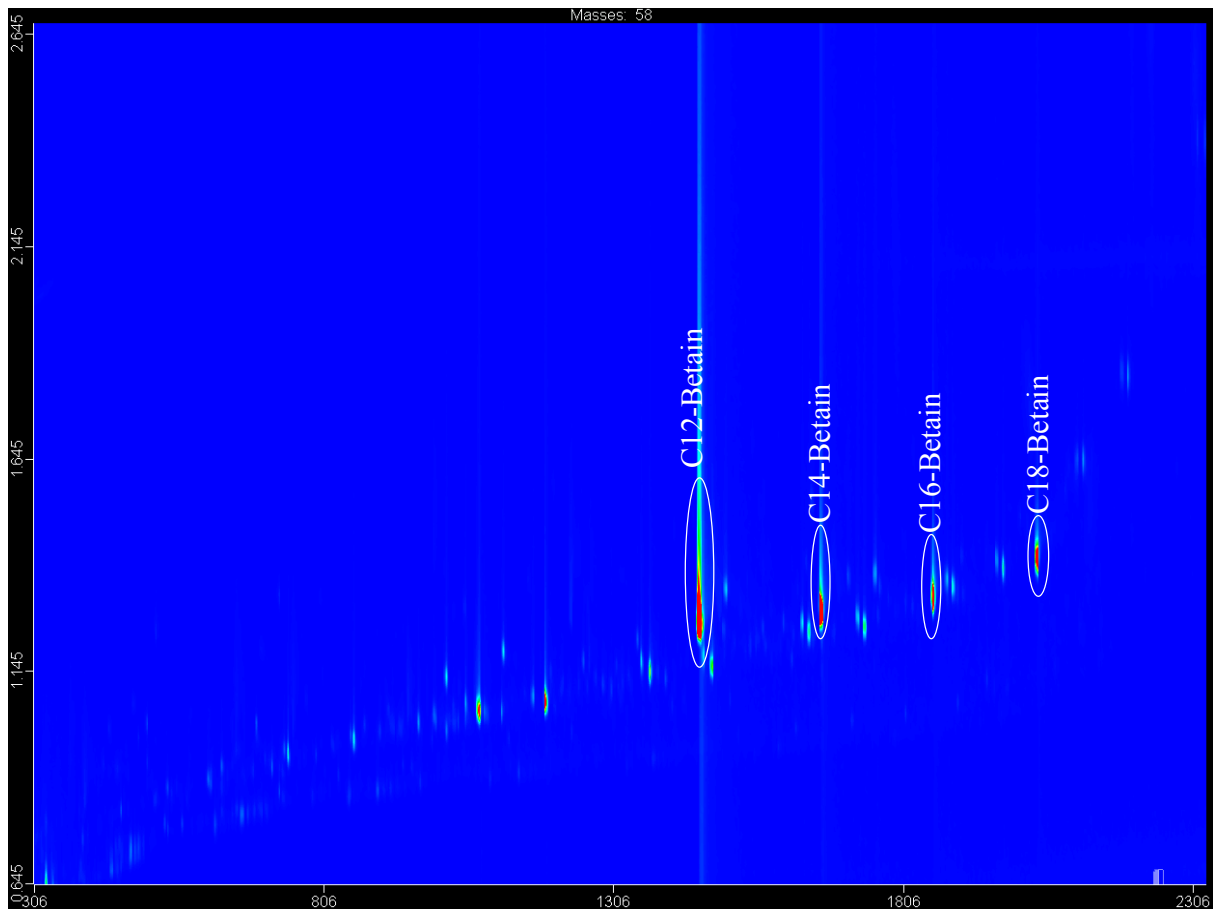


Abb. 69: GCxGC-(TOF)MS-Analyse der Palmolive-Aromatherapie Duschgel (Colgate-Palmolive) nach Silylierung

Für die untersuchte Probe wurde eine Kettenlängenverteilung von 18 % C12-Betain, 6 % C14-Betain, 3 % C16-Betain und 4 % C18-Betain gefunden.

### 3.2.4 Untersuchung von Alkylpolyglucosiden

Zunächst wurde eine Mischung von APG-Standards mit BSTFA/MSTFA silyliert und anschließend analysiert. Abbildung 70 zeigt die Trennung der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Alkyl-D-monoglucopyranoside mit einer n-Alkylkette von C8 bis C16. Das  $\alpha$ -Anomere erscheint im Chromatogramm jeweils vor dem  $\beta$ -Anomeren. Daraus ergibt sich ein Muster von Substanzpaaren mit annähernd gleichem zeitlichen Abstand. Die unmittelbar nach dem  $\beta$ -Anomeren mit geringerer Intensität auftretenden Substanzpaare sind nach den EI-Spektren nicht vollständig silyliert. Das im Fenster oben rechts gezeigte EI-Massenspektrum des vollständig silylierten Decyl-  $\beta$ - D-monoglucopyranosid enthält nicht das Molekölion



( $m/z = 608$  Da).

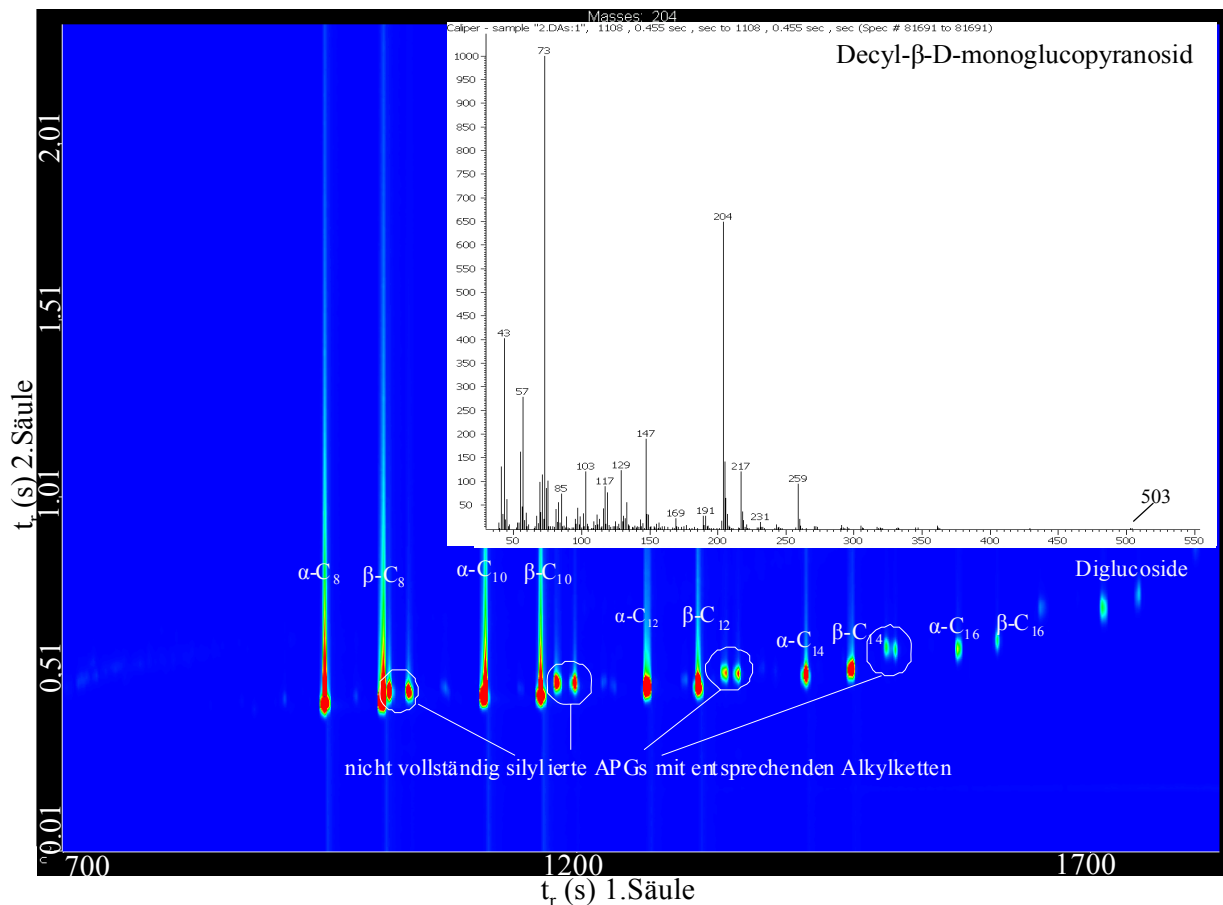


Abb. 70: 2D-Gaschromatogramm einer Mischung von APG-Standards ( $\beta$ -C-8 bis  $\alpha$ - und  $\beta$ -C16); EI-Spektrum von Decyl- $\beta$ -D-monoglucopyranosid (oben rechts) nach Silylierung

Bei der Untersuchung von Alkylpolyglucosiden erfolgte die Zuordnung in Realproben durch die Retentionszeiten in der ersten und zweiten Säule sowie durch die zugehörigen Massenspektren. Bei der untersuchten Probe (Abb. 71) handelte es sich um eine Creme-Seife mit dem Namen „Palmolive“. Zur Analyse wurde die Probe mit BSTFA/MSTFA silyliert und mit Toluol verdünnt. Sind neben den Pyranosiden auch Furanoside vorhanden (Abb. 71), so werden diese ebenfalls getrennt und erscheinen im Chromatogramm bei kürzeren Retentionszeiten. Auch bei dieser Gruppe bilden sich Substanzpaare der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomeren, die anhand der EI-Massenspektren zugeordnet werden können. Die vorhandenen Diglucoside zeigen sich bei deutlich größeren Retentionszeiten.

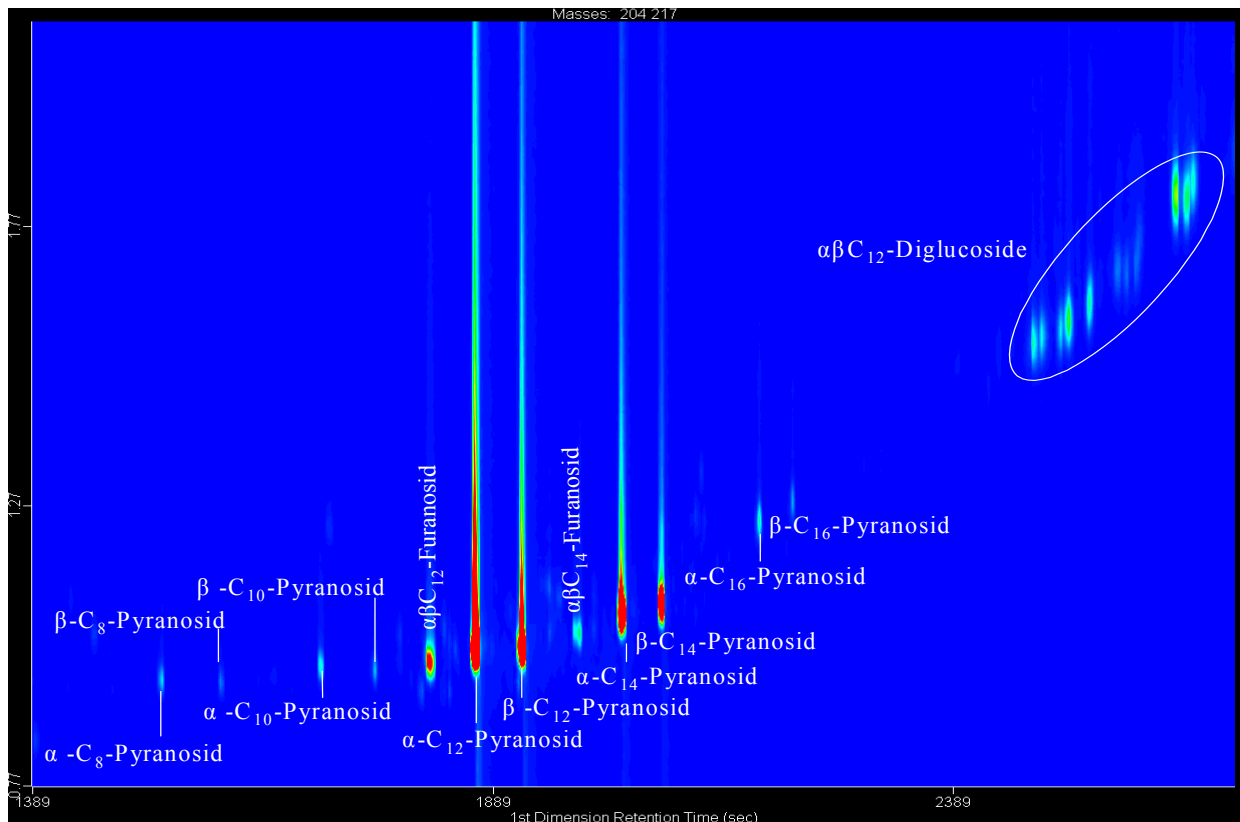


Abb. 71: 2D-Gaschromatogramm der APGs in „Palmolive Creme-Seife“ (Colgate-Palmolive) nach Silylierung

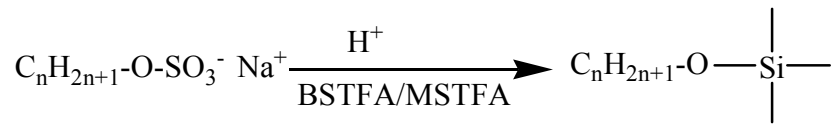
### 3.2.5 Untersuchung von Fettalkoholsulfaten und Fettalkoholethersulfaten

#### 3.2.5.1 Probenvorbereitung

Ca. 0,1 g der Fettalkoholsulfate (FAS) oder Fettalkoholethersulfate (FAES) wird mit 10 ml 1,2 molarer HCl versetzt und eine Stunde bei 100 °C hydrolysiert. Nach der Hydrolyse wird die Probe mit 5 ml Ethylacetat extrahiert und die Ethylacetat-Phase mit NaOH neutralisiert. Danach wird wässrige Phase erneut mit 5 ml Ethylacetat versetzt und extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 1 ml BSTFA/MSTFA (5:1) versetzt und bei 70 °C eine Stunde silyliert.

#### 3.2.5.2 Fettalkoholsulfate

Nachfolgendes Schema zeigt die Derivatisierungsreaktion für Fettalkoholsulfate:



Obwohl die Massenspektren der Alkylsulfate in der NIST-Library vorhanden sind, wurden mehrere Standards nach Hydrolyse und Silylierung analysiert, um die Retentionszeiten in der ersten und zweiten Säule zu bestimmen. Als Standards wurden die folgenden Substanzen analysiert:

1. Sulfofon 1218 G
2. Sulfofon 1216 G
3. Sulfofon 8515 G
4. Ethylhexylsulfat

Abbildung 72 zeigt die Analyse des Sulfofon 1218 G-Standards. Wie aus der zweidimensionalen Darstellung ersichtlich wird, steigt innerhalb der homologen Reihe der n-Alkyltrimethylsilylether die Retentionszeit auf der zweiten Säule leicht an.

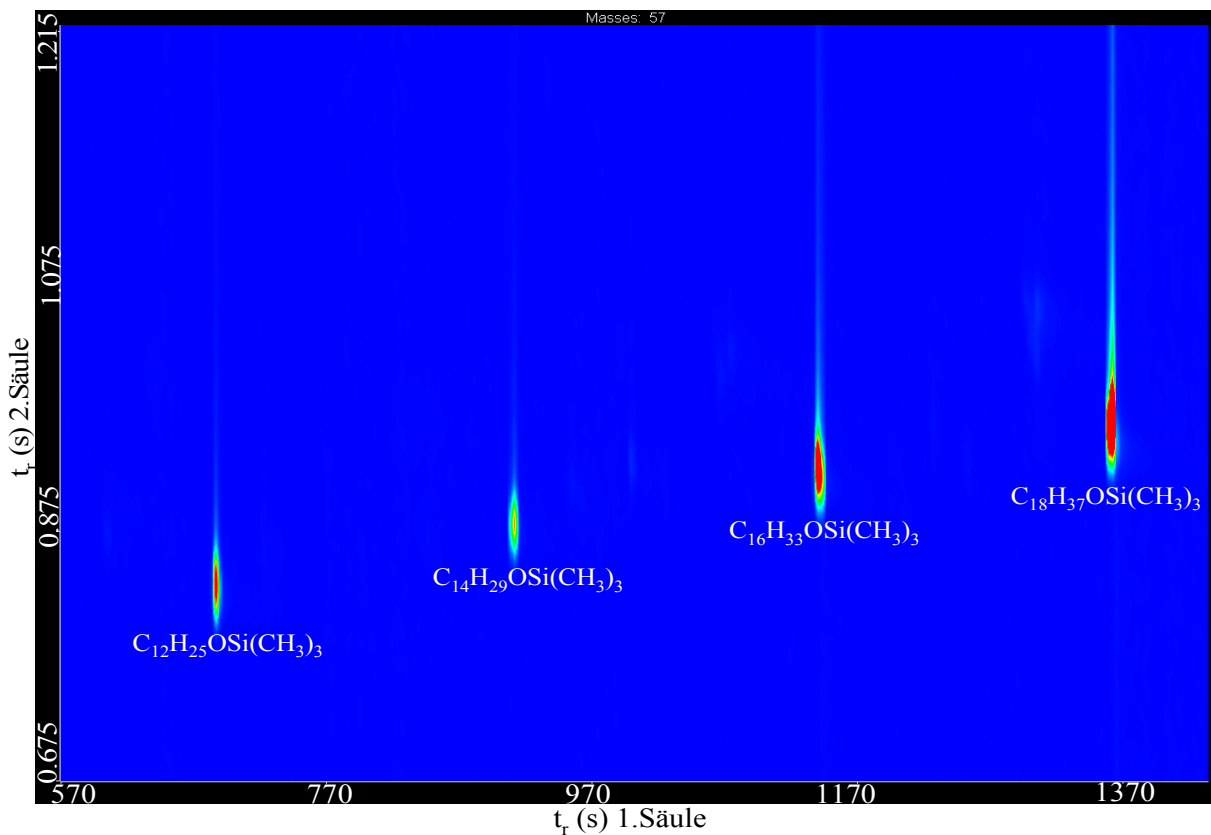


Abb. 72: 2D-Gaschromatogramm des Sulfofon 1218 G-Standards nach Hydrolyse und Silylierung

Die Spektren sind nahezu identisch, nur das Molekülion unterscheidet sich jeweils um 28 amu. Die Fettkoholsulfate werden nach Hydrolyse und Silylierung in der vorliegenden Arbeit Fettkoholsilane (FAsilane) genannt. Fettkoholsilane mit ungeradzahligem Alkylkette wie  $C_{13}H_{27}OSi(CH_3)_3$  wurden über die Retentionszeiten und durch Vergleich der EI-Spektren mit denen der NIST-Library identifiziert. In der Abbildung 73 sind die Spektren der aus Sulfofon 1218 G erhaltenen FAsilane dargestellt. In den Massenspektren von [Dodecyloxytrimethylsilan]  $C_{12}H_{25}OSi(CH_3)_3$ , [Tetradecyloxytrimethylsilan]  $C_{14}H_{29}OSi(CH_3)_3$ , [Hexadecyloxytrimethylsilan]  $C_{16}H_{33}OSi(CH_3)_3$  und [Octadecyloxytrimethylsilan]  $C_{18}H_{37}OSi(CH_3)_3$  sind die Molekülionen teilweise mit sehr kleinen Intensitäten zu beobachten. Stattdessen treten bei  $m/z = 243, 271, 299$  und  $327$  mit großer Intensität  $[M-15]^+$ -Ionen auf, die auf den Verlust einer Methylgruppe hinweisen.

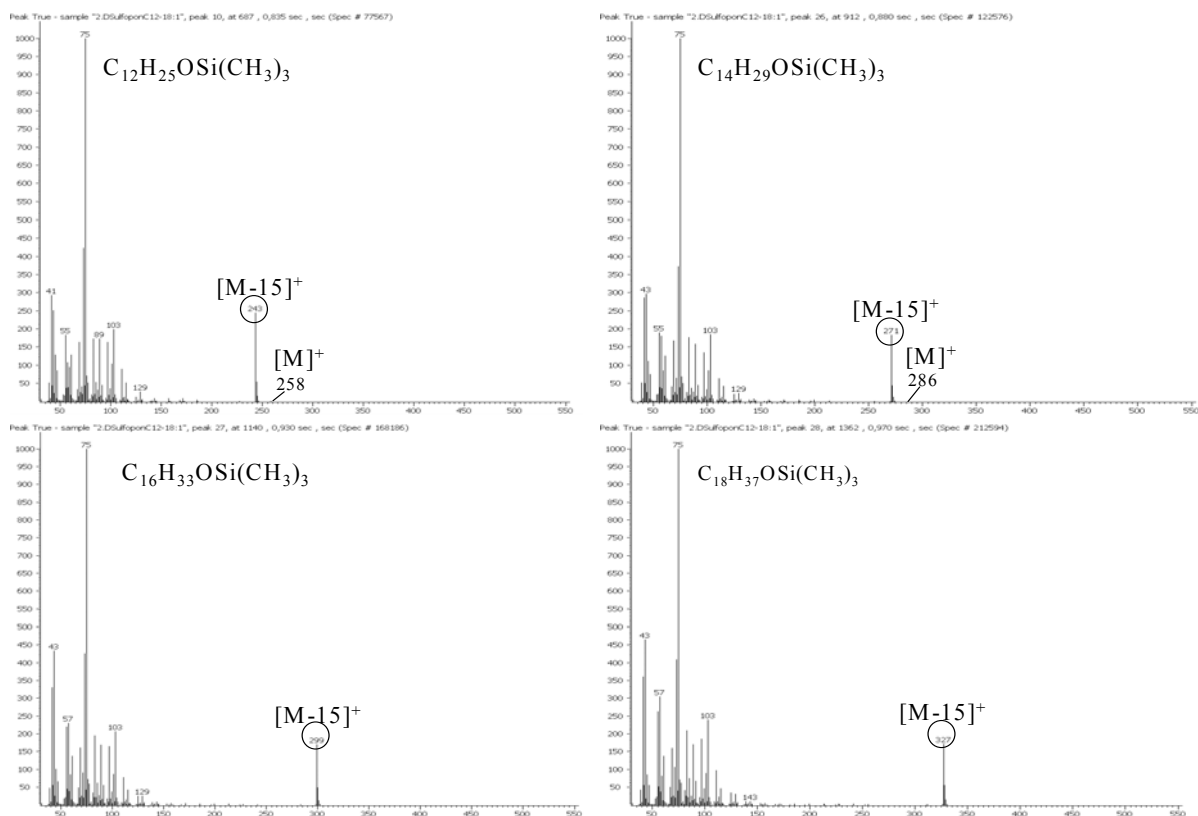


Abb. 73: EI-Massenspektren der Fettkoholsilane aus Sulfofon 1218 G

Die Fettkoholsulfate konnten auf diese Weise in Realproben (Reinigungsmittel, Shampoo) nach Hydrolyse und Silylierung identifiziert werden. Sind die FAS petrochemischer Herkunft, steigt die Masse der Molekülionen in der homologen Reihe der FAsilane um 14 amu, da auch

ungeradzahlige Kettenlängen vorkommen. Dagegen nimmt die Masse der Molekülonen in FAS natürlicher Herkunft um jeweils 28 amu in der homologen Reihe zu, da in natürlichen Fetten und Ölen nur Fettsäuren mit gerader Anzahl von C-Atomen auftreten. Ein kommerzieller Reiniger der Firma Amway, hier als „LOC-Reiniger“ bezeichnet, enthält nach Herstellerangaben 15-30 % anionische Tenside, weniger als 5 % nichtionische Tenside sowie andere Bestandteile. Nach Hydrolyse und Silylierung konnten die in Abbildung 74 gezeigten EI/MS-Spektren der Fettalkoholsilane erhalten werden. Beim Vergleich mit den Spektren der NIST-Library wurde eine 90 %ige Übereinstimmung gefunden. In allen Spektren war das Molekülon mit sehr kleiner Intensität zu beobachten. Durch Abspaltung einer Methylgruppe tritt mit großer Intensität das Fragmentation  $[M-15]^+$  bei  $m/z = 243$  für  $C_{12}H_{25}OSi(CH_3)_3$ ,  $m/z = 257$  für  $C_{13}H_{27}OSi(CH_3)_3$ ,  $m/z = 271$  für  $C_{14}H_{29}OSi(CH_3)_3$  und  $m/z = 285$  für  $C_{15}H_{31}OSi(CH_3)_3$  auf.

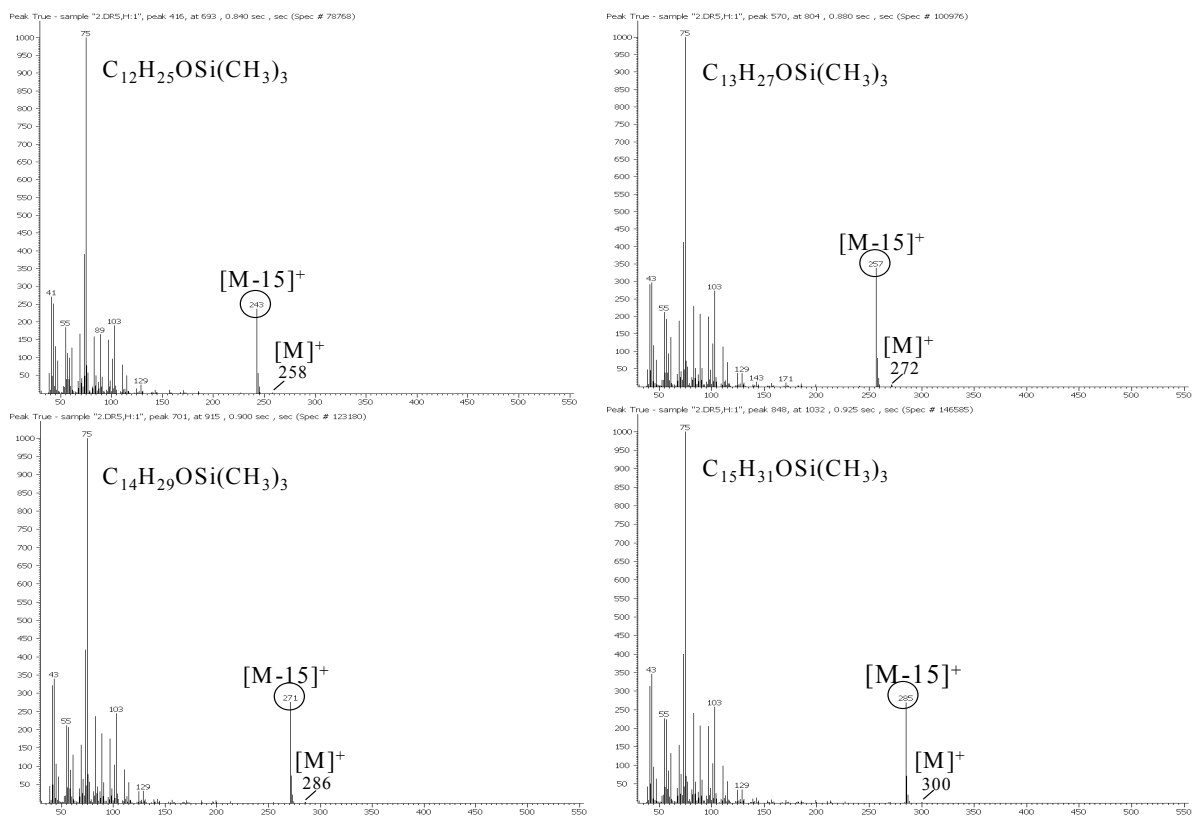


Abb. 74: EI-MS-Spektren der Fettalkoholsilane nach Hydrolyse und Silylierung des LOC Reinigers

Im 2D-Gaschromatogramm lassen sich die Fettalkoholsilane als Komponenten einer homologen Reihe durch den annähernd gleichen zeitlichen Abstand in der ersten Dimension (unpolare Säule: VF-5MS, Fa. Varian) erkennen. Aufgrund der geringen Polaritätsunterschiede sind die

Retentionszeiten auf der zweiten Säule (mittelpolare Säule: BPX50, Fa. SGE) in etwa gleich. Das in Abbildung 75 dargestellte 2D-Gaschromatogramm des LOC-Reinigers weist eine Besonderheit auf. Neben den Fettalkoholsilanen und Fettsäuretrimethylsilylestern (untere Spur) sind die nicht silylierten Fettalkohole und Fettsäuren (obere Spur) zu sehen. Das bedeutet, dass die LOC-Reiniger-Probe nach der Hydrolyse nicht mit der ausreichenden Menge an Silylierungsreagenz behandelt wurde. Für eine quantitative Umsetzung sind pro mg Probe 0,04 ml BSTFA/MSTFA erforderlich. Im Bereich der Fettalkoholsilane sind mehrere kleine Spots vorhanden. Ein Teil dieser Spots wurde mit Hilfe der NIST-Library als Isomere der n-Alkyloxytrimethylsilane identifiziert. So treten beispielsweise neben dem n-Dodecyloxytrimethylsilan [ $C_{12}H_{25}OSi(CH_3)_3$ ] die Isomeren 2-Ethyl-decyloxytrimethylsilan und 2-Butyloctyloxytrimethylsilan auf. Die EI/MS-Spektren dieser Verbindungen zeigen ebenfalls das Moleküllion mit sehr kleiner Intensität. Durch Abspaltung einer Methylgruppe tritt mit größer Intensität das Fragmention  $[M-15]^+$  bei  $m/z = 243$  auf, das aber charakteristisch für Fettalkoholsilane der Zusammensetzung  $C_{12}H_{25}OSi(CH_3)_3$  ist. Da im Chromatogramm Fettalkoholsilane sowohl mit geradzahligen als auch mit ungeradzahligen Alkylgruppen nachgewiesen wurden, kann gefolgert werden, dass die Fettalkoholsulfate des LOC-Reinigers petrochemischer Herkunft sind.

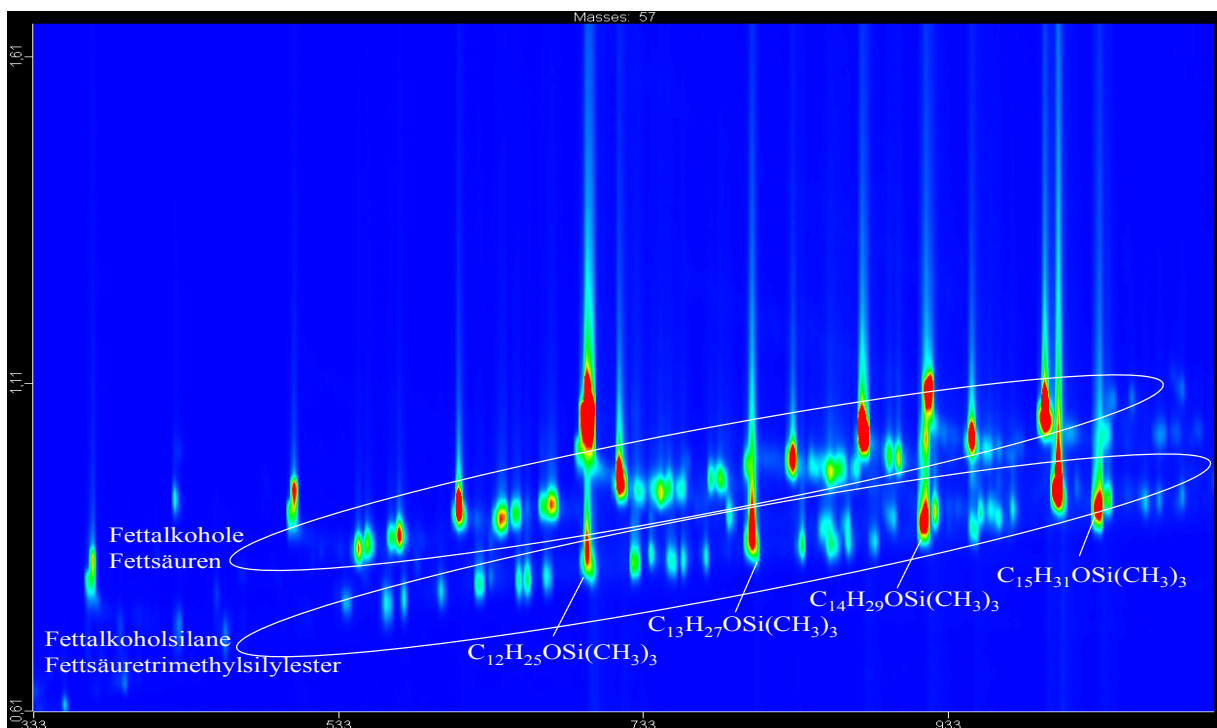


Abb. 75: 2D-Gaschromatogramm des LOC-Reinigers nach Hydrolyse und Umsetzung mit unterschüssigen Silylierungsreagenz

Zum Vergleich ist in Abbildung 76 das 2D-Gaschromatogramm von AS-Duschgel nach

Hydrolyse und vollständiger Silylierung dargestellt. Da die nachgewiesenen Fettalkoholsilane überwiegend n-Alkylgruppen mit gerader C-Zahl besitzen, sind vermutlich die Fettalkoholsulfate im Duschgel pflanzlicher Herkunft.

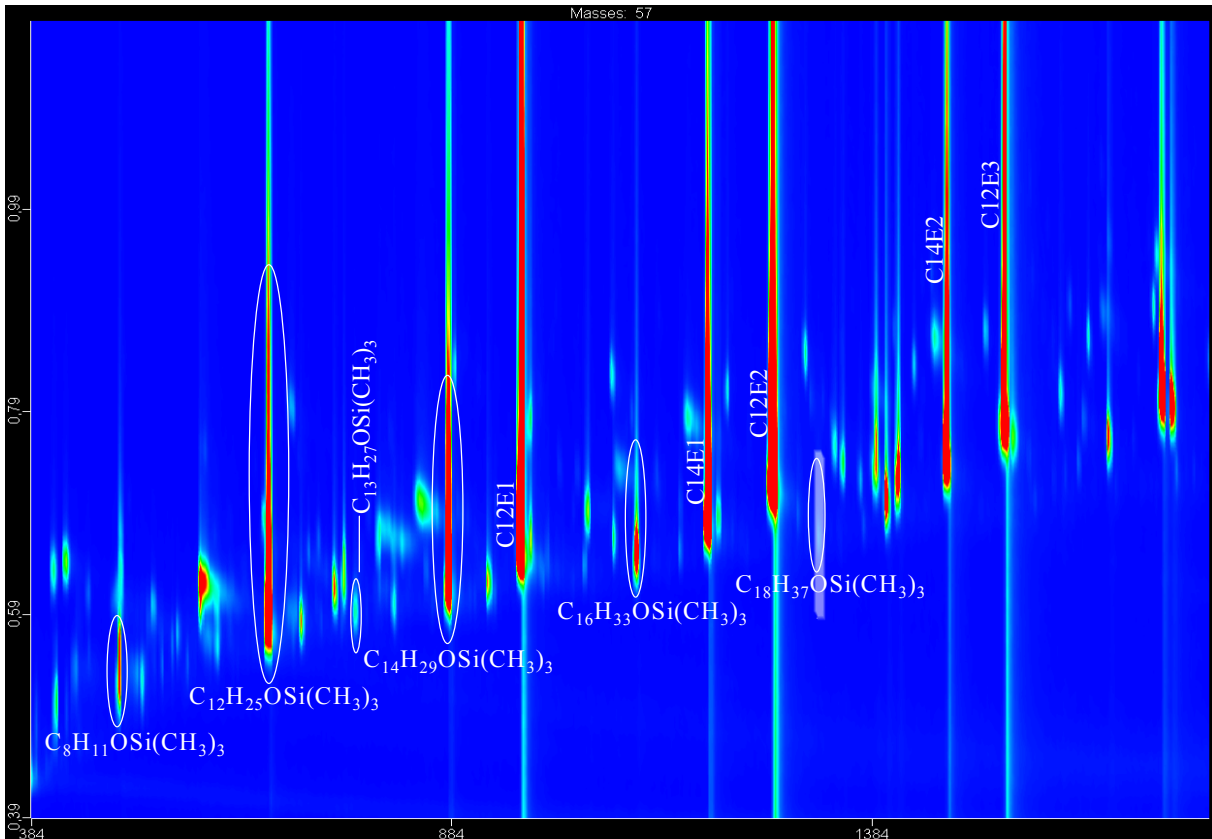
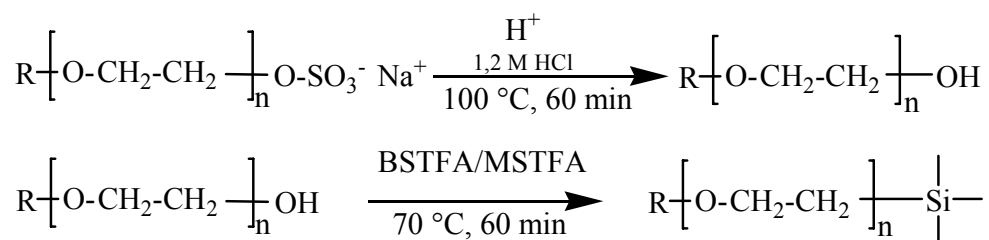


Abb. 76: 2D-Gaschromatogramm von AS-Duschgel nach Hydrolyse und Silylierung

### 3.2.5.3 Fettalkoholethersulfate

Die Untersuchung der Fettalkoholethersulfate (FAES) erfolgte am Beispiel von Texapon N 70 [Natrium-Laurylmyristylethersulfat]. Der Ethoxylierungsgrad betrug im Mittel zwei (2EO), der Anteil der aktiven Substanz (AS) lag bei 70 %. Das nachfolgende Reaktionsschema zeigt die Hydrolyse und Silylierung:



Anhand der dargestellten Reaktionen ist zu ersehen, dass aus Fettalkoholethersulfaten nach Hydrolyse und Silylierung Fettalkoholethoxylate (FAEO) mit endständiger Trimethylsilyl-Gruppe gebildet werden. Abbildung 77 zeigt das 2D-Gaschromatogramm des Texapon N 70 nach der Behandlung der Probe. Die Hauptkomponenten sind silylierte Diethylen glykolmonododecyl-ether (C12E2) und Diethylen glykolmonotetradecylether (C14E2).

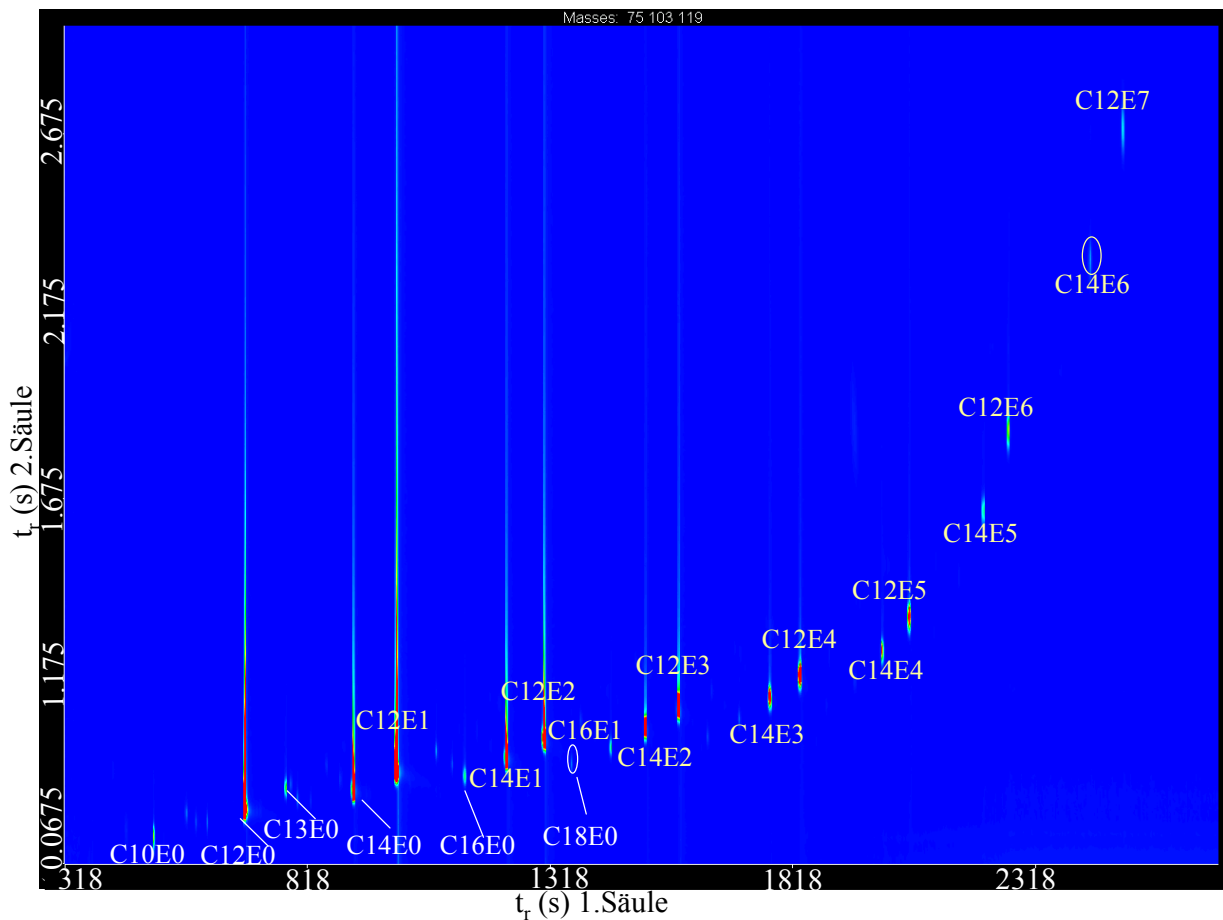


Abb. 77: 2D-Gaschromatogramm des Texapon N 70 nach Hydrolyse und Silylierung

Die GCxGC-EI/MS-Analyse in Verbindung mit der oben beschriebenen Probenvorbereitung erwies sich auch bei den FAES als leistungsstarke Methode zur Identifizierung der Einzelsubstanzen. Wie am Beispiel eines technischen Produktes (Texapon N 70) und eines kommerziellen Reinigers (LOC-Reiniger, Abbildung 78) gezeigt werden konnte, liefern die EI/MS-Spektren Aufschluß über die Länge der Alkylkette und den Ethoxylierungsgrad.



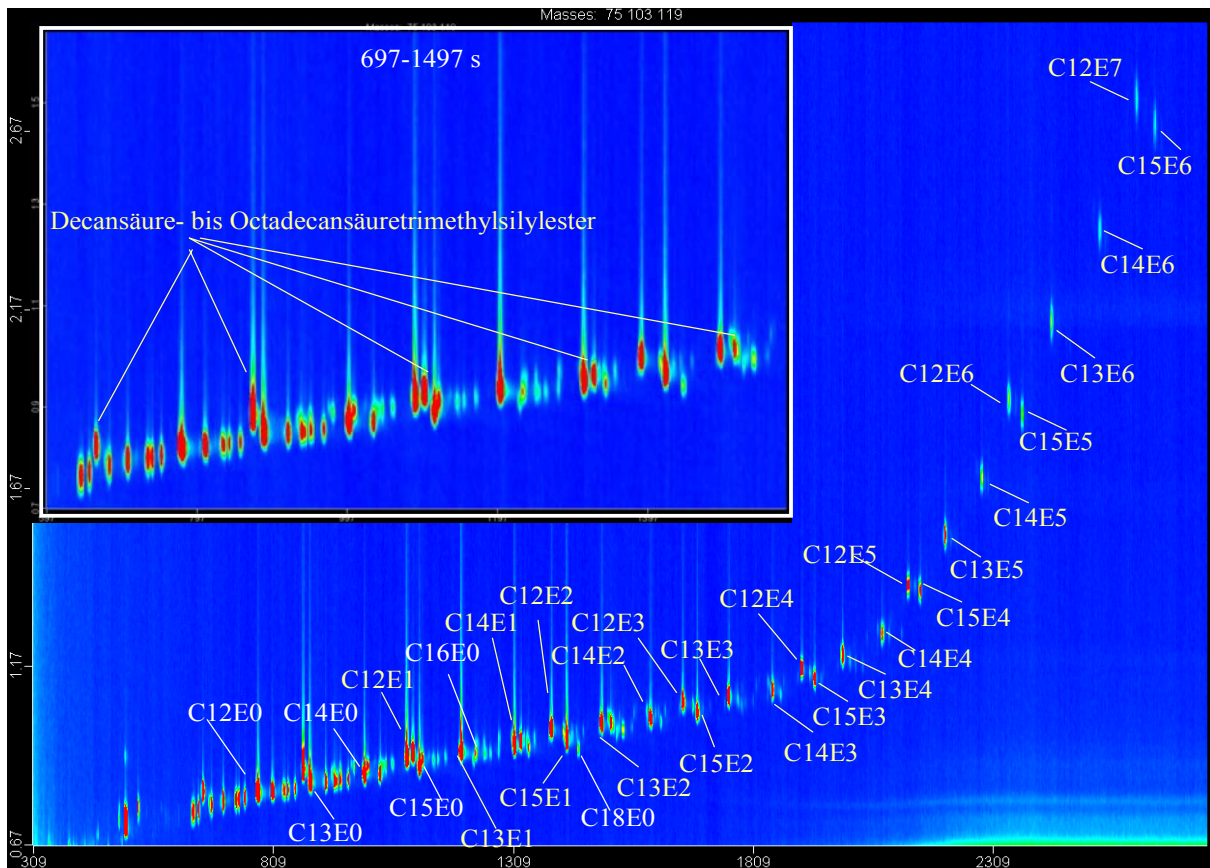


Abb. 78: 2D-Gaschromatogramm des LOC-Reinigers nach Hydrolyse und vollständiger Silylierung  
(Reagenzüberschuß)

Das in Abbildung 79 dargestellte 2D-Gaschromatogramm des LOC-Reinigers weist eine Besonderheit auf. Das gezeigte Chromatogramm wurde bei der Untersuchung des Reinigungsmittels „LOC“ erhalten. Durch unterschlüssiges Silylierungsreagenz sind nach der Hydrolyse sowohl die silylierten als auch die nicht silylierten FAEOs vorhanden (siehe auch Seite 98). Mittels GCxGC-(TOF)MS können die silylierten Ethoxylate (schwarze Pfeile) neben den nicht silylierten Ethoxylate (weiße Pfeile) bestimmt werden, da sie unterschiedliche Polaritäten besitzen. Eine Peaküberlappung ist nicht zu beobachten.

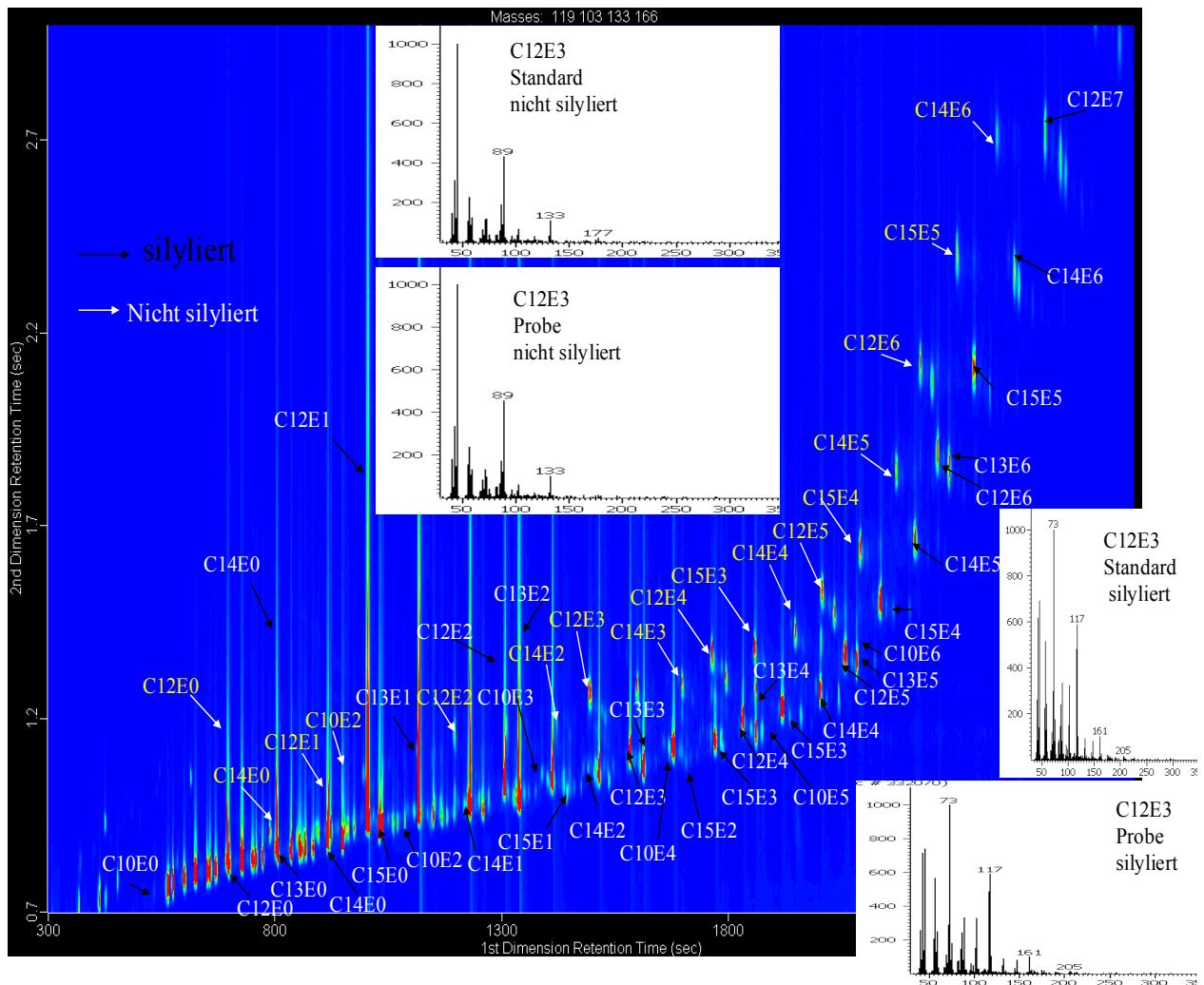


Abb. 79: Darstellung silylierter und nicht silylierter FAEOs mit zugehörigen Massenspektren

In Abbildung 80 sind die EI-Massenspektren der silylierten FAEOs von C12E2 bis C15E2 dargestellt. In allen Spektren fehlt das Moleküllion, dagegen ist mit sehr kleiner Intensität das jeweilige  $[M-15]^+$ -Ion zu sehen, das durch Abspaltung einer Methylgruppe gebildet wird. Das Fragmentmuster im Massenbereich bis  $m/z = 150$  ist nahezu gleich.

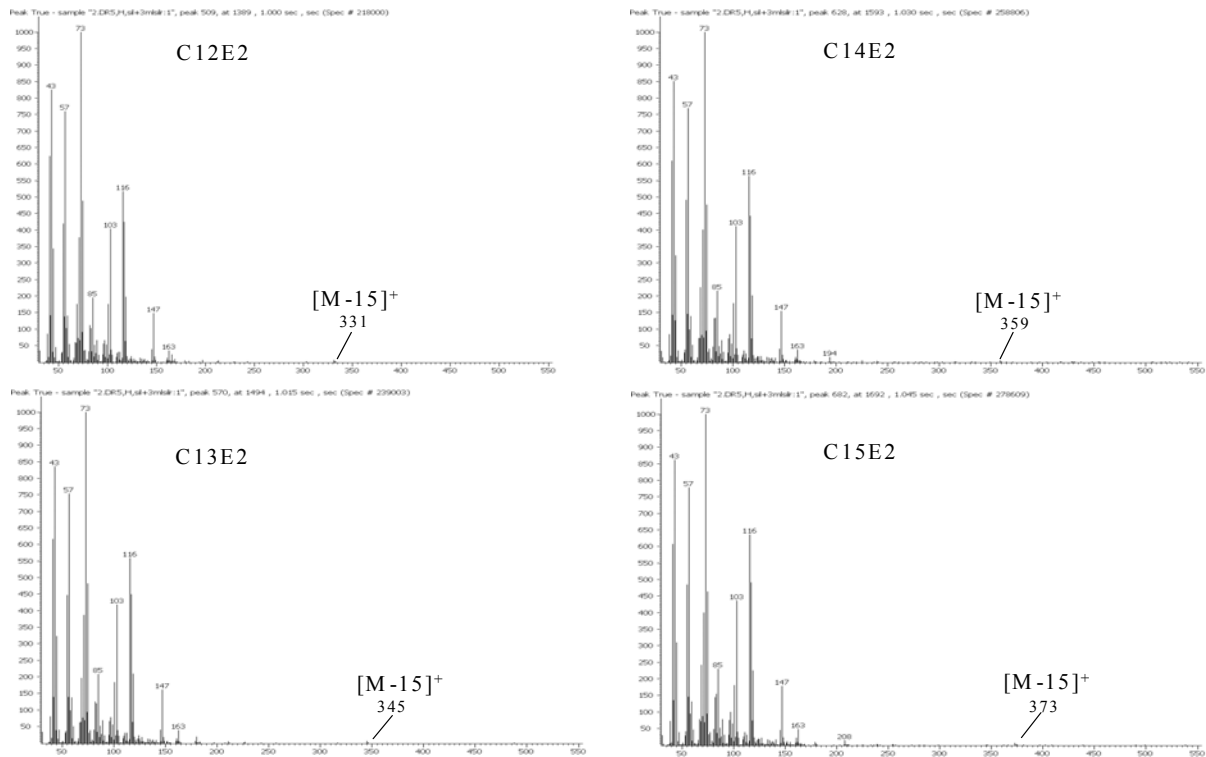


Abb. 80: EI-Massenspektren der silylierten FAEOs (C12E2 bis C15E2)

Die FAES werden durch Veresterung mit Schwefelsäure (Sulfatisierung) aus den FAEOs hergestellt. Da das Reaktionsgleichgewicht nicht vollständig auf der Produktseite liegt, sind kleine FAEO-Mengen in technischen FAES-Gemischen und käuflichen Produkten vorhanden. Zur Unterscheidung dieser Anteile werden die Proben vor und nach der Hydrolyse silyliert. Die anschließende GC-Analyse ergibt zum einen die in der Probe vorliegenden FAEOs (ohne Hydrolyse), zum anderen die Summe der in der Probe vorliegenden und durch Hydrolyse gebildeten FAEOs. Bei der Herstellung technischer FAEO-Gemische wird ein mittlerer Ethoxylierungsgrad eingestellt. Das bedeutet, dass die vorhandenen Einzelsubstanzen sowohl einen größeren als auch einen kleineren Ethoxylierungsgrad haben. In Abbildung 78 ergibt sich durch Anstieg der Kettenlänge von C12 bis C15 und des Ethoxylierungsgrades von E0 bis E7 eine Reihe von silylierten FAEOs. Unter den gewählten GC-Bedingungen (Temperaturprogramm bis 320 °C; maximal mögliche Säulentemperatur 360 °C) wird die Grenze der GC-Gängigkeit dieser Substanzen bei C15E6 bzw. C12E7 erreicht. Allerdings liegt der überwiegende Teil der im LOC-Reiniger vorhandenen FAES bzw. der daraus gebildeten silylierten FAEOs innerhalb dieser Grenze. Die starke Zunahme der Retentionszeiten mit ansteigendem Ethoxylierungsgrad macht sich vor allem auf der zweiten Säule durch den damit verbundenen

Polaritätsanstieg bemerkbar. Bei kleinen bis mittleren Retentionszeiten sind zusätzlich Alkansäuretrimethylsilylester von C10 bis C18 zu finden (Abbildung 78, Bild oben links). Vermutlich liegen die korrespondierenden Alkansäuren als Nebenbestandteile in den zur Tensidsynthese eingesetzten Fettalkoholen vor.

### 3.2.6 Analyse eines Duschgels

Eine hohe Verträglichkeit, gutes Schaumvermögen, ein angenehmer, erfrischender Duft und die gleichzeitige Pflege der Haut sind besondere Kriterien dieser Produktklasse. Die Viskosität erlaubt einerseits eine gute Verteilbarkeit des Produktes mit schnellem Anschäumen und ist andererseits hoch genug, um eine einwandfreie Anwendung zu ermöglichen. Die Leistung von Duschbädern kann z.B. über bildanalytische Untersuchungen („Pflege“) und Evaporimeter-/Corneometer-Messungen des Wasserhaushaltes der Haut („Moisturizing“) oder im breit angelegten Praxisgebrauchstest (Schaum, Hautgefühl, Milde, Duft etc.) bestimmt werden. Die für Duschbäder typische Zusammensetzung ist im folgenden Rezepturbeispiel dargestellt [108].

Inhaltsstoffe	Massengehalt [%]
C12 bis 14-Fettalkohol-2EO-sulfat	8.0
C12 bis 14-Fettalkoholsulfosuccinat	4.0
Kokosamidbetain	2.0
Kokosfettsäuremonoglycerid-7EO	3.0
Glycerinmonolaurat	2.0
Eiweißhydrolysat	1.0
Ethylenglykoldistearat	1.0
Parfümöl	1.0
Konservierungsstoffe	q.s.
pH-Korrigens	q.s.
sonstige Zusätze, Wasser	Ad.100.00

Tab. 19: Zusammensetzung eines Duschgels (q. s. = quantum satis [so viel, wie notwendig]), (Ad = bis zu)

Ein Duschgel hat eine sehr komplexe Matrix und enthält verschiedene Tensidklassen. Am Beispiel des Duschgels „AS Duschgel“ wurden die auf der Verpackung ausgewiesenen

Inhaltsstoffe (Tab. 20) mittels GCxGC-(TOF)MS analysiert.

Inhaltstoffe	Wirkung
Aqua	
Sodium laureth sulfate (Natriumlaurylethersulfate)	Anionisches Tensid
Sodium chloride	Viskositätsregler
Cocamidopropyl betaine	Amphoterer Tensid
Glyceryl oleate	Emulgator
Coco-glucoside (APGs)	Nichtionisches Tensid
Glycol distearate	Emulgator, Trübungsmittel, Viskositätsregler
Sodium lauroyl glutamate	Tenside, Antistatika, Kämmbarkheitshilfe
Mel (Honig)	Feuchtigkeitsspender, Lösungsmittel
Glycerin	Feuchtigkeitsspender, Lösungsmittel
Starch hydroxypropyltrimonium chloride	Antistatika, Filmformer, Viskositätsregler
Niacinamide	Zusatzstoffe
Sine adepie lac (Fettfreie Milch)	Antistatika, Kämmbarkheitshilfe
Glyceryl stearate	Emulgator
Citric acid (Citronensäure)	pH-Wert-Regler, Chelatbildner
Benzoic acid (Benzoessäure)	Konservierungsstoff
Parfüm	Duftstoff
Benzyl alcohol	Konservierungsstoff, Lösungsmittel
Phenoxyethanol	Konservierungsstoff
Potassium sorbate	Konservierungsstoff
CI 13015, CI 15510, CI 16035	Kosmetische Farbstoffe

Tab. 20: Inhaltsstoffe des „AS Duschgel Milch & Honig“ nach Herstellerangabe

### Probenvorbereitung

Beim ausgewählten „AS Duschgel“ wurden alle Tenside identifiziert, dies ist ausführlich in den Kapiteln 3.2.2 bis 3.2.5 diskutiert worden. Um alle Komponenten zu erfassen, erfolgt die Probenvorbereitung nach zwei verschiedenen Methoden. Zur Bestimmung der nichtionischen Tenside wurde das Duschgel eingewogen, silyliert, verdünnt und analysiert. Um die anionischen

Tenside zu erfassen, wurde die Probe zunächst hydrolysiert und anschließend silyliert (siehe 5.2.3).

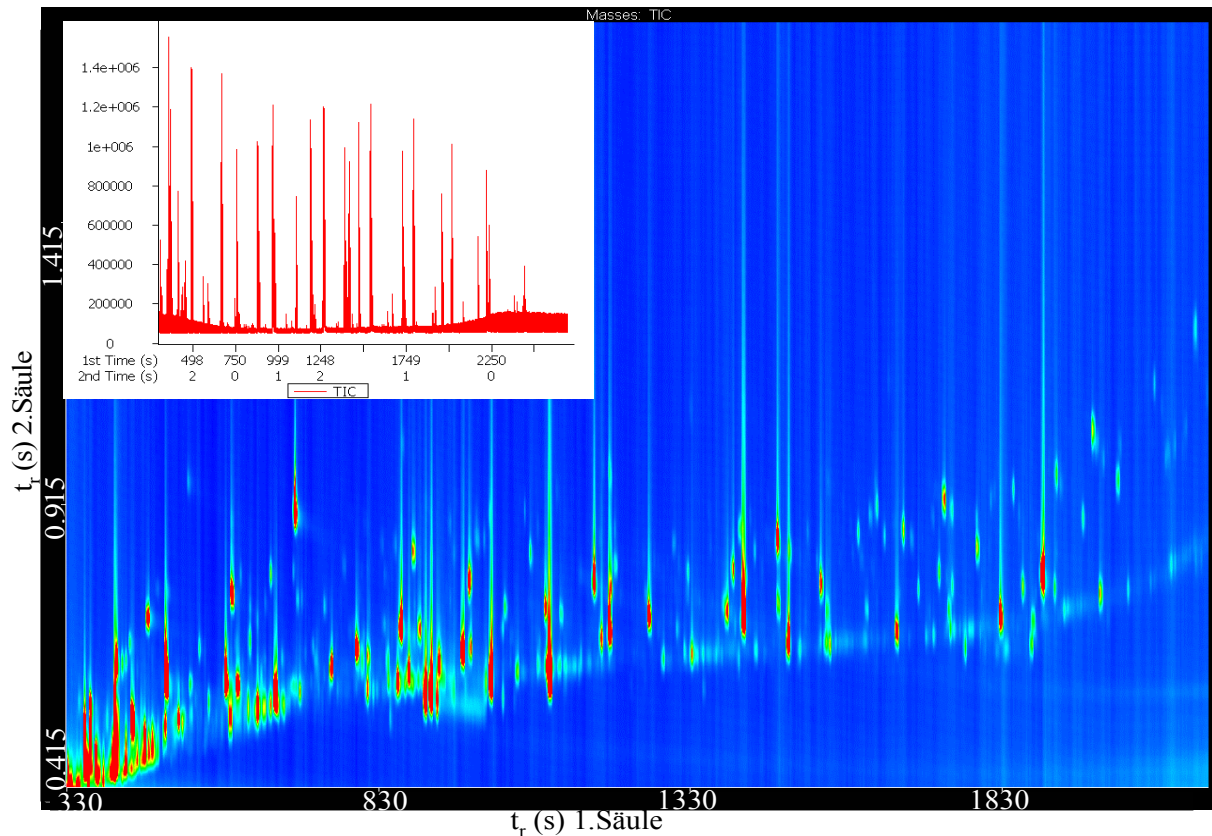


Abb. 81: GCxGC-(TOF)MS-Analyse von „AS-Duschgel“, Auftragung der TIC gegen die Gesamtretentionszeit (Bild oben links)

#### *GCxGC-(TOF)MS-Analyse*

In Duschgels sind Tenside und andere Inhaltsstoffe in großer Zahl und in unterschiedlichen Konzentrationen vorhanden. Mit der comprehensiven 2D-Gaschromatographie lassen sich diese Inhaltsstoffe gut trennen und mit der Massenspektrometrie, hier EI/(TOF)MS, quantifizieren. In Abbildung 81 ist das 2D-Gaschromatogramm (TIC) des „AS Duschgel Milch & Honig“ dargestellt. Die Komplexität des Chromatogramms überrascht nicht, wenn man bedenkt, dass die in Tabelle 20 nach Herstellerangabe aufgeführten Inhaltsstoffe zum Teil keine Einzelsubstanzen sind und jede Tensidklasse (nichtionisch, anionisch, amphoter) durch die Synthese bedingt ein komplexes Gemisch von Homologen darstellt. Man erkennt zahlreiche Komponenten mit gleicher oder annähernd gleicher Retentionszeit auf der unpolaren ersten bzw. mittelpolaren zweiten Säule. Das bedeutet, dass die eindimensionale Gaschromatographie vermutlich nicht ausreicht, um das komplexe Gemisch zu trennen und einzelne Komponenten zuzuordnen.

Bestätigt wird diese Annahme durch die Darstellung des Chromatogramms im Bild oben links, in dem der TIC gegen die Gesamtretentionszeit auf der ersten und zweiten Säule aufgetragen ist. Im Anschluß an die oben beschriebene Probenvorbereitung erfolgt die GCxGC-(TOF)MS-Analyse. Zur Darstellung der jeweiligen Tensidklassen wurde ein Selected-Ion-Mode (Auswahl von Schlüsselfragmenten) verwendet, durch den alle anderen Substanzen und Substanzklassen ausgeblendet werden. Abbildung 89 (siehe 6. Anhang) zeigt das 2D-Gaschromatogramm der anionischen Tenside (Natrium laurylether sulfat = Natrium lauryldiethoxysulfat) nach Hydrolyse und Silylierung. Danach enthält das Gemisch silylierte Fettalkoholethoxylate mit n-Alkylketten von C10 bis C16 (Hauptanteil: C12, C14) und Ethoxylierungsgraden von E0 bis E7 (mittlerer Wert: E2). Da überwiegend geradzahlige n-Alkyl-Gruppen vorhanden sind, stammen die Ausgangsstoffe vermutlich aus natürlichen Quellen. Als Vertreter der amphoteren Tenside enthält das Duschgel Cocamidopropylbetaine. Die Identifizierung der Betaine erfolgt anhand der im Injektor gebildeten Amidoamine. Abbildung 90 (siehe 6. Anhang) zeigt das 2D-Gaschromatogramm dieser Substanzen im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragment  $m/z = 144$ ). Auch hier weist das Vorhandensein geradzahliger Alkylketten auf den Einsatz pflanzlicher Rohstoffe hin. Der Nachweis der APGs (nichtionische Tenside) und freier Zucker im Duschgel erfordert eine vollständige Silylierung. Die Abbildungen 92 und 93 (siehe 6. Anhang) zeigen die jeweiligen 2D-Gaschromatogramme, die Aufschluß geben über die Zusammensetzung der APGs (n-Alkylkette und Verknüpfung sowie Anzahl und Ringstruktur der Glucoseeinheiten). Die „freien Zucker“ können aus Mel (Honig) oder Stärke stammen. Glycerololeat (Monooleylglyceratrimethylsilylether), Glycerylstearat (Monoglycerylstearat-trimethylsilylether) und Niacinamid wurden in Abbildung 91 dargestellt. Es wurden auch neben Glycerylstearat kleine Konzentrationen von Ölsäuretrimethylsilylester und Octadecansäure-trimethylsilylester bestimmt. In der silylierten Probe konnten auch Glycerin und Citronensäure nachgewiesen werden (Abb. 93) (siehe 6. Anhang). Ein weiterer Bestandteil ist Sine adepie lac (fettfreie Milch). Ist Prolin in der Probe nachzuweisen, ist dies ein deutlicher Hinweis darauf, dass Milch enthalten ist (Abb. 94). Als Konservierungsstoff enthält das Duschgel Sorbinsäure, Benzoesäure und Phenoxyethanol (Abb. 95) (siehe 6. Anhang). Die Packung enthält keinen Hinweis auf den Namen des zugesetzten Parfüms. Als Duftstoffe konnten 4-Methoxy-benzaldehyd (Anisaldehyd), Ethylvanillin, Piperonal und Octanal, 2-phenylmethylen (2-Benzylideneoctanal) nachgewiesen werden (Abb. 95) (siehe 6. Anhang). Durch die Analyse mittels GCxGC-(TOF)MS ist es möglich, Substanzen zu identifizieren, die nicht auf der Packung angegeben sind. Ein Beispiel

---

hierfür sind Benzylbenzoat, das als Lösungsmittel, und Methacrylamid, das als Filmbildner verwendet wird (Abb. 96 und Abb.97) (siehe 6. Anhang).

Ohne genaue Quantifizierung ist anhand der Chromatogramme eindeutig, dass Natrium Laurylether sulfate (Natrium lauryldiethoxysulfate) die höchste Konzentration in diesem Duschgel hat. Ebenfalls in hohen Konzentrationen kommen Betaine und APGs vor.



## 4 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe der comprehensiven Gaschromatographie (GCxGC) polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) in komplexen Matrices (Tocopherole, Olivenöl) sowie Tenside [Fettalkoholethoxylate (FAEO), Fettalkoholsulfate (FAS), Fettalkoholethersulfate (FAES), Alkylpolyglucoside (APG) und Cocamidopropylbetaine (CAPB)] in technischen Produkten sowie kommerziellen Reinigern und Körperpflegemitteln nach geeigneter Probenvorbereitung untersucht. Die Kryo-Modulation wurde mit zwei unterschiedlichen Techniken [longitudinally modulation cryogenic system (LMCS) bzw. Hot- und Cold-Jets] durchgeführt, die Detektion erfolgte mittels Flammenionisationsdetektor (FID) bzw. Flugzeitmassenspektrometer (TOF-MS).

Zur Untersuchung der PAKs wurde ein GCxGC-(TOF)MS der Firma Leco (Pegasus III) verwendet. Eine konventionelle Kapillar-GC-Säule (VF-5MS; 30 m, 0,25 mm, 0,25  $\mu\text{m}$ ), diente zur Trennung in der ersten Dimension, eine mittelpolare schnelle GC-Säule (BPX50; 1 m, 0,1 mm, 0,1  $\mu\text{m}$ ) wurde für die Trennung in der zweiten Dimension eingesetzt. Die Injektion der Proben erfolgte „splitless“ bei einer Injektionstemperatur von 330 °C. Gegenüber der Splitinjektion war es so möglich, die Intensität der Signale mindestens um den Faktor 5 zu steigern und die Diskriminierung der hochsiedenden PAKs zu verringern. Beide Effekte wurden durch den im Injektorblock verwendeten Liner der Firma Agilent (19251-60540) unterstützt. Zur Trennung der PAKs wurde folgendes Temperaturprogramm angewendet: 40 °C (1 min) bis 100 °C mit 40 °C/min, anschließend 100 °C bis 320 °C mit 5 °C/min (12 min). Bei einer Starttemperatur von 40 °C kommt es zu einer Abtrennung des Lösungsmittels von den Hauptkomponenten der Probe und damit zu einer Art „Trapping“ der schwerer flüchtigen Analyten am Säulenbeginn. Dies führte zu einer Intensitätssteigerung der Signale um den Faktor 5. Wie erwartet konnte bei konstantem Fluss (1,4 ml/min) die Signalbreite in der ersten Dimension um 2 bis 7 s reduziert werden. Da bei konstantem Fluss der Druck im Laufe der Analyse erhöht wird, passieren die Probenkomponenten die Säule schneller als bei konstantem Druck, was eine Reduzierung der Analysenzeit zur Folge hat. Durch Einstellen der Modulations- und Hot-Jet-Zeiten wurden Trennleistung und Peakform weiter optimiert. Die Verwendung kleiner Modulationszeiten bringt oftmals eine Steigerung der Trennleistung, allerdings stellen 2,5 s eine untere Grenze dar, ab der sich ein „wrap-around“ bemerkbar macht. Als bester Kompromiss für hoch und niedrig siedende PAKs ergab sich eine Hot-Jet-Zeit von 1,1 s. Um Empfindlichkeitsverluste bei Detektion zu vermeiden, müssen die Temperaturen der Ionenquelle

(250 °C) und der Transferline (300 °C) möglichst hoch gehalten werden. Durch die Erhöhung der Detektorspannung von 1600 V auf 1800 V konnte eine Empfindlichkeitssteigerung um den Faktor 8 bis 10 erreicht werden. Nach der Optimierung wurde die Leistungsfähigkeit des GCxGC-(TOF)MS-Systems anhand einer Mischung von 43 deuterierten und nicht deuterierten PAKs (zwei bis sechs Kerne) getestet. Mit Ausnahme von Benzo[*b*]- und Benzo[*k*]-fluoranthen wurden alle anderen Komponenten voneinander getrennt. Da die Bearbeitung der umfangreichen Daten und die Spektrensuche in der NIST-Library sehr viel Zeit in Anspruch nehmen, wurde eine eigene Bibliothek für deuterierte und nicht deuterierte PAKs aufgebaut. Dadurch konnte die Zeit für die Datenbearbeitung erheblich verkürzt werden.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde die optimierte Analysenmethode zur Untersuchung von Tocopherol-Proben der Cognis Deutschland GmbH & Co.KG eingesetzt. Dabei wurden die Proben im Labor der Eurofins Analytik GmbH (Hamburg) mit deuterierten PAKs versetzt und einer Koffein-Komplexierung mit anschließender GPC unterzogen. Die nachfolgende Analyse mit der GCxGC-(TOF)MS (eigene Methode) und der GC-MS (Eurofins) ergab gut übereinstimmende Ergebnisse, obwohl im Eurofins-Labor eine Large-Volume-Injektion (50 µl) vorgenommen wurde und die Detektion im Single Ion Monitoring (SIM)-Modus erfolgte.

Im Mittelpunkt der Untersuchungen von Olivenöl (Probenvorbereitung nach B.K. Larsson, 1987) stand ein Methodenvergleich. Die oben beschriebene GCxGC-(TOF)MS-Methode (Modulation mittels Hot- und Cold-Jets) wurde der GCxGC-FID (Modulation mittels LMCS) gegenübergestellt. Die bei konstantem Druck durchgeführten Analysen ergaben annähernd gleiche Retentionszeiten für die nachgewiesenen PAKs (Naphthalin, Phenanthren, Fluoranthen und Pyren). Da für die Quantifizierung mittels GCxGC-FID noch keine geeignete Software verfügbar ist, zeigten die Ergebnisse von Phenanthren und Fluoranthen signifikante Abweichungen. Die für alle PAKs gefundenen Konzentrationen lagen jedoch unterhalb der gesetzlich festgelegten Höchstmenge von 5 µg/kg.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden die oben genannten Tenside analysiert. Da die meisten Tensidklassen nicht oder nur schwer GC-gängig sind, mussten diese zunächst durch die Probenvorbereitung in eine flüchtige Form überführt werden. Die APG und die FAEO wurden durch Silylierung mit Bis-(trimethylsilyl)-trifluoracetamid/(BSTFA) N-Methyl-N-trimethylsilyl-trifluoracetamid (MSTFA) zu den entsprechenden Trimethylsilylethern umgesetzt. Bei den FAS und FAES wurden zunächst durch Hydrolyse die Fettalkohole bzw. Fettalkoholethoxylate gebildet und anschließend in die Trimethylsilylether überführt. Die CAPB bilden hier eine

Ausnahme. Diese Verbindungen sind zwar ebenfalls schwerflüchtig, bilden aber im Injektor bei Temperaturen oberhalb 310 °C flüchtige Zerfallsprodukte. Es konnte gezeigt werden, dass das jeweilige CAPB durch die thermische Belastung im Injektor unter Verlust der CH<sub>2</sub>COO-Gruppe zum Amidoamin (ca. 50 %) reagiert. Daneben entstehen ein Umlagerungsprodukt (Methylester als Isomer des Betains ca. 10 %) und weitere Zerfallsprodukte (ca. 40 %). Zur Strukturaufklärung der Thermolyseprodukte wurden neben den EI/MS-Spektren (eigene Arbeit) auch die CI/MS-Spektren (Bayer) herangezogen.

Mit Hilfe von Standards der Firma Cognis und anderer Hersteller (Reinsubstanzen, technische Gemische) wurde zunächst eine Spektren-Bibliothek erstellt, da in der NIST-Library in vielen Fällen weder die Massenspektren der Tenside noch der entsprechenden Trimethylsilyether vorhanden sind. Auf der Grundlage dieser Bibliothek war es möglich, komplexe Tensidgemische, wie sie in kommerziellen Reinigern und Pflegemitteln vorkommen, qualitativ und quantitativ zu bestimmen. Im Vergleich zu den PAK-Messungen musste die eingesetzte GCxGC-(TOF)MS-Methode nur geringfügig geändert werden. So wurde eine split-Injektion (1:100) durchgeführt und die Modulationszeit auf 3 s sowie die Hot-Jet-Zeit auf 0,9 s eingestellt.

Durch die hohe Leistungsfähigkeit dieser neuen Methode lassen sich in einem Analysenlauf mehrere Tensidklassen nebeneinander nachweisen und bestimmen. Im Unterschied zur eindimensionalen GC werden durch die hohe Peakkapazität der GCxGC Peaküberlagerungen weitgehend ausgeschlossen. Die Retentionszeiten auf der ersten und zweiten Säule in Verbindung mit den vollständigen EI/MS-Spektren ermöglichen die eindeutige Zuordnung von Einzelkomponenten.

## 5 Experimenteller Teil

### 5.1 Materialien und Geräte

#### 5.1.1 Chemikalien

##### Lösemittel

Dichlormethan

Methanol

Toluol

Diethylether

Aceton

Cyclohexan

Isooctan

Dimethylformamid

Ethylacetat

##### Hersteller

Merck (Darmstadt)

Merck (Darmstadt)

Merck (Darmstadt)

Merck (Darmstadt)

Merck (Darmstadt)

J. T. Baker (Deventer, Niederlande)

J. T. Baker (Deventer, Niederlande)

Merck (Darmstadt)

J. T. Baker (Deventer, Niederlande)

Alle eingesetzten Lösungsmittel besaßen mindestens HPLC-Grade.

##### PAKs

PAK-Mischung

PAK-deutert

Naphthalin

Fluoranthren

Pyren

Phenanthren

##### Hersteller

CS-Chromatographie Service GmbH  
(Langewehe)

Restek Corporation (Bellanfonte)

Dr. Ehrenstorfer (Augsburg)

Fluka (Buchs, Schweiz)

Fluka (Buchs, Schweiz)

Sigma-Aldrich (Steinheim)

EGA-Chemie (Germany)

##### analysierte Substanzen

BK 2072

Brij 30 (Tetraethylenglykol)

Brij 35 (Polyoxyethylenlaurylether)

Brij 58 (Polyoxyethylene 20 cethyl ether)

##### Hersteller

Cognis (Düsseldorf)

Fluka (Buchs, Schweiz)

Sigma-Aldrich (Steinheim)

Sigma-Aldrich (Steinheim)

---

Brij 72 (Polyoxyethylene 2 Stearyl ether)	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Brij 78 (Polyoxyethylene 20 Stearyl ether)	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Cetiol CC	Cognis (Düsseldorf)
Cegesoft C 24	Cognis (Düsseldorf)
Crude Oil Qualitative Mix	Supelco (USA)
1,2-Dodecandiol	Cognis (Düsseldorf)
1,10-Decandiol	Fluka (Buchs, Schweiz)
1,12-Dodecandiol	Fluka (Buchs, Schweiz)
2-Dodecanol	Fluka (Buchs, Schweiz)
Dehyton K	Cognis (Düsseldorf)
Dehyton PK	Cognis (Düsseldorf)
Dehydol LS 4	Cognis (Düsseldorf)
Eutanol	Cognis (Düsseldorf)
Eutanol G	Cognis (Düsseldorf)
Eutanol G 16 S	Cognis (Düsseldorf)
Eutanol G 16	Cognis (Düsseldorf)
Epoxid G 2 dest	Cognis (Düsseldorf)
Epoxid G 6 dest	Cognis (Düsseldorf)
Edenor IPL	Cognis (Düsseldorf)
FA C12	Cognis (Düsseldorf)
FA C12-18	Cognis (Düsseldorf)
Fettalkohole (Dodecanol-Tetradecanol)	Fluka (Buchs, Schweiz)
FA C12-16	Cognis (Düsseldorf)
FA C12-14S	Cognis (Düsseldorf)
FA C12-14 EC	Cognis (Düsseldorf)
FA C8-10	Cognis (Düsseldorf)
FA RG	Cognis (Düsseldorf)
FA C18 DEO	Cognis (Düsseldorf)
FA C16-C18	Cognis (Düsseldorf)
FA C10	Cognis (Düsseldorf)
FA C8	Cognis (Düsseldorf)
FA C6	Cognis (Düsseldorf)

---

FA C12-14	Cognis (Düsseldorf)
FA C12-18	Cognis (Düsseldorf)
FA Hydrenol D	Cognis (Düsseldorf)
FA Vorlauf Brennstoff	Cognis (Düsseldorf)
FA RG	Cognis (Düsseldorf)
Generol	Cognis (Düsseldorf)
HD 8	Cognis (Düsseldorf)
HD9	Cognis (Düsseldorf)
HDPR C 10	Cognis (Düsseldorf)
1,16-Hexadecandiol	Fluka (Buchs, Schweiz)
1,2-Hexadecandiol	Fluka (Buchs, Schweiz)
1,6-Hexandiol	Fluka (Buchs, Schweiz)
1-Hexydecanol	Fluka (Buchs, Schweiz)
IPS-V	Cognis (Düsseldorf)
IPP	Cognis (Düsseldorf)
Isopropylmyristate	Cognis (Düsseldorf)
KE 2240	Cognis (Düsseldorf)
Myri 59 (Polyoxyethylene 100 Stearate)	Sigma-Aldrich (Steinheim)
ME V05	Cognis (Düsseldorf)
ME C6-10	Cognis (Düsseldorf)
Natrium-1-Decansulfonat	Fluka (Buchs, Schweiz)
Natrium-1-Octansulfonate Monohydrat	Fluka (Buchs, Schweiz)
Natriumdecylsulfate	Fluka (Buchs, Schweiz)
Natrium1- decansulfonat	Fluka (Buchs, Schweiz)
n-decyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid	Sigma-Aldrich (Steinheim)
n-decyl- $\beta$ -D-glucopyranosid	Sigma-Aldrich (Steinheim)
n-dodecyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid	Sigma-Aldrich (Steinheim)
n-dodecyl- $\beta$ -D-glucopyranosid	Sigma-Aldrich (Steinheim)
n-octyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid	Sigma-Aldrich (Steinheim)
n-octyl- $\beta$ -D-glucopyranosid	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Ocenol 90/095V	Cognis (Düsseldorf)
OC 80/85V	Cognis (Düsseldorf)

---

OC 50/55IIIIV	Cognis (Düsseldorf)
OC 70/75 V	Cognis (Düsseldorf)
OC50-55V	Cognis (Düsseldorf)
Olefin Epoxid C10	Cognis (Düsseldorf)
Octylsulfat	Cognis (Düsseldorf)
1,2-Octandiol	Fluka (Buchs, Schweiz)
1-Octadecanol	Fluka (Buchs, Schweiz)
Stearinsäureamid	Fluka (Buchs, Schweiz)
Sulfofon 12-18 G	Cognis (Düsseldorf)
Sulfofon 12-18 G	Cognis (Düsseldorf)
Sulfofon 12 16 G	Cognis (Düsseldorf)
Sulfofon 85 15 G	Cognis (Düsseldorf)
Texapon N 70	Cognis (Düsseldorf)
1,2 Tetradecandiol	Fluka (Buchs, Schweiz)
1-Tetradecanol	Fluka (Buchs, Schweiz)

**Derivatisierungsreagenz**

N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid  
(MSTFA)  
Bis-(trimethylsilyl)-trifluoracetamid  
(BSTFA)

**Hersteller**

CS-Chromatographie Service GmbH  
(Langewehe)  
CS-Chromatographie Service GmbH  
(Langewehe)

**Spülmittel**

Palmolive Creme-Seife  
(Palmolive Feuchtigkeitsspender Creme-  
Seife)  
Palmolive-Aromathrapie Duschgel  
(Schlecker) AS Duschgel Milch & Honig  
LOC Mehrzweckreiniger  
Testshampoo 04/224/001 (29.11.2004)

**Hersteller**

Colgate-Palmolive  
  
Colgate-Palmolive  
Mann & Schröder GmbH  
Amway  
Cognis (Düsseldorf)

<u>Olivenöl</u>	<u>Hersteller</u>
Natives Olivenöl (La villa)	Clama GmbH & Co. KG, Mühlheim an der Ruhr

### 5.1.2 Verwendete Materialien und Geräteeinstellungen

- Säulenchromatographie  
Kieselgel 60 (70-230 mesh ASTM) (Merck, Darmstadt)
- Rotationsverdampfer (Büchi, Essen)
- Liner A (5062-3587 Agilent, Waldbronn)
- Liner B (19251-60540 Agilent, Waldbronn)
- Säule: BPX5 [Länge = 30 m, I.D. = 0,25 mm,  $d_f = 0,25 \mu\text{m}$  (SGE, Australia)]
- Säule: BPX50 [Länge = 1 m, I.D. = 0,1 mm,  $d_f = 0,1 \mu\text{m}$  (SGE, Australia)]
- Säule: FactorFour VF-5MS [Länge = 30 m, I.D. = 0,25 mm,  $d_f = 0,25 \mu\text{m}$  (Varian, Darmstadt)]
- Säule: VF-17ms [Länge = 1 m, I.D. = 0,1 mm,  $d_f = 0,1 \mu\text{m}$  (Varian, Darmstadt)]

#### 5.1.2.1 GCxGC-FID Bedingungen für die Analyse des Olivenöls

GCxGC-Anlage	HP6890 Gaschromatograph (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) LMCS units Everest model (Chromatography Concepts, East Doncaster, Australia), RMIT University, Phillip Marriot, Chromatography and Molecular separation. GC-Software“ Chemstation (Rev A.09.03[1417] Agilent Technologies 1990-2002)“ GCXGC-Software “2D-GC Converted Version 2.2 (Chromatography Concepts)“.
Säule 1	BPX5 (Länge = 30 m, I.D. = 0,25 mm, $d_f = 0,25 \mu\text{m}$ (SGE, Australia)
Säule 2	BPX50 (Länge = 1 m, I.D. = 0,1 mm, $d_f = 0,1 \mu\text{m}$ (SGE, Australia)
Temperaturprogramm	60 °C (1 min halten)



---

	40 °C/min bis 100 °C (0 min halten)
	5 °C/min bis 320 °C (8 min halten)
Trägergas	Helium 5, konstanter Druck bei 32 psi
Modulator	LMCS, 3 sec, Stickstoff 15 psi, CO <sub>2</sub> -Flüssigkeit
Detektor	FID 320 °C, 40 ml/min Wasserstoff, synthet. Luft
	400 ml/min, Makeupgas (Stickstoff, 30 ml/min)
Injektor	split/splitless Injektor, splitless, Temperatur 320 °C, Purge Time 60 s, Purge Flow 60 ml/min, Total Flow 61,4 ml/min
Injektionsvolumen	2 µl
Autosampler 7683	(Agilent)

### 5.1.2.2 GCxGC-(TOF)MS Bedingungen für die Analyse des Olivenöls

GCxGC-Anlage	LECO Pegasus III GCxGC-TOFMS (LECO Instrument GmbH, Mönchengladbach) 6890 N (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) Leco Thermal Modulation System Autosampler 7683 (Agilent) Leco Chroma TOF <sup>TM</sup> Software flüssiger und gasförmiger Stickstoff
Traggas	
Computer	Dell 2.99 GHZ
Säule 1	BPX5 (Länge = 30 m, I.D. = 0,25 mm, d <sub>f</sub> = 0,25 µm (SGE, Australia)
Säule 2	BPX50 (Länge = 1 m, I.D. = 0,1 mm, d <sub>f</sub> = 0,1 µm) (SGE, Australia)
Temperaturprogramm Ofen 1	60 °C (1 min halten) 40 °C/min bis 100 °C (0 min halten) 5 °C/min bis 320 °C (8 min halten)
Temperaturprogramm Ofen 2	120 °C (1 min halten) 5 °C/min bis 330 °C (8 min halten)
Trägergas	Helium 5, konstanter Druck bei 32 psi

---

Offset Modulator	30 °C
Modulationszeit	3 s
Modulator und Zeiten	2 Cold-Jets (0,6 s), 2 Hot-Jets (0,9 s)
Injektor	split/splitless Injektor, splitless, Temperatur 320 °C, Purge Time 60 s, Purge Flow 60 ml/min, Total Flow 61,4 ml/min
Injektionsvolumen	2 µl
Autosampler 7683	(Agilent)

*Optimierte (TOF)MS-Methode für die Analyse des Olivenöls*

Messmodus	EI, -70 Volt
Solvent Delay	400 s
Massenbereich	50 – 500 Da
Temperatur Ionenquelle	250 °C
Detektorspannung	1600 V
Temperatur Transfer Line	300 °C
Aufnahmerate	200 Spektren/s

### 5.1.2.3 Die optimierte Methode zur Analyse der Fettalkohole

Säule 1	FactorFour VF-5MS (Länge = 30 m, I.D. = 0,25 mm, $d_f = 0,25 \mu\text{m}$ (Varian, Darmstadt)
Säule 2	BPX50 (Länge = 1 m, I.D. = 0,1 mm, $d_f = 0,1 \mu\text{m}$ (SGE, Australia)
Injektor	250 °C, split 1:100
1. Ofentemperatur	70 °C, 1 min, 5 °C/min, 310 °C, 2 min
2. Ofentemperatur	90 °C, 2 min, 5 °C/min, 320 °C, 3 min
Offset Modulator Temperatur	30 °C
Modulationszeit	3 s
Modulator und Zeiten	2 Cold-Jets (0,6 s), 2 Hot-Jets (0,9 s)
Temperatur der Transferline	300 °C

*Optimierte (TOF)MS-Methode für Fettalkohole*

Aufnahmerate	200 Spektren/s
Detektorspannung	1600 V
Filament Bias Spannung	-70 V
Ionenquelle Temperatur	200 °C

**5.1.2.4 Die Optimierte Methode zur Analyse der Tocopherole**

Säule 1	FactorFour VF-5MS (Länge = 30 m, I.D. = 0,25 mm, $d_f = 0,25 \mu\text{m}$ (Varian, Darmstadt)
Säule 2	VF-17ms (Länge = 1 m, I.D. = 0,1 mm, $d_f = 0,1 \mu\text{m}$ (Varian, Darmstadt)
Injektor	splitless
Injektionsvolumen	2 $\mu\text{l}$
1. Ofentemperaturprogramm	40 °C (1 min halten) 40 °C/min auf 100 °C (0 min halten) 5 °C/min auf 320 °C (12 min halten)
2. Ofentemperaturprogramm	110 °C (1,7 min halten) 5 °C/min auf 330 °C (12,80 min halten)
Transferlinientemperatur	300 °C
Injektortemperatur	330 °C
Trägergasfluss	1,4 ml/min Mode: konstanter Fluss
Injektorpurgezeit, Purgefluss	60 s, 60 ml/min
Modulationszeit	2,5 s
Modulator und Zeiten	2 Cold-Jets (0,15 s), 2 Hot-Jets (1,1 s)
Trägergas	Helium 5

*MS-Bedingungen für die Analyse der Tocopherole*

Ionenquellentemperatur	250 °C
Detektorspannung	1800 V
Filament Bias Voltage	-70 V
Aufnahmerate	200 Spektren/s
Solvent Delay	610 s

### 5.1.2.5 Die optimierte Methode zur Analyse der Tenside

Säule 1	FactorFour VF-5MS (Länge = 30 m, I.D. = 0,25 mm, $d_f = 0,25 \mu\text{m}$ (Varian, Darmstadt)
Säule 2	BPX50 (Länge = 1 m, I.D. = 0,1 mm, $d_f = 0,1 \mu\text{m}$ (SGE)
Injektor	split 1:100
Injektionsvolumen	1 $\mu\text{l}$
1. Ofentemperaturprogramm	70 °C (1 min halten) 40 °C/min auf 150 °C (0 min halten) 5 °C/min auf 320 °C (8 min halten)
2. Ofentemperaturprogramm	90 °C (1 min halten) 40 °C/min auf 170 °C (1 min halten) 5 °C/min auf 320 °C (11 min halten)
Transferlinientemperatur	300 °C
Injektortemperatur	320 °C
Trägergasfluss	1,4 ml/min konstanter Fluss
Modulationsprogramm	3 s Modulationszeit, 2 Cold-Jets (0,6 s), 2 Hot-Jets (0,9 s)
Trägergas	Helium 5

#### *MS-Bedingungen für die Analyse der Tenside*

Ionenquellentemperatur	200 °C
Detektorspannung	1600 V
Filament Bias Voltage	-70 V
Aufnahmerate	200 Spektren/s
Solvent Delay	300 s

## 5.2 Methoden/Arbeitsvorschriften

### 5.2.1 Die Methode aus Eurofins-Labor

#### Koffein-Komplexierung

Koffein-Komplexierung wurde wie beschrieben (Eurofins) durchgeführt:

- 2 g der Probe wurde mit 0,5 ml internem Standard versetzt und in 20 ml Cyclohexan gelöst.
- Die Lösung wurde 2-mal mit 10 ml Koffein/Ameisensäure kräftig ausgeschüttelt.
- Zu der Mischung wurde 100 ml 2 %ige NaCl – Lösung gegeben und wurde 2-mal mit je 20 ml Cyclohexan reextrahiert.
- Der Extrakt wurde auf 1 ml eingengt und mit 9 ml Ethylacetat/Cyclohexan (V/V) aufgenommen.
- Die weitere Aufreinigung wurde mittels GPC (Gel Permeations Chromatographie) mit online Evaporierung auf 10 ml Endvolumen gemacht.

#### GPC- Parameter (TACS™):

- TACS ist ein vollautomatisiertes GPC-System mit nachfolgender Aufkonzentrierung und Aliquotierung [67].
- GPC-Laufmittel: sowohl Ethylacetat (HPLC-Grade) als auch Cyclohexan (HPLC-Grade) wurden im Volumenverhältnis 1:1 gemischt
- 50 g Bio-Beads S-X3 Beads, 200-400 mesh

Folgende Parameter wurden für die GPC-Trennung eingegeben:

- Flussrate: 5 ml/min
- Vorlauf: 1600 sec
- Hauptlauf: 2200 sec
- Nachlauf: 120 sec

Für das automatische Einengen der Probe im TACS (Firma LCTech):

- Heizbadtemperatur: 40 °C, Druckphase 1:180 mbar, Druckphase 2: 210 mbar.

#### *GC-MS(SIM)-Bedingungen an Eurofins-Labor*

GC	Agilent GC6890N
MS	Agilent MS5973N
Autosampler	CTC Combi PAL
Injektor	PTV; Gerstel CLS4
Mode	SIM

---

Säule	J&W DB 5 (Länge = 30 m, I.D = 0,25 mm, $d_f = 0,25 \mu\text{m}$ )
Injektionsvolumen	50 $\mu\text{l}$
Ofentemperaturprogramm	60 °C (1 min halten) 25 °C/min auf 315 °C (9 min halten)
Injektortemperatur Programm	50 °C, 0,1 min halten , 12 °C/s auf 315 °C, 1 min halten, 350 °C, 8 min halten,
Trägergas, Trägergasfluss	Helium ,1 ml/ min, Mode: konstanter Fluss
Injektor Purgezeit, Purgefluss	60 s, 50 ml/min
Injektor Ventfluss	100 ml/min, 0,1 min

### 5.2.2 Probenvorbereitung zur Fettalkoholanalyse

#### *Ohne Silylierung:*

0,001 g der Fettalkohole wurde in 1 ml Methanol verdünnt und analysiert.

#### *Mit Silylierung*

0,1 g der Fettalkohole wurden in 4 ml BSTFA/MSTFA (5:1) versetzt und bei 70 °C eine Stunde silyliert.

### 5.2.3 Probenvorbereitung zur Tensidanalyse

#### *Hydrolyse und Silylierung*

Ca. 0,1 g der Fettalkoholsulfate (FAS) oder Fettalkoholethersulfate (FAES) wird mit 10 ml 1,2 molarer HCl versetzt und eine Stunde bei 100 °C hydrolysiert. Nach der Hydrolyse wird die Probe mit 5 ml Ethylacetat extrahiert und die Ethylacetat-Phase mit NaOH neutralisiert. Danach wird wässrige Phase erneut mit 5 ml Ethylacetat versetzt und extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 1 ml BSTFA/MSTFA (5:1) versetzt und bei 70 °C eine Stunde silyliert.

#### *Silylierung*

Ca. 0,1 g der Probe (Shampoo, Duschgel und Pflegemittel) wurde mit 1 ml BSTFA/MSTFA (5:1) versetzt und bei 70 °C eine Stunde silyliert. Zur Silylierung der wässrigen Proben sollte für 0,1 g Einwaage 4 ml BSTFA/MSTFA (5:1) verwendet werden.

## 6 Anhang

### 6.1 Ergänzende Abbildungen und Tabellen der PAKs in Olivenöl und Tocopherole

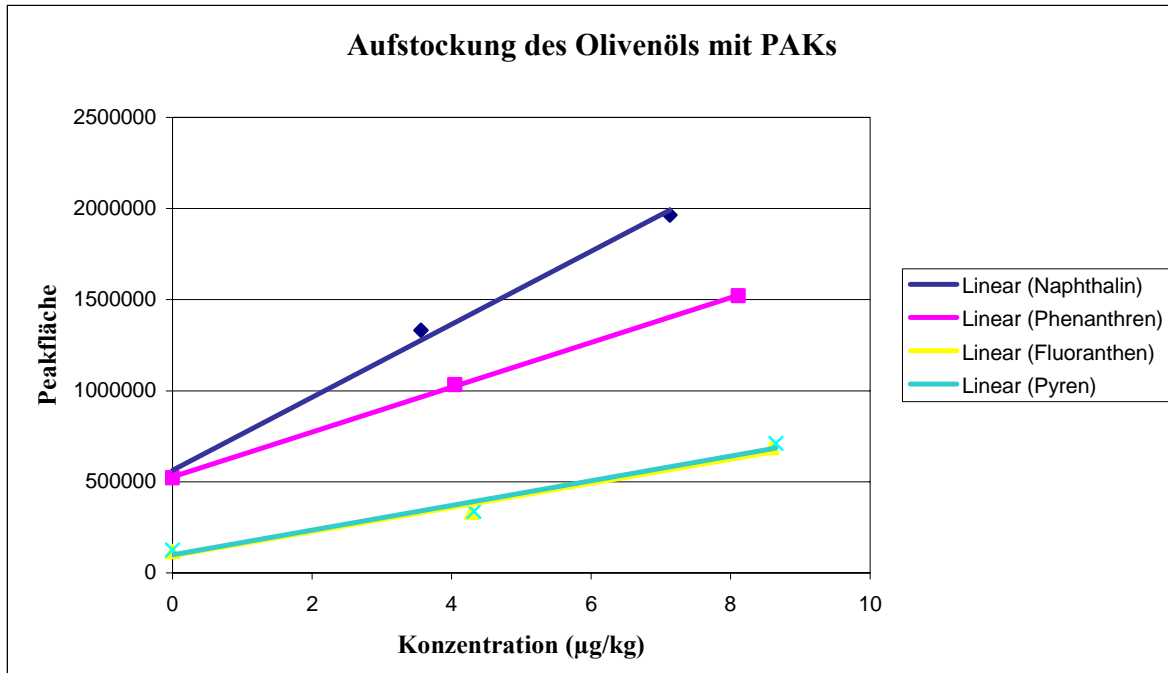


Abb. 82: Kalibriergerade eines Olivenöls mit Aufstockungsverfahren mittels GCxGC-(TOF)MS

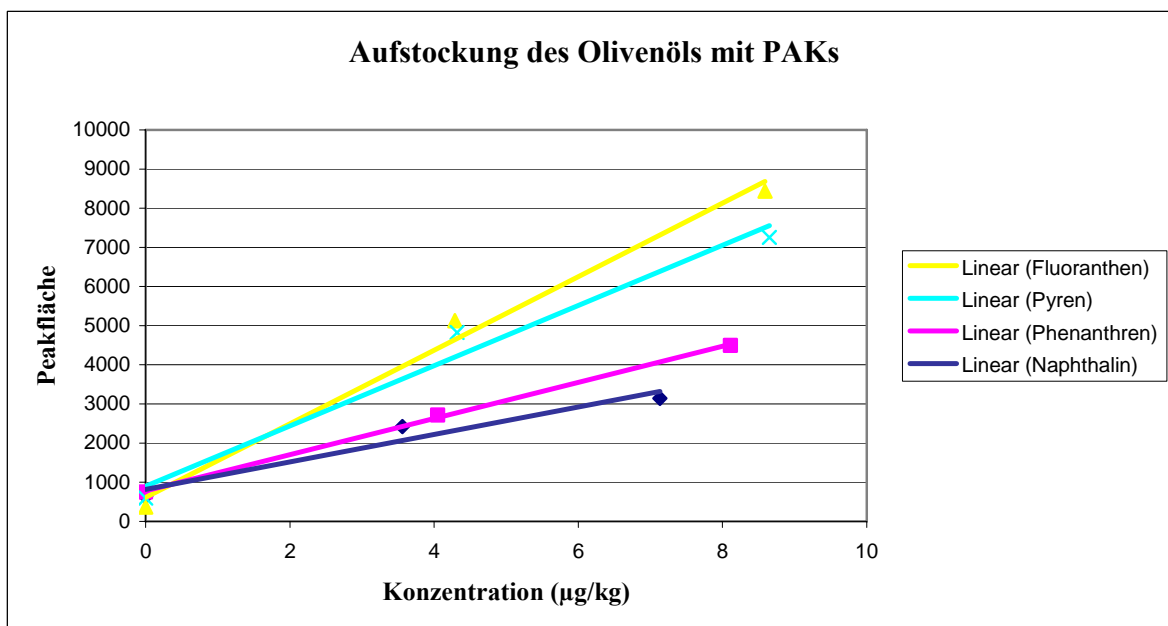


Abb. 83: Kalibriergerade eines Olivenöls mit Aufstockungsverfahren mittels GCxGC-FID

Ermittelte Kalibriergerade aus den Messungen der 10 verschiedenen Konzentrationen der EPA-PAKs (nach DIN)

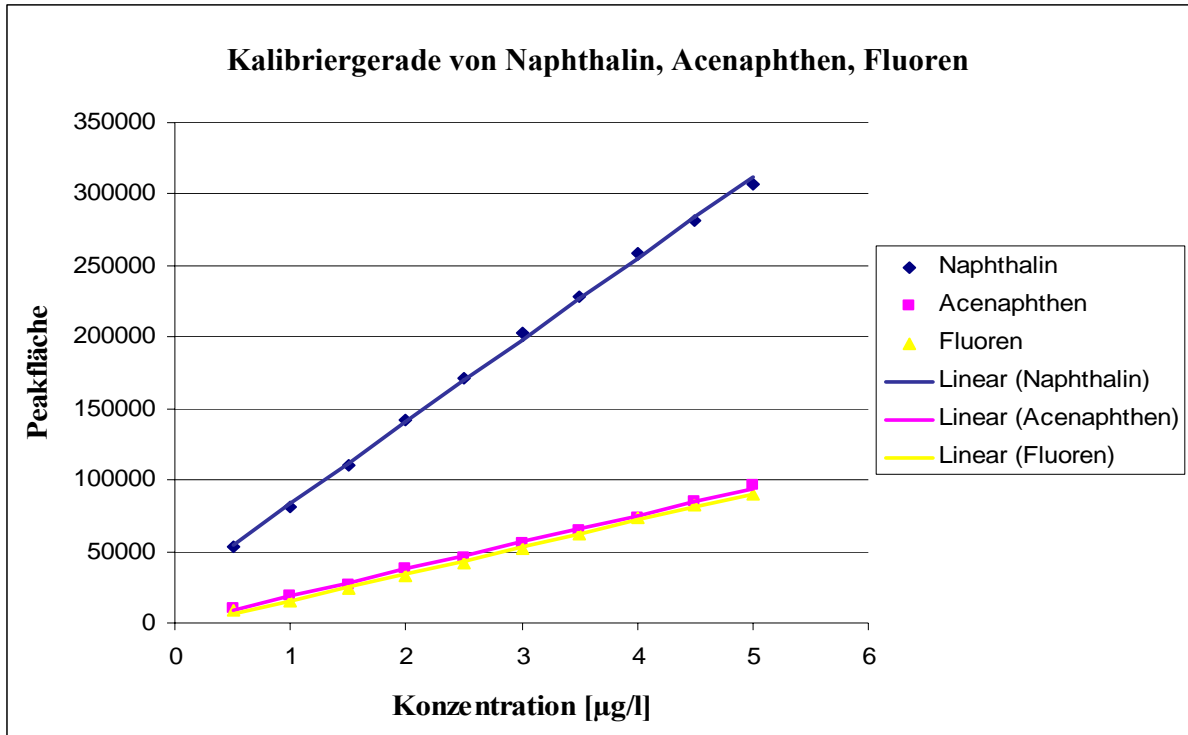


Abb. 84: Kalibriergerade von Naphthalin, Acenaphthen, Fluoren siehe auch Überschrift in der Abbildung

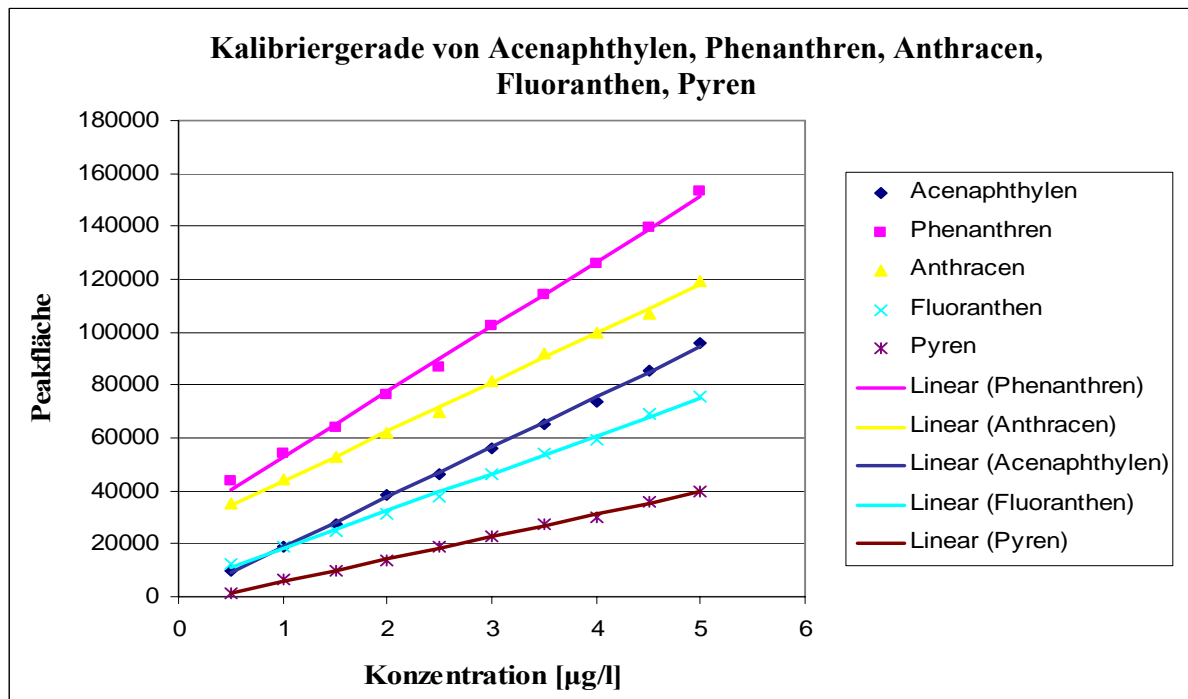
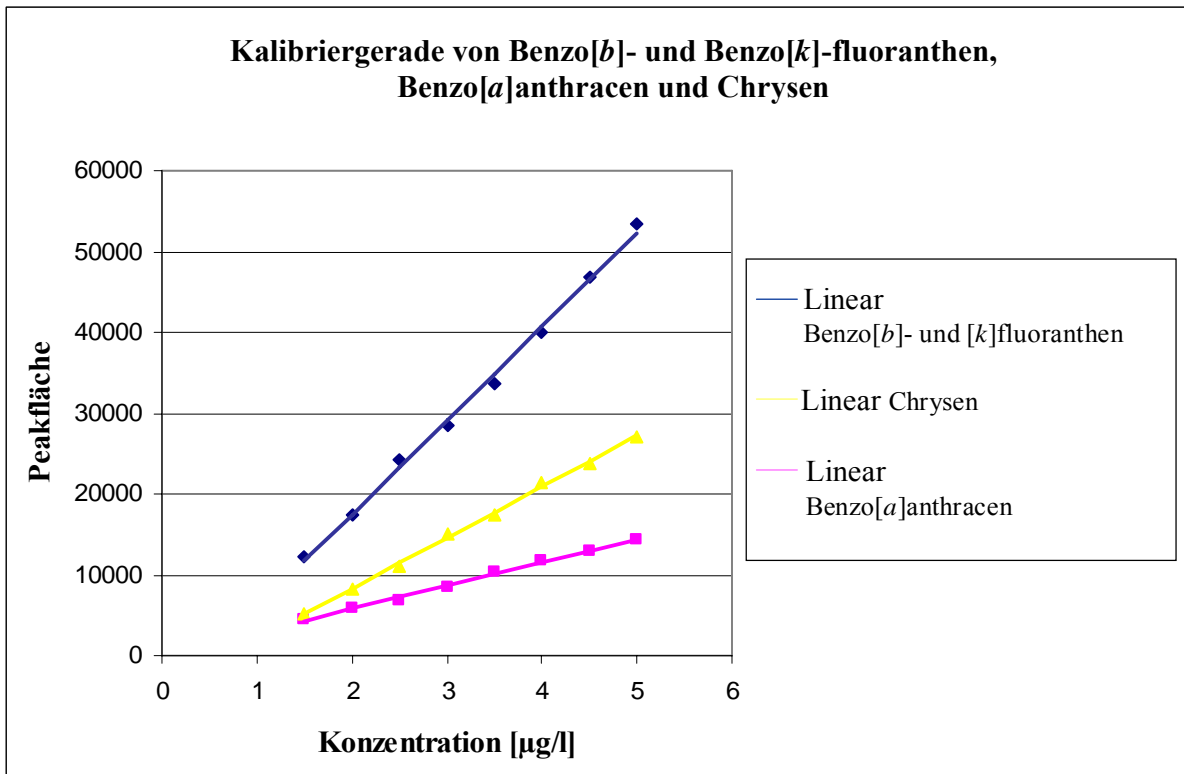
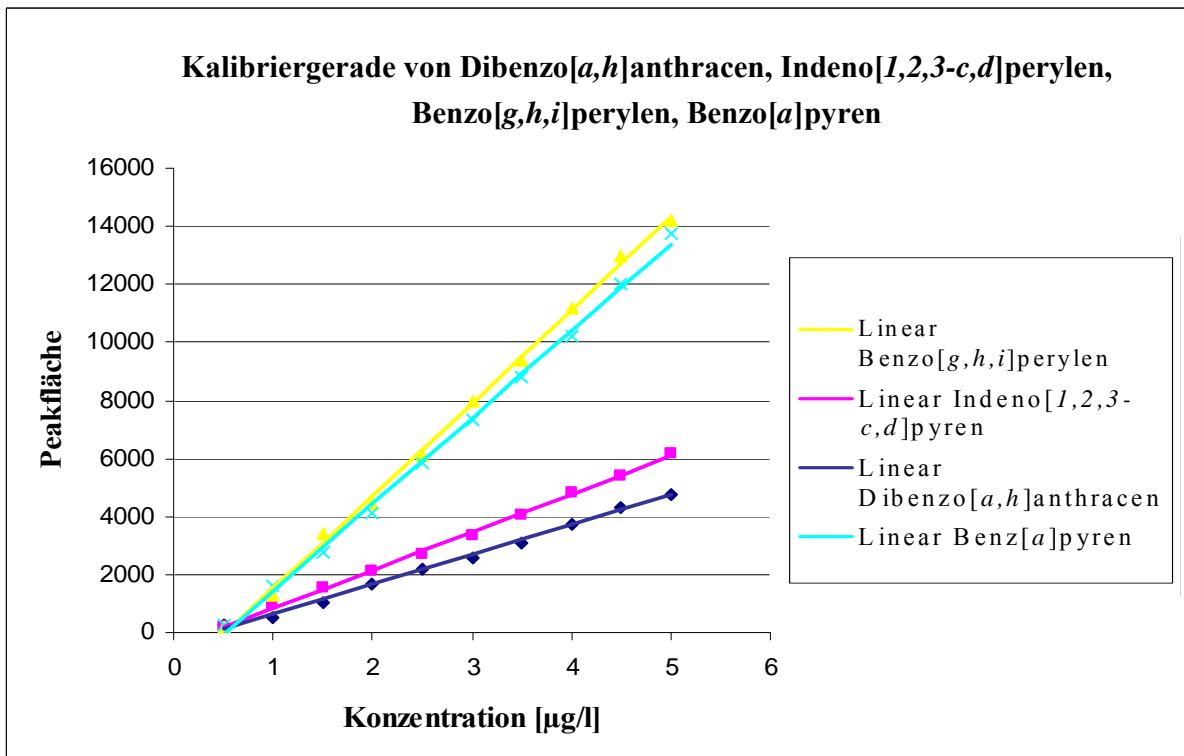


Abb. 85: Kalibriergerade von Acenaphthylen, Phenanthren, Anthracen, Fluoranthren und Pyren



Abb. 86: Kalibriergerade von Benzo[*b*]-und [*k*]fluoranthen, Benzo[*a*]anthracen und ChrysenAbb. 87: Kalibriergerade von Dibenzo[*a,h*]anthracen, Indeno[*1,2,3-c,d*]pyren, Benzo[*g,h,i*]perylen, Benzo[*a*]pyren

PAK	Tocopherol (Probe B)			
	1. Probenvorbereitung		2. Probenvorbereitung	
	GC (n=1) [µg/kg]	GCxGC (n=3) [µg/kg]	GC (n=1) [µg/kg]	GCxGC (n=3) [µg/kg]
Fluoren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Phenanthren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Anthracen	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Fluoranthren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Pyren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Benzo[a]anthracen	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Chrysen	7,14	7,11 ± 0,24	7,46	7,62 ± 0,15
Benzo[b]fluoranthren	1,51	Σ=1,7 ± 0,27	1,40	Σ=1,35 ± 0,14
Benzo[k]fluoranthren	< 0,5		< 0,5	
Benzo[a]pyren	0,59	0,56 ± 0,07	0,54	0,41 ± 0,06
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Dibenzo[a,h]anthracen	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Benzo[g,h,i]perylene	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Benzo[e]pyren	1,95	1,82 ± 0,03	2,13	1,98 ± 0,07
Perylen	< 1	< 1	< 1	< 1

Tab. 21: Vergleich der Analyse von Tocopherol (Probe B) mit GC-MS(SIM) und GCxGC(TOF)MS

PAK	Tocopherol (Probe C)			
	1. Probenvorbereitung		2. Probenvorbereitung	
	GC (n=1) [µg/kg]	GCxGC (n=3) [µg/kg]	GC (n=1) [µg/kg]	GCxGC (n=3) [µg/kg]
Fluoren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Phenanthren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Anthracen	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Fluoranthren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Pyren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Benzo[a]anthracen	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Chrysen	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Benzo[b]fluoranthren	2,28	Σ=3,34 ± 0,01	2,60	Σ=3,30 ± 0,17
Benzo[k]fluoranthren	1,03		1,12	
Benzo[a]pyren	1,71	1,79 ± 0,13	1,90	1,85 ± 0,09
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Dibenzo[a,h]anthracen	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Benzo[g,h,i]perylene	0,97	0,73 ± 0,01	1,09	0,92 ± 0,01
Benzo[e]pyren	6,67	7,47 ± 0,47	8,18	7,36 ± 0,2
Perylen	< 1	< 1	< 1	< 1

Tab. 22: Vergleich der Analyse von Tocopherol (Probe C) mit GC-MS(SIM) und GCxGC(TOF)MS

## 6.2 Ergänzende Abbildung der Amidoamine

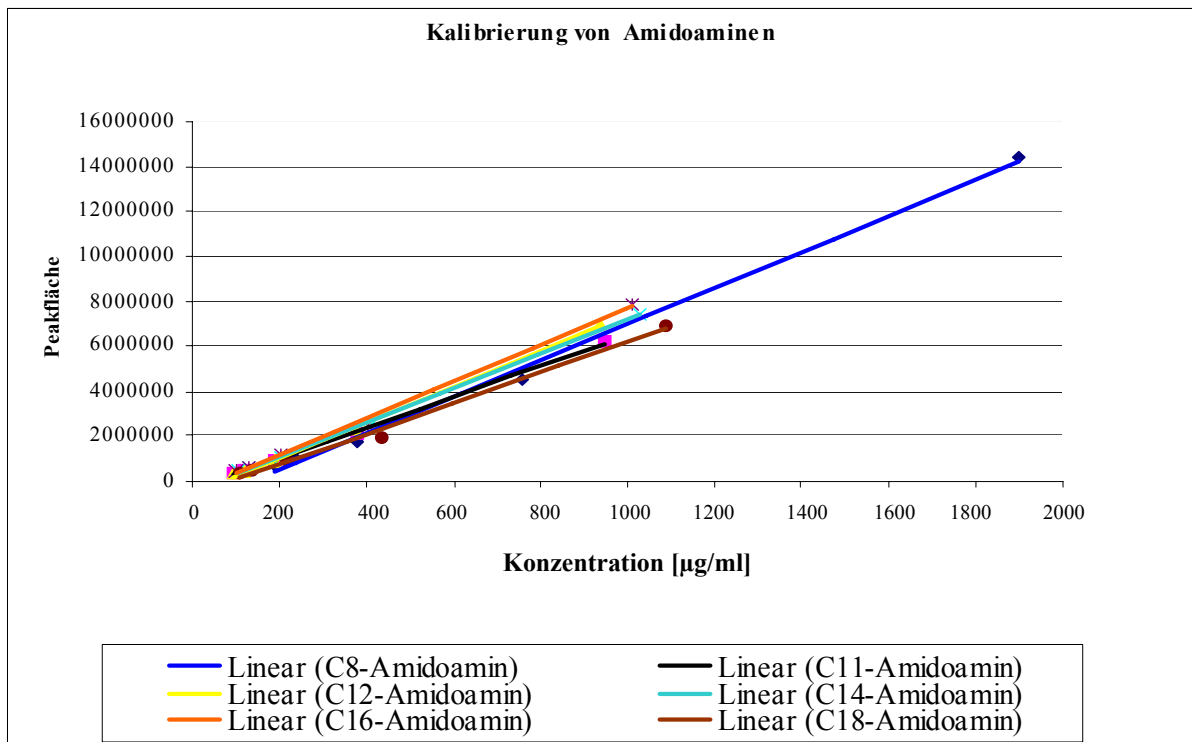


Abb. 88: Kalibriergrade von C8-C18 Amidoamine bei der Konzentration von 0,0002-0,002 g/ml

## 6.3 Ergänzende Abbildungen des „AS-Duschgels“

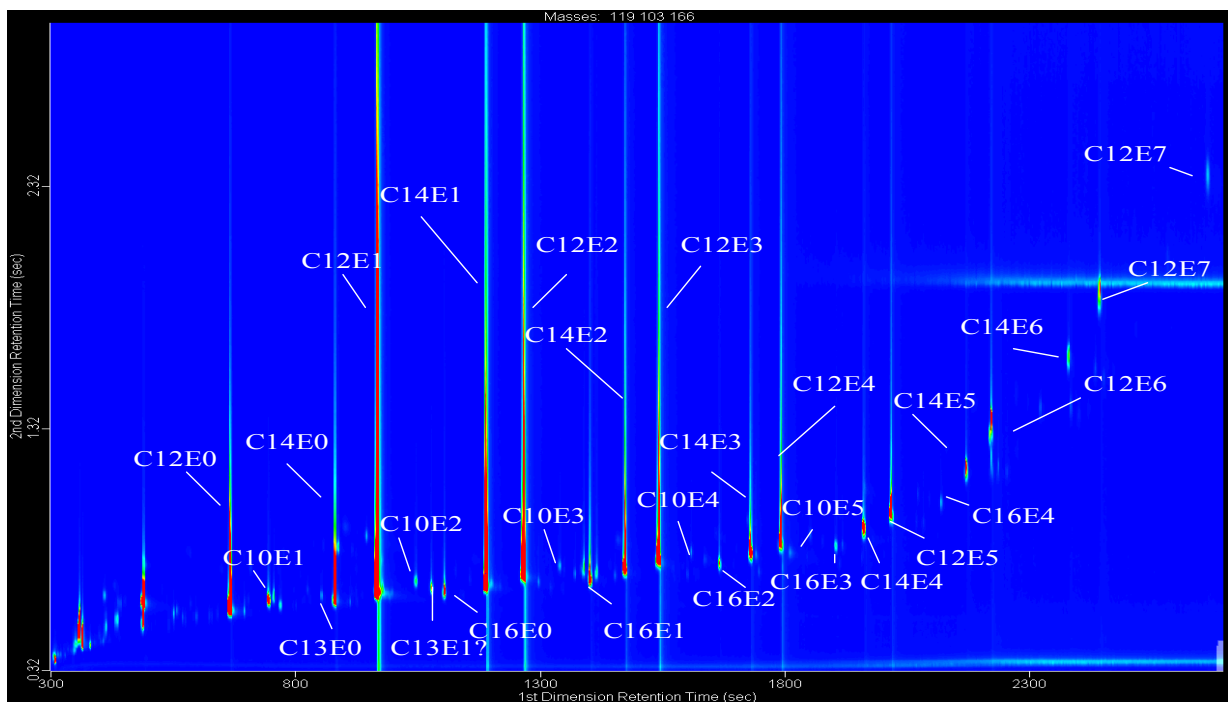


Abb. 89: 2D-Gaschromatogramm von Natrium laurylethersulfate nach Hydrolyse und Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente  $m/z = 103, 119$  und  $166$ )

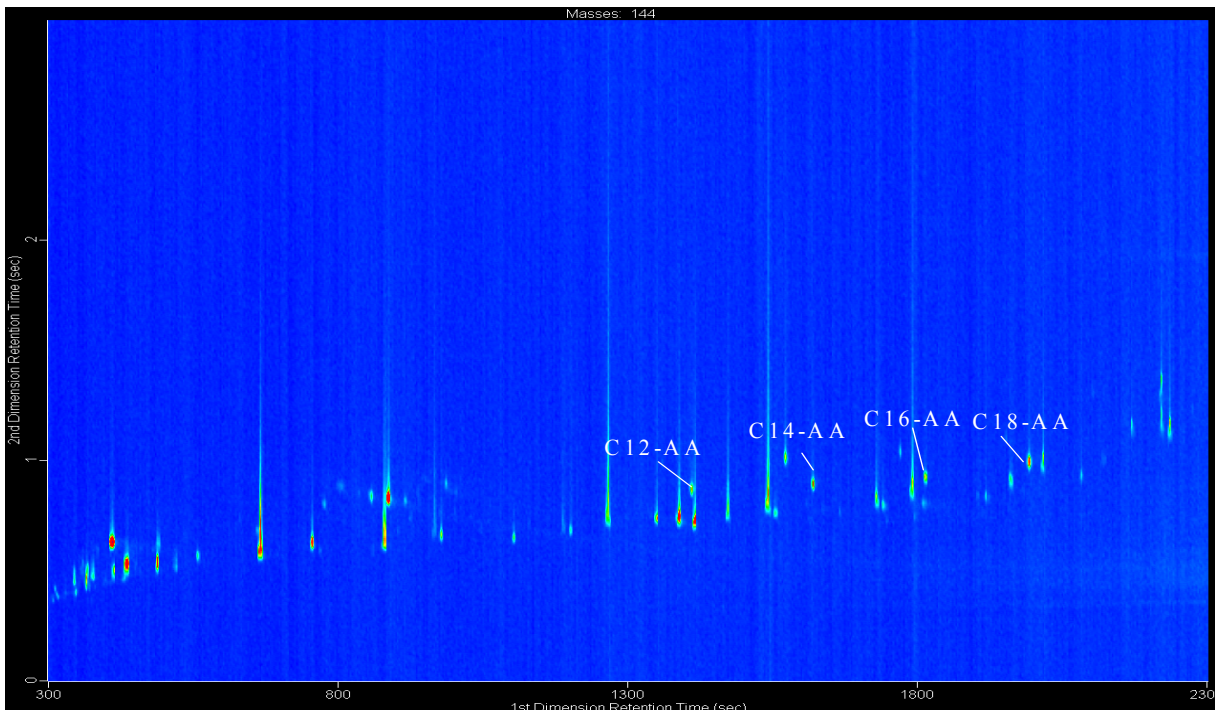


Abb. 90: 2D-Gaschromatogramm von Cocamidopropylbetaine nach Silylierung (Identifizierung anhand der gebildeten Amidoamine: AA); Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente  $m/z = 144$ )

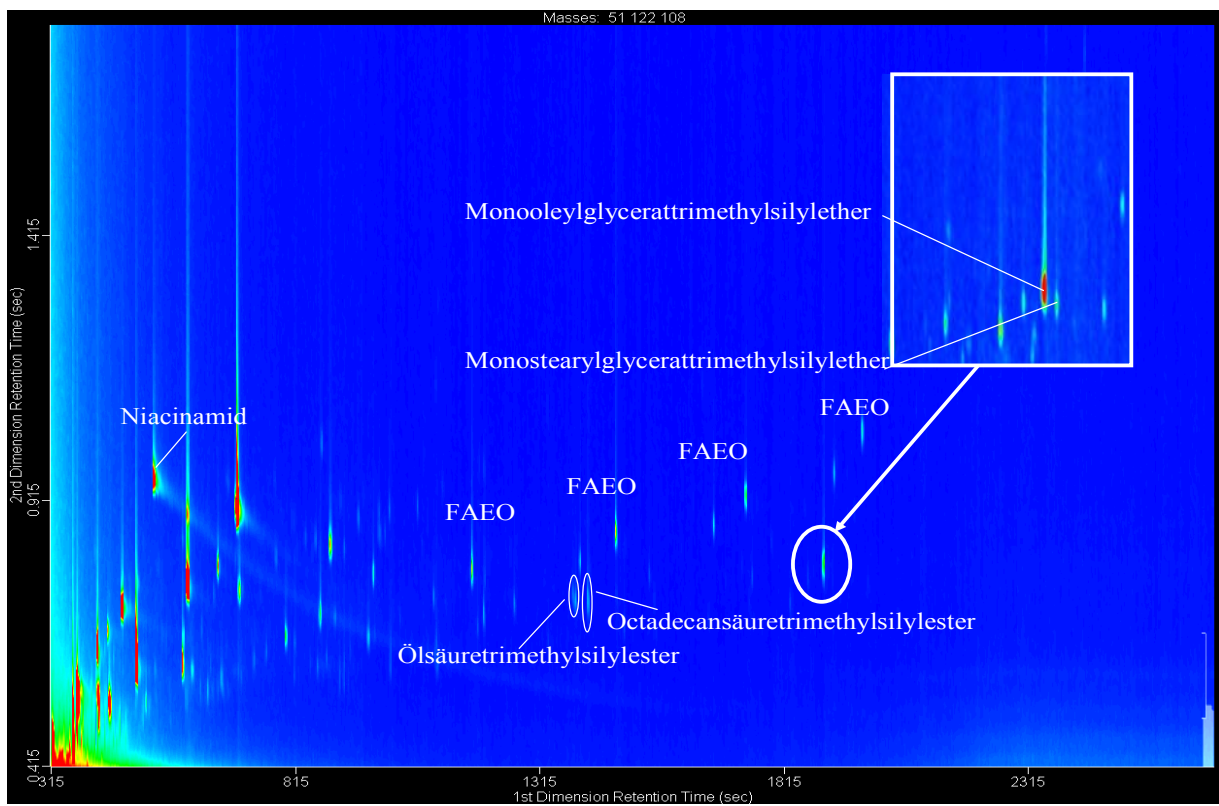


Abb. 91: 2D-Gaschromatogramm von Glyceroleat, Glycerylstearat und Niacinamid nach Hydrolyse und Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente  $m/z = 51, 108$  und  $122$ )

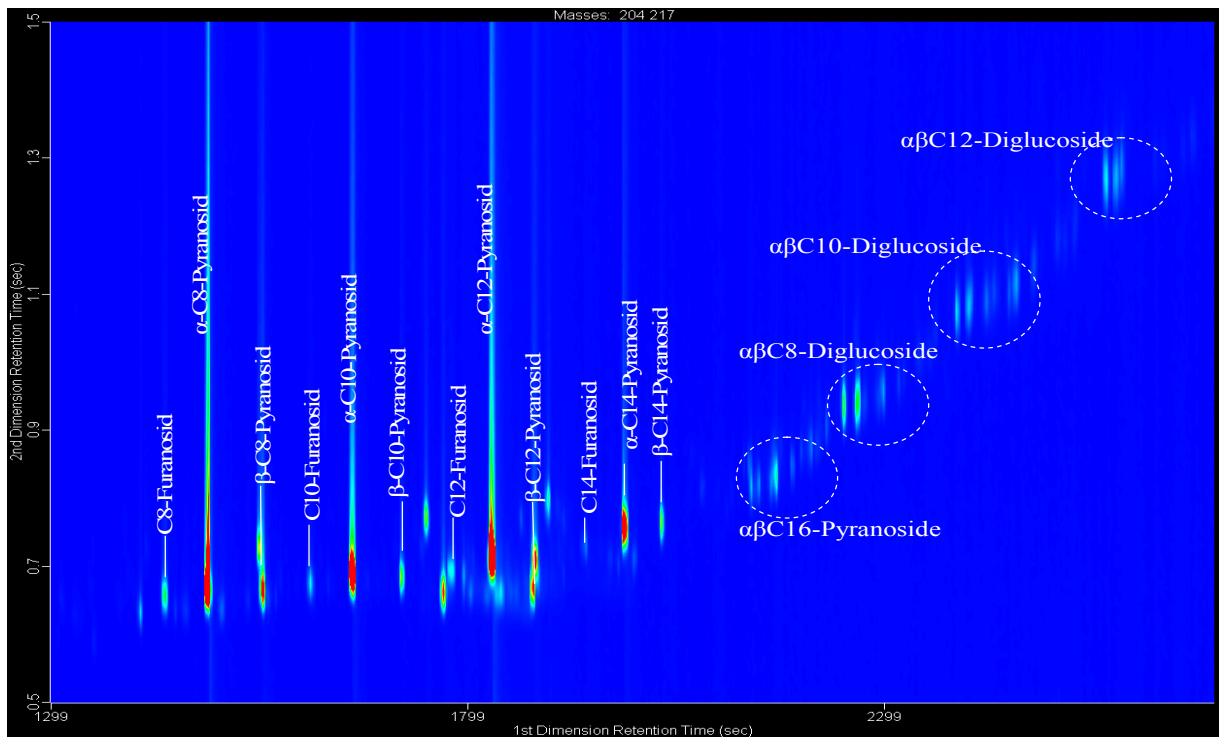


Abb. 92: 2D-Gaschromatogramm von Coco-glucoside APGs nach Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente  $m/z = 204$  und  $217$ )

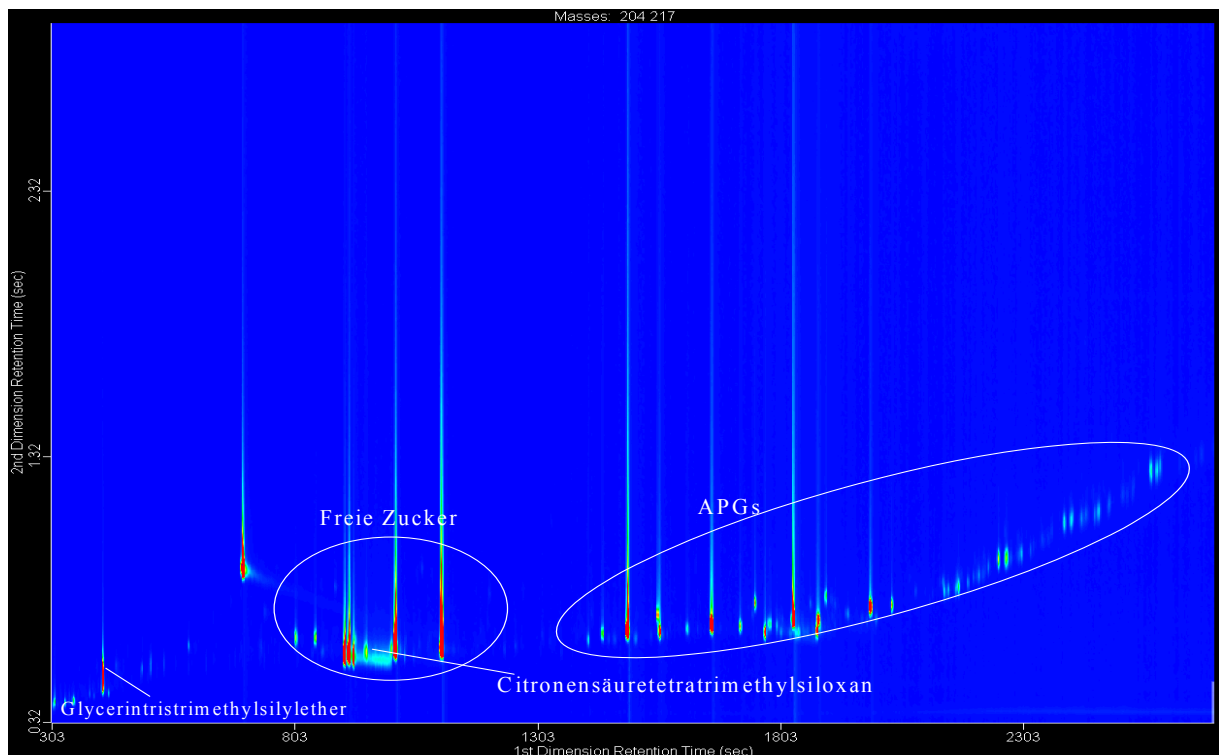


Abb. 93: 2D-Gaschromatogramm von APGs, „freie Zucker“, Citronensäure und Glycerin nach Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente  $m/z = 204$  und  $217$ )

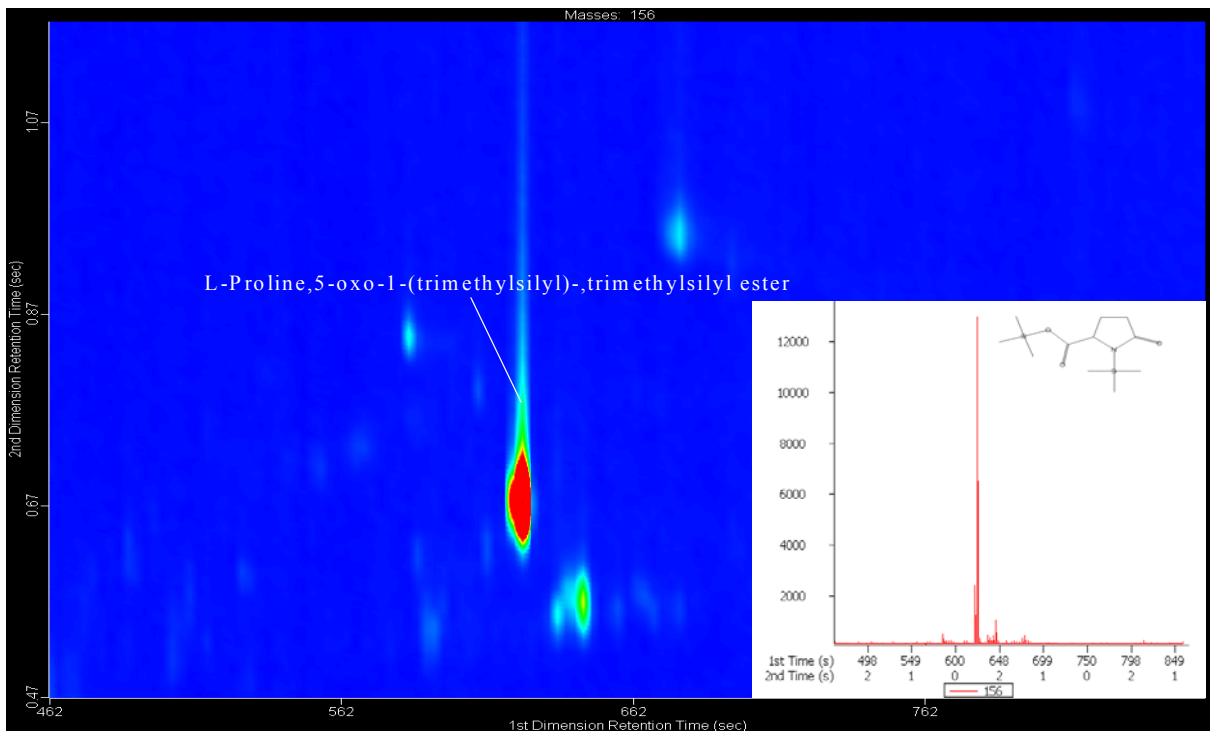


Abb. 94: 2D-Gaschromatogramm von Oxo-Prolin nach Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente  $m/z = 156$ )

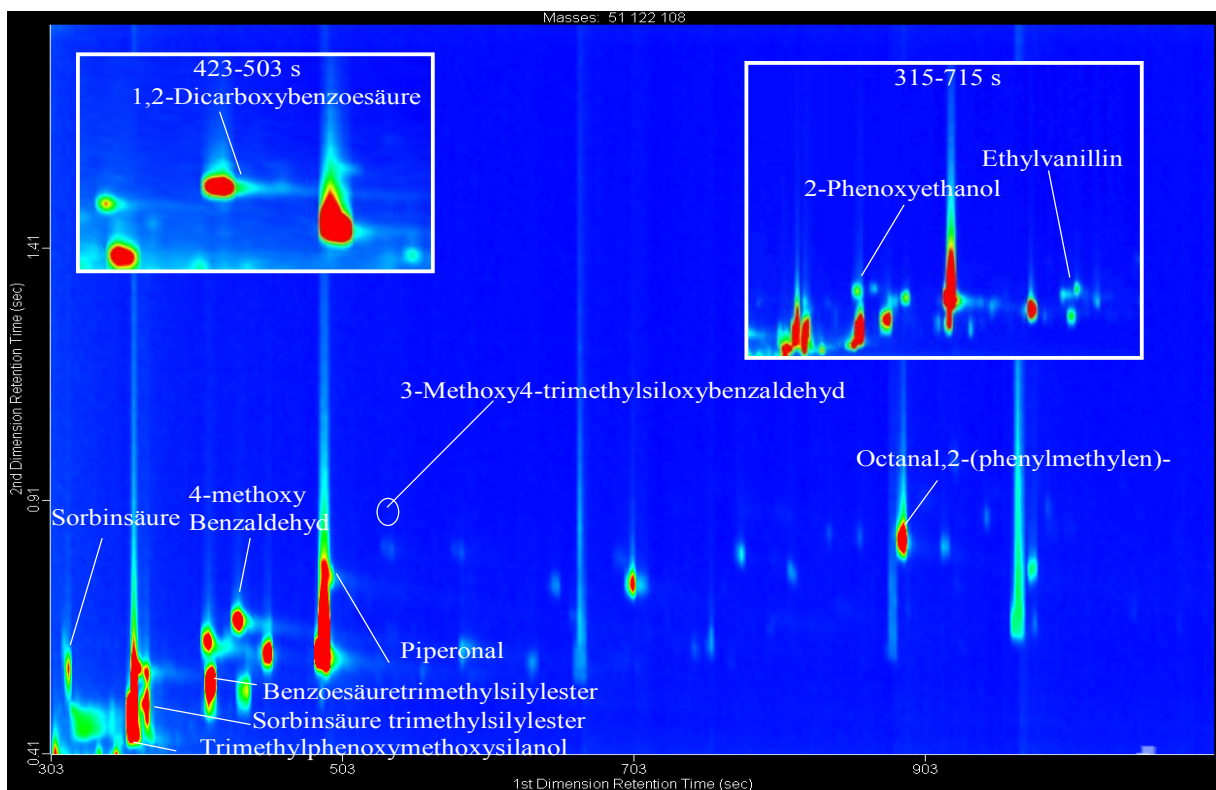


Abb. 95: 2D-Gaschromatogramm von Duftstoffen, Sorbinsäure, Benzoesäure und Phenoxyethanol nach Hydrolyse und Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente  $m/z = 51, 108$  und  $122$ )

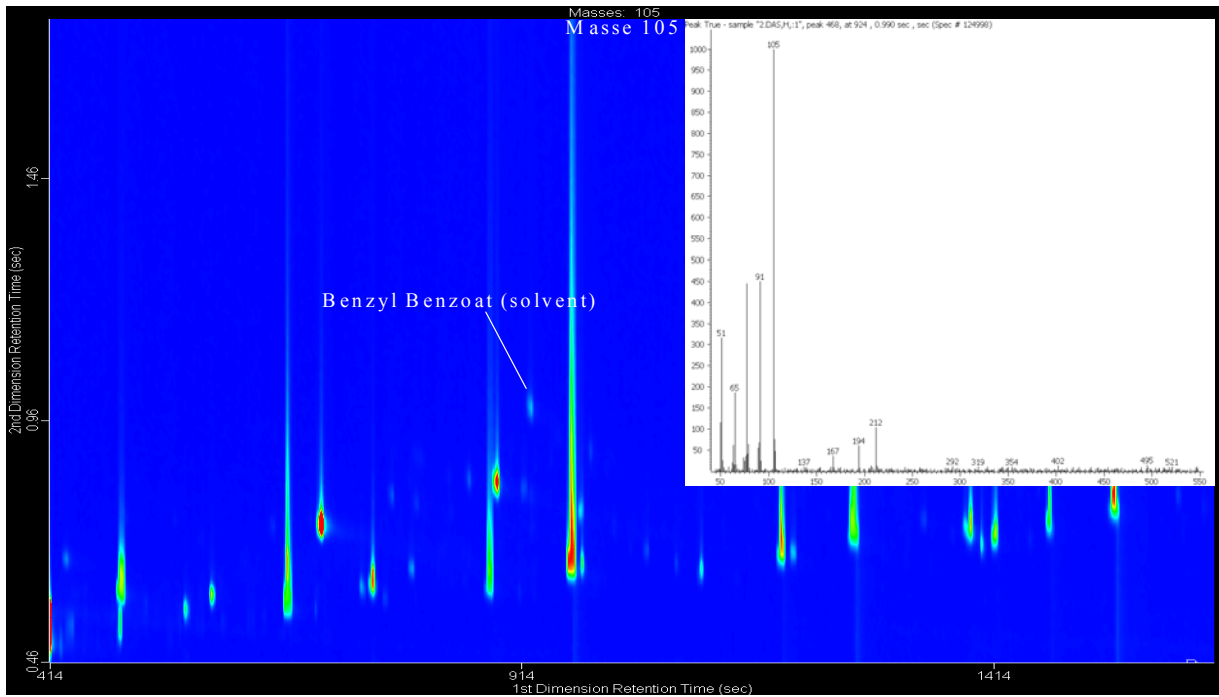


Abb. 96: 2D-Gaschromatogramm von Benzylbenzoat nach Hydrolyse und Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente  $m/z = 105$ )

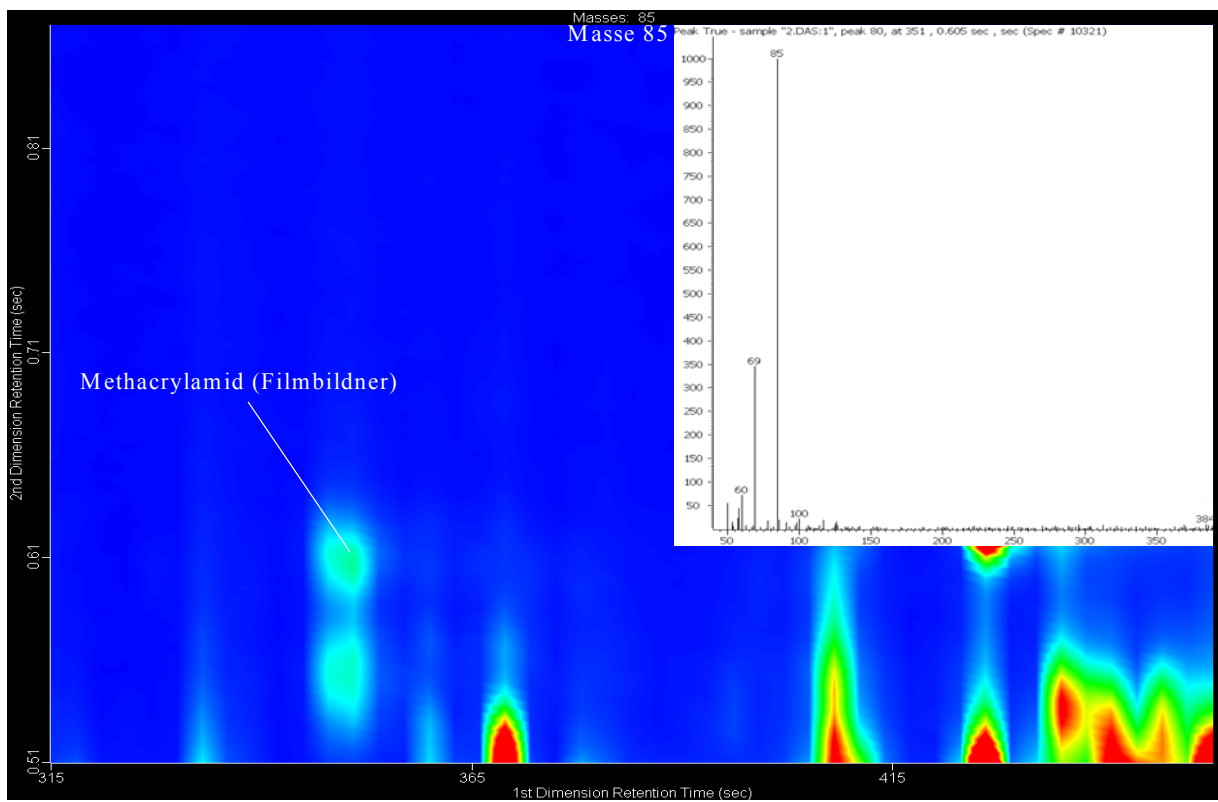


Abb. 97: 2D-Gaschromatogramm von Methacrylamid nach Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente  $m/z = 85$ )

<b>7 Abbildungsverzeichnis</b>	Seite
Abb. 1: Schema der multidimensionalen Gaschromatographie nach Deans	2
Abb. 2: Schematische Darstellung eines GCxGC-Systems	4
Abb. 3: Darstellung des GCxGC Systems mit Thermo-Sweeper	5
Abb. 4: Darstellung der Funktionsweise eines Jet-Modulators (links) und des LMCS (rechts)	7
Abb. 5: Schematische Darstellung der Peakfraktionierung in der GCxGC und die Überführung der Daten in die Plotdarstellung	11
Abb. 6: Strukturformeln der EPA-PAKs	14
Abb. 7: Stammbaum der Oleochemie	16
Abb. 8: Allgemeine Struktur der Fettalkoholethoxylate	19
Abb. 9: Schematische Darstellung der Herstellungsprozesse der FAEO	19
Abb. 10: Allgemeine Struktur der Betaine	21
Abb. 11 Übersicht über verschiedene Betainklassen	22
Abb. 12: Allgemeine Strukturformel von APGs	24
Abb. 13: Allgemeine Strukturformel der FAES	25
Abb. 14: Abhängigkeit der Peakflächen von der Injektionstemperatur	30
Abb. 15: Vergleich der Signalintensitäten von PAKs bei einer Starttemperatur von 60 °C (links) und 40 °C (rechts)	31
Abb. 16: Abhängigkeit der Peakflächen deuterierter PAKs vom eingesetzten Liner	33
Abb. 17: Analyse der PAK-Standardmischung.	35
Abb. 18: Trennung von Benzo[a]anthracen, D12-Chrysen und Chrysen	35
Abb. 19: Vergleich der Trennleistungen getesteter polarer Säulen	36
Abb. 20: Vergleich der Signalintensität von D10-Phenanthren (links) und D12-Benzo[a]pyren (rechts) bei verschiedenen Purgezeiten (rot: 40 s und grün: 60 s)	37
Abb. 21: Vergleich der Peaks von hochsiedende PAKs unter konstantem Druck und Fluss	38
Abb. 22: Schematische Darstellung einer optimalen Modulation und eines „wrap-around“ bei Signal 2 und 3 (rechts: Modulationszeit 5 s, links: Modulationszeit 4 s)	39
Abb. 23: Einfluss der Modulationszeit auf die Trennung 2,5 s (links), 3,3 s (rechts)	40
Abb. 24: Vergleich der Detektorspannung 1600 und 1800 V bei der Analyse von deuterierten PAKs	41
Abb. 25: Analyse der PAK-Standardmischung mit den optimierten Bedingungen	42
Abb. 26: Analyse von PAKs mittels GC-(TOF)MS (links) und GCxGC-(TOF)MS (rechts)	43
Abb. 27: TIC-Chromatogramm einer Tocopherol-Probe (Probe C)	45
Abb. 28: Darstellung der PAKs in einer Tocopherol-Probe (Probe C)	46
Abb. 29: Ausschnitt einer zweidimensionalen Darstellung der Analyse von Tocopherol mit Retentionszeiten und MS-Spektren zweier Probenkomponenten	47



Abb. 30: Vorbereitung der Olivenölprobe nach Larsson	50
Abb. 31: Analyse des Olivenöls mittels GCxGC-FID (links) und GCxGC-(TOF)MS (rechts)	52
Abb. 32: Darstellung der nachgewiesenen PAKs in Olivenöl mittels (GCxGC)-FID (oben) und GCxGC(TOF)MS (unten)	52
Abb. 33: Kalibriergerade für Acenaphthylen, Phenanthren, Anthracen, Fluoranthen und Pyren	54
Abb. 34: Kalibriergerade des Olivenöls mit Aufstockungsverfahren mittels GCxGC-(TOF)MS	55
Abb. 35: GCxGC-(TOF)MS-Analyse der Fettalkohole	58
Abb. 36: Gruppen von Nebenbestandteilen in einem Fettalkoholgemisch (C <sub>10</sub> -C <sub>18</sub> )	59
Abb. 37: Gruppen von Nebenbestandteilen in einem Fettalkoholgemisch (C <sub>10</sub> -C <sub>18</sub> ) nach Silylierung	61
Abb. 38: Vergleich der Massenspektren von 1- und 2-Fettalkohole (silyliert)	61
Abb. 39: EI-MS-Spektrum von 2-Undecanol bis 2-Hexandecanol nach der Silylierung	62
Abb. 40: GCxGC-(TOF)MS-Analyse der 2-Fettalkohole	63
Abb. 41: EI-MS von Decan-1,9-diol nach Silylierung	64
Abb. 42: Massenspektrum von 1-Dodecanol	66
Abb. 43: Charakteristische Fragmente von $\alpha$ -alkylsubstituierten Alkoholen	67
Abb. 44: Massenspektrum des underivatisierten Fettalkoholethoxylats C12E3	67
Abb. 45: GCxGC-(TOF)MS-Analyse von Brij 30 ohne Silylierung	68
Abb. 46: GCxGC-(TOF)MS-Analyse von Brij 30 mit Silylierung	69
Abb. 47: Fragmentierungsschema des silylierten C12E3 (MG 390 Da)	69
Abb. 48: Massenspektren der derivatisierten C10E1 bis C16E1	70
Abb. 49: Massenspektren der derivatisierten C10E2 bis C16E2	71
Abb. 50: GCxGC-(TOF)MS-Analyse von „Testshampoo“ (Cognis) nach Silylierung	72
Abb. 51: GC-FID-Analyse der Dehyton PK- und Amidoamin-Standards	74
Abb. 52: Vergleich der Massenspektren der Amidoamin-Standards C8-AA und C14-AA und der aus Dehyton K gebildeten Amidoamine	75
Abb. 53: Vergleich der GC-(TOF)MS-Chromatogramme der Amidoamin-Standards bei Injektor-temperaturen von 200 °C bzw. 320 °C	76
Abb. 54: Vergleich der GC-(TOF)MS-Chromatogramme von Dehyton PK-Standard bei Injektor-temperaturen von 200 °C bis 280 °C	76
Abb. 55: GCxGC(TOF)MS-Analyse von Dehyton PK-Standard 1:100 verdünnt	77
Abb. 56: Analyse der Fettsäuremethylester-Reihe in Dehyton PK-Standard	78
Abb. 57: Die Amidoamine-Reihe aus Dehyton PK-Standard mit zugehörigem Molekülion M <sup>+</sup> (EI) und [M+H] <sup>+</sup> (CI)	79
Abb. 58: GCxGC-(TOF)MS- und GC-CI/MS-Analyse (gelbe Beschriftung) der Esterform des C12-Betains im Dehyton PK-Standard	80
Abb. 59: EI-Massenspektrum der Esterform des C12-Betains	81

Abb. 60: Chromatogramm der Zersetzungsprodukte 1	82
Abb. 61 (oben) und Abb. 62 (unten): GCxGC-(TOF)MS und GC-CI/MS-Analyse (gelbe Beschriftung) der Zersetzungsprodukte 2 und 3	83
Abb. 63: GCxGC-(TOF)MS und GC-CI/MS-Analyse (gelbe Beschriftung) der Zersetzungsprodukt 4	84
Abb. 65: EI-Massenspektrum des C12-ZP2	87
Abb. 66: EI-Massenspektrum des C12-ZP3	87
Abb. 67: Zweidimensionale Darstellung einer GCxGC-(TOF)MS-Analyse des Dehyton-PK Standards nach Silylierung (Amide, Amidoamine, ZP3)	88
Abb. 68: Der Amidoamine und Fettsäuretrimethylsilylester in der Dehyton PK-Standard nach Silylierung	89
Abb. 69: GCxGC-(TOF)MS-Analyse der Palmolive-Aromatherapie Duschgel (Colgate-Palmolive) nach Silylierung	92
Abb. 70: 2D-Gaschromatogramm einer Mischung von APG-Standards ( $\beta$ -C-8 bis $\alpha$ - und $\beta$ -C16); EI-Spektrum von Decyl- $\beta$ -D-monoglucoopyranosid (oben rechts) nach Silylierung	93
Abb. 71: 2D-Gaschromatogramm der APGs in „Palmolive Creme-Seife“ (Colgate-Palmolive) nach Silylierung	94
Abb. 72: 2D-Gaschromatogramm des Sulfopon 1218 G-Standards nach Hydrolyse und Silylierung	95
Abb. 73: EI-Massenspektren der Fettalkoholsilane aus Sulfopon 1218 G	96
Abb. 74: EI-MS-Spektren der Fettalkoholsilane nach Hydrolyse und Silylierung des LOC Reinigers	97
Abb. 75: 2D-Gaschromatogramm des LOC-Reinigers nach Hydrolyse und Umsetzung mit unterschüssigen Silylierungsreagenz	98
Abb. 76: 2D-Gaschromatogramm von AS-Duschgel nach Hydrolyse und Silylierung	99
Abb. 77: 2D-Gaschromatogramm des Texapon N 70 nach Hydrolyse und Silylierung	100
Abb. 78: 2D-Gaschromatogramm des LOC-Reinigers nach Hydrolyse und vollständiger Silylierung (Reagenzüberschuß)	101
Abb. 79: Darstellung silylierter und nichtsilylierter FAEOs mit zugehörigen Massenspektren	102
Abb. 80: EI-Massenspektren der silylierten FAEOs (C12E2 bis C15E2)	103
Abb. 81: GCxGC-(TOF)MS-Analyse von „AS-Duschgel“, Auftragung der TIC gegen die Gesamtretentionszeit (Bild oben links)	106
Abb. 82: Kalibriergerade eines Olivenöls mit Aufstockungsverfahren mittels GCxGC-(TOF)MS	123
Abb. 83: Kalibriergerade eines Olivenöls mit Aufstockungsverfahren mittels GCxGC-FID	123
Abb. 84: Kalibriergerade von Naphthalin, Acenaphthen, Fluoren	125
Abb. 85: Kalibriergerade von Acenaphthylen, Phenanthren, Anthracen, Fluoranthen und Pyren	125
Abb. 86: Kalibriergerade von Benzo[ <i>b</i> ]- und [ <i>k</i> ]fluoranthen, Benzo[ <i>a</i> ]anthracen und Chrysen	126
Abb. 87: Kalibriergerade von Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracen, Indeno[ <i>1,2,3-c,d</i> ]pyren, Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perylen, Benzo[ <i>a</i> ]pyren	126

Abb. 88: Kalibriergrade von C8-C18 Amidoamine bei der Konzentration von 0,0002-0,02 g/ml	127
Abb. 89: 2D-Gaschromatogramm von Natrium laurylethersulfate nach Hydrolyse und Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente m/z = 103, 119 und 166)	127
Abb. 90: 2D-Gaschromatogramm von Cocamidopropylbetaine nach Silylierung (Identifizierung anhand der gebildeten Amidoamine: AA); Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente m/z = 144)	128
Abb. 91: 2D-Gaschromatogramm von Glyceryloleat, Glycerylstearat und Niacinamid nach Hydrolyse und Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente m/z = 51,108 und 122)	128
Abb. 92: 2D-Gaschromatogramm von Coco-glucoside APGs nach Silylierung; Darstellung im Selected Ion-Mode (Schlüsselfragmente m/z = 204 und 217)	129
Abb. 93: 2D-Gaschromatogramm von APGs, „freie Zucker“, Citronensäure und Glycerin nach Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente m/z = 204 und 217)	129
Abb. 94: 2D-Gaschromatogramm von Oxo-Prolin nach Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente m/z = 156)	130
Abb. 95: 2D-Gaschromatogramm von Duftstoffen, Sorbinsäure, Benzoesäure und Phenoxyethanol nach Hydrolyse und Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente m/z = 51, 108 und 122)	130
Abb. 96: 2D-Gaschromatogramm von Benzylbenzoat nach Hydrolyse und Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente m/z = 105)	131
Abb. 97: 2D-Gaschromatogramm von Methacrylamid nach Silylierung; Darstellung im Selected-Ion-Mode (Schlüsselfragmente m/z = 85)	131

<b>8 Tabellenverzeichnis</b>	Seite
Tab. 1: Zusammenfassung der Eigenschaften der verwendeten Modulatoren in der GCxGC	8
Tab. 2: Aufnahme der PAKs pro Person und Tag in England	12
Tab. 3: Genotoxizität und Kanzerogenität verschiedener PAKs	13
Tab. 4: Angewandte Methoden zur Analyse von PAKs	15
Tab. 5: Zusammensetzung der Fettsäure in verschiedenen Pflanzen	16
Tab. 6: Tensidverbrauch im Jahr 1999 in Deutschland nach [114]	18
Tab. 7: Weltweiter Verbrauch an Tensiden im Jahr 2004 nach [115]	18
Tab. 8: Zusammenfassung der Analysenmethode von FAEO	20
Tab. 9: Übersicht über verschiedene Analysenmethoden zur Bestimmung von Betainen	23
Tab. 10: Zusammensetzung der PAK-Standardmischung	34
Tab. 11: Die Analyten und die für die Auswertung herangezogenen internen Standards	44
Tab. 12: Vergleich der Analyse von Tocopherol (Probe A) mit GC-MS(SIM) und GCxGC(TOF)MS	49
Tab. 13: Zusammenfassung der Mittelwerte der Analyseergebnisse der Tocopherol-Probe A, B und C	50
Tab. 14: Zusammenfassung der ermittelten Kalibriergraden der EPA-PAKs nach DIN	53
Tab. 15: NG, BG und EG der EPA-PAKs nach DIN	54
Tab. 16: Analyseergebnisse mittels GCxGC-FID und GCxGC-(TOF)MS	56
Tab. 17: Komponenten eines Fettalkoholgemisches (Decanol bis Octadecanol) mit den zugehörigen Retentionszeiten	60
Tab. 18: Betaingehalt im Dehyton PK-Standard	91
Tab. 19: Zusammensetzung eines Duschgels	104
Tab. 20: Inhaltsstoffe des „AS Duschgel Milch & Honig“ nach Herstellerangabe	105
Tab. 21: Vergleich der Analyse von Tocopherol (Probe B) mit GC-MS(SIM) und GCxGC(TOF)MS	126
Tab. 22: Vergleich der Analyse von Tocopherol (Probe C) mit GC-MS(SIM) und GCxGC(TOF)MS	126

---

## 9 Literatur

1. Böcker J. *Chromatographie: instrumentelle Analytik mit Chromatographie und Kapillarelektrophorese*; Würzburg Vogel-Verlag **1997**
2. Pursch M., Sun K., Winniford B. et al; *Modulation techniques and applications in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC)*; Analytical and Bioanalytical Chemistry 373 (6) 356-367 **2002**
3. Lu X., Cai J.L. *Analysis of cigarette smoke condensates by comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry*; Analytical Chemistry 75(17) 4441-4451 **2003**
4. Blomberg J., Schoenmakers P.J. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC) and its applicability to the characterization of complex (petrochemical) mixtures*; Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 20 (10) 539-544 **1997**
5. Schoenmakers P.J. *Comparison of comprehensive two-dimensional gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry for the characterization of complex hydrocarbon mixtures*; Journal of Chromatography A 892 (1-2) 29-46 **2000**
6. Deans D.R. *Use of heartcutting in gas chromatography: a review*; Journal of Chromatography A 203 19-28 **1981**
7. de Geus H.J., de Boer J. *Multidimensionality in gas chromatography*; Trac-Trends in Analytical Chemistry 15 (5) 168-178 **1996**
8. Schomburg G. *2-Dimensionale Gas-Chromatography-Principles, Instrumentation, Methods*; Journal of Chromatography A 703 (1-2) 309-325 **1995**
9. MacNamara K., Leardi R.H.A. *Developments in 2-D gas chromatography with heartcutting*; LC GC North America 82-91 **2004**
10. Schomburg G. *2-Dimensionale Gas-Chromatography- Principles, Instrumentation, Methods*; Journal of Chromatography A 703 (1-2) 309-325 **1995**
11. Bertsch W. *Two-Dimensional Gas Chromatography. Concepts, Instrumentation and*

- 
- Applications-part 1: Fundamentals, Conventional Two-Dimensional Gas Chromatography, Selected Applications*; Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 22 (12) 647-665 **1999**
12. Cortes H.J., Olberding E.L. *Multi-dimensional chromatography using on-line coupled microcolumn liquid chromatography-capillary gas chromatography for quantitative pesticide residue analysis*; Analytica Chimica Acta 236 173-182 **1990**
  13. Guiddings J.C. *Multidimensionale gas chromatography*; MarcelDekker, New York **1990**
  14. Kinghorn R.M., Marriott P.J. *Multidimensional capillary gas chromatography of polychlorinated biphenyl marker compounds*; Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 19 (11) 622-626 **1996**
  15. Kannan N. *Multidimensionale GC and charcol separation techniques in the determination of non-ortho Cl chlorobiphenyls-a comparsion*; Organohalogen Compounds 2 165-168 **1990**
  16. Bartle K.D., Mondello L. *Multidimensional high resolution gas chromatography*; Multidimensional chromatography Chichester,Wiley **2002**
  17. Kopczyński S.L. *Application of multidimensional gas chromatography to analysis for nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particulate matter*; International Journal of Environmental Analytical Chemistry 30 1-13 **1987**
  18. de Boer J., de Geus H.J. *Multidimensional GC analysis of toxaphene*; Organohalogen.Compounds 26 345-350 **1995**
  19. Kinghorn R.M., Marriott P.J. *High speed cryogenic modulation - A technology enabling comprehensive multidimensional gas chromatography*; Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 22 (4) 235-238 **1999**
  20. Marriott P.J., Haglund P., Ong R.C.Y. *A review of environmental toxicant analysis by using multidimensional gas chromatography and comprehensive GC*; Clinica Chimica Acta 328 (1-2) 1-19 **2003**

- 
21. Himberg K., Sippola E. *Multidimensional gas chromatography-mass spectrometry as a method for the determination of coplanar PCB congeners*; *Organohalogen Compounds* 4 183-186 **1999**
  22. Koske G., Leupold D. *Multidimensional gas chromatographic enantiomer quantification of some polycyclic xenobiotics in cod liver and fish oils*; *Organohalogen Compounds* 35 363-366 **1998**
  23. Liu Z., Phillips J.B. *Comprehensive Two-dimensional gas chromatography using an on-column Thermal Modulator Interface*; *Journal of Chromatography Science* 29 227-231 **1991**
  24. Dalluge J., Beens J., Brinkman U.A.T. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool*; *Journal of Chromatography A* 1000 (1-2) 69-108 **2003**
  25. de Geus H.J., de Boer J., Phillips J.B. *Increased signal amplitude due to mass conservation in a thermal desorption modulator*; *Hrc-Journal of High Resolution Chromatography* 21 (7) 411-413 **1998**
  26. Phillips J.B., XU J. *Comprehensive multi-dimensional gas chromatography*; *Journal of Chromatography A* 703 327-334 **1995**
  27. Beens J., Adahchour M., Vreuls R.J.J. et al; *Simple, non-moving modulation interface for comprehensive two-dimensional gas chromatography*; *Journal of Chromatography A* 919 (1) 127-132 **2001**
  28. Phillips J.B., Gaines R.B., Blomberg F.W.M. et al; *a robust thermal modulator for comprehensive two-dimensional gas chromatography*; *Hrc-Journal of High Resolution Chromatography* 22 (1) 3-10 **1999**
  29. Phillips J.B., Liu Z. *"Chromatographic Technique and Apparatus" U.S. patent No. 5, 135, 549; 1992*
  30. Phillips J.B., Beens J. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a hyphenated method with strong coupling between the two dimensions*; *Journal of*

- 
- Chromatography A 856 (1-2) 331-347 **1999**
31. Marriott P.J. *GCxGC (short course)*; 24th International Symposium on Chromatography Leipzig **2001**
  32. Marriott P.J. *longitudinally modulated cryogenic system. A generally applicable approach to solute trapping and mobilization in gas chromatography*; Analytical Chemistry 69 2582-2588 **1997**
  33. Kinghorn R.M., Marriott P.J., Dawes P.A. *Design and implementation of comprehensive gas chromatography with cryogenic modulation*; Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 23 (3) 245-252 **2000**
  34. Kinghorn R.M., Marriott P.J. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography using a modulating cryogenic trap*; Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 21 (11) 620-622 **1998**
  35. Marriott P.J., Shellie R. *Principles and applications of comprehensive two-dimensional gas chromatography*; Trac-Trends in Analytical Chemistry 21 (9-10) 573-583 **2002**
  36. Ledford E.B., Billesbach C. *Jet-cooled thermal modulator for comprehensive multidimensional gas chromatography*; Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 23 (3) 202-204 **2000**
  37. Dalluge J., Vreuls R.J.J., Beens J. et al; *Optimization and characterization of comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection (GCxGC-TOFMS)*; Journal of Separation Science 25 (4) 201-214 **2002**
  38. Dalluge J., van Rijn M., Beens J. et al; *Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection applied to the determination of pesticides in food extracts*; Journal of Chromatography A 965 (1-2) 207-217 **2002**
  39. Fraga C.G., Prazen B.J., Synovec R.E. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography and chemometrics for the high-speed quantitative analysis of aromatic*



- 
- isomers in a jet fuel using the standard addition method and an objective retention time alignment algorithm*; Analytical Chemistry 72 (17) 4154-4162 **2000**
40. Bruckner C.A., Prazen B.J., Synovec R.E. *Comprehensive two dimensional high-speed gas chromatography with chemometric analysis*; Analytical Chemistry 70 (14) 2796-2804 **1998**
41. Seeley J.V., Kramp F.J., Sharpe K.S. *A dual-secondary column comprehensive two-dimensional gas chromatograph for the analysis of volatile organic compound mixtures*; Journal of Separation Science 24 (6) 444-450 **2001**
42. Seeley J.V., Kramp F.J., Sharpe K.S. et al; *Characterization of gaseous mixtures of organic compounds with dual-secondary column comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCx2GC)*; Journal of Separation Science 25 (1-2) 53-59 **2002**
43. Venkatramani C.J., Xu J.Z., Phillips J.B. *Separation orthogonality in temperatur-programmed comprehensive two-dimensional gas chromatography* ; Analytical Chemistry 68 (9) 1486-1492 **1996**
44. Yamagishi T., Hashimoto S., Kanai M. et al; *Identification and determination of polyoxyethylene nonionic surfactants by HPLC/atmospheric pressure chemical ionization-MS, and its application to river water samples*; Bunseki Kagaku 46 (7) 537-547 **1997**
45. Haglund P., Harju M., Danielsson C. et al; *Effects of temperature and flow regulated carbon dioxide cooling in longitudinally modulated cryogenic systems for comprehensive two-dimensional gas chromatography*; Journal of Chromatography A 962 (1-2) 127-134 **2002**
46. Korytar P., Leonards P.E.G., de Boer J. et al; *High-resolution separation of polychlorinated biphenyls by comprehensive two-dimensional gas chromatography*; Journal of Chromatography A 958 (1-2) 203-218 **2002**
47. Shellie R., Marriott P., Cornwell C. *Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC) to the enantioselective analysis of essential oils*; Journal of Separation Science 24 (10) 823-830 **2001**

- 
48. Shellie R., Marriott P.J. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography with fast enantioseparation*; Analytical Chemistry 74 (20) 5426-5430 **2002**
  49. Shellie R., Marriott P., Morrison P. *Concepts and preliminary observations on the triple-dimensional analysis of complex volatile samples by using GCxGC-TOFMS*; Analytical Chemistry 73 (6) 1336-1344 **2001**
  50. Ong R., Marriott P., Morrison P. et al; *Influence of chromatographic conditions on separation in comprehensive gas chromatography*; Journal of Chromatography A 962 (1-2) 135-152 **2002**
  51. Murphy R.E., Schure M.R., Foley J.P. *Effect of sampling rate on resolution in comprehensive two-dimensional liquid chromatography*; Analytical Chemistry 70 (8) 1585-1594 **1998**
  52. Lee A.L., Lewis A.C., Bartle K.D. et al; *A comparison of modulating interface technologies in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC)*; Journal of Microcolumn Separations 12 (4) 187-193 **2000**
  53. Shellie R., Mandelo L., Marriott P.J. et al; *Characterisation of lavender essential oils by using gas chromatography-mass spectrometry with correlation of linear retention indices and comparison with comprehensive two-dimensional gas chromatography*; Journal of Chromatography A 974(1-2) 169-184 **2002**
  54. Beens J., Blomberg J., Schoenmakers P.J. *Proper tuning of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC) to optimize the separation of complex oil fractions*; Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 23 (3) 182-188 **2000**
  55. Adahchour M., Beens J., Vreuls R.J.J *Application of solid-phase micro-extraction and comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC) for flavour analysis*; Chromatographia 55 (5-6) 357-361 **2002**
  56. Harju M., Haglund P. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC) of artopisomeric PCBs, combining a narrow bore beta-cyclodextrin column and a liquid crystal column*; Journal of Microcolumn Separations 13 (7) 300-305 **2001**

- 
57. van Stee L.L.P., Beens J., Vreuls R.J.J. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography with atomic emission detection and correlation with mass spectrometric detection: principles and application in petrochemical analysis*; Journal of Chromatography A 1019 (1-2) 89-99 **2003**
  58. van Deursen M., Beens J., Reijenga J. et al; *Group-type identification of oil samples using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to a time-of-flight mass spectrometer (GCxGC-TOF)*; Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 23 (7-8) 507-510 **2000**
  59. Dalluge J., van Stee L.L.P., Xu X.B. et al; *Unravelling the composition of very complex samples by comprehensive gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry - Cigarette smoke*; Journal of Chromatography A 974 (1-2) 169-184 **2002**
  60. Barranco A., Alonso-Salces R.M., Berrueta L.A. et al; *Comparison of two sample clean-up methodologies for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils*; Journal of Separation Science 26 (17) 1554-1562 **2003**
  61. Skoog D.A., Leary J.J. *Instrumentelle Analytik: Grundlagen-Geräte-Anwendungen*; Übers.von D.Berendel und S.Goggstetter-Kuhn Berlin Springer-Verlag **1996**
  62. LECO Corporation *Instruction Manual*; USA 7-33-**2003**
  63. Hulpke H.H. *Römpp Lexikon Umwelt*; Stuttgart Thieme Verlag. **1993**
  64. Frijus-Plessen N., Kalberlah F. *Gefährdungsabschätzung von Umweltschadstoffen*; Hrsg.Eikmann, Th. Erich Schmidt Verlag **1999**
  65. Umweltbundesamt *Human Biomonitoring: Stoffgehalte in Blut und Urin der Bevölkerung in Deutschland*; Umwelt-Survey 1998 Band III **2002**
  66. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin *Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe in olivenöhlhaltigen Fischereierzeugnissen*; **2002**
  67. Fritz H., Aulwurm U. *Automatisierte PAK-Probenvorbereitung*; LaborPraxis Juli/August

- 
- (27.Jahrgang ) 34-35 **2003**
68. WHO *Selected Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*; Environmental Health Criteria 202 **1998**
69. Geller A. *Biologische Verfahren zur Bodensanierung*; [www.ufz.de/spb/biorem/leitfaden/kap\\_212.pdf](http://www.ufz.de/spb/biorem/leitfaden/kap_212.pdf) **2005**
70. *Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit Jahresbericht*; **2001**
71. Barranco A., Alonso-Salces R.M., Bakkali A. et al; *Solid-phase clean-up in the liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils*; Journal of Chromatography A 988 (1) 33-40 **2003**
72. Camago M.C.R., Toledo M.C.F. *Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian*; Food Control 14 (1) 49-53 **2003**
73. Vaessen H.A.M.G., Wagstaffe P.J., Lindsey A.S. *Reference Materials for PAHs in Foodstuffs - Results of A Preliminary Intercomparison of Methods in Experienced Laboratories*; Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie 332 (4) 325-332 **1988**
74. Dusek B., Hajskova J., Kocourek V. *Determination of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons and their precursors in biotic matrices*; Journal of Chromatography A 982 (1) 127-143 **2002**
75. Larsson B.K., Eriksson A.T., Cervenka M. *Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons in Crude and Deodorized Vegetable-Oils*; Journal of the American Oil Chemists Society 64 (3) 365-370 **1987**
76. Guillen M.D., Sopelana P., Palencia G. *Polycyclic aromatic hydrocarbons and olive pomace oil*; Journal of Agricultural and Food Chemistry 52 (7) 2123-2132 **2004**
77. Liem A.K.D., Hoogerbrugge R., Kootstra P.R. et al; *Occurrence of Dioxins in Cows Milk in the Vicinity of Municipal Waste Incinerators and A Metal Reclamation Plant in the Netherlands*; Chemosphere 23 (11-12) 1675-1684 **1991**

- 
78. Pupin A.M., Toledo M.C.F. *Benzo(a)pyrene in Brazilian vegetable oils*; Food Additives and Contaminants 13 (6) 639-645 **1996**
  79. Chen B.H., Wang C.Y., Chiu C.P. *Evaluation of Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Meat Products by Liquid Chromatography*; Journal of Agricultural and Food Chemistry 44 (8) 2244-2251 **1996**
  80. Kipopoulou A.M., Manoli E., Samara C. *Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area*; Environmental Pollution 106 (3) 369-380 **1999**
  81. Kayali-Sayadi M.N., Rubio-Barroso S., Cuesta-Jimenez M.P. et al; *A new method for the determination of selected PAHs in coffee brew samples by HPLC with fluorimetric detection and solid-phase extraction*; Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies 22 (4) 615-627 **1999**
  82. Jira W. *A GC/MS method for the determination of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in smoked meat products and liquid smokes*; European Food Research and Technology 218 (2) 208-212 **2004**
  83. Dreyer A., Radke M. *Evaluation and optimization of extraction and clean-up methods for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in peat samples*; International Journal of Environmental Analytical Chemistry 85 (7) 423-432 **2005**
  84. Dreyer A., Blodau C., Turunen J. et al; *The spatical distribution of PAH depositions to peatlands of Eastern Canada*; Atmospheric Environment 39 (20) 3725-3733 **2005**
  85. Wells D.E. *Extraction, Cleanup and Group Separation Techniques in Organochlorine Trace Analysis*; Pure and Applied Chemistry 60 (9) 1437-1448 **1988**
  86. Cejpek K., Hajsolva J., Kocourek V. *Changes in PAH levels during production of rapese oil*; Food Additives and Contaminants 15 (5) 563-574 **1998**
  87. Vaessen H.A.M.G., Wagstaffe P.J., Lindsey A.S. *Reference Materials for Pahs in Foodstuffs - Results of A Preliminary Intercomparison of Methods in Experienced Laboratories*; Fresenius Zeitschrift fur Analytische Chemie 332 (4) 325-332 **1988**

- 
88. Vaessen H.A.M.G., Vandekamp C.G. *Reference-Material-Based Collaborative Test of Flame Atomic-Absorption Spectroscopic Determination of Calcium and Magnesium in Foods and Biological-Materials*; Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 190 (3) 199-204 **1990**
  89. Kishikawa N., Wada M., Kuroda N. et al; *Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in milk samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection*; Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences 789 (2) 257-264 **2003**
  90. Weisshaar R. *Rapid determination of heavy polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils*; European Journal of Lipid Science and Technology 104 (5) 282-285 **2002**
  91. Wheatley A.D., Sadhra S. *Use of fluorescence emission spectra for the routine identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid chromatography*; Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies 21 (16) 2509-2521 **1998**
  92. Moret S., Conte L.S. *A rapid method for polycyclic aromatic hydrocarbon determination in vegetable oils*; Journal of Separation Science 25 (1-2) 96-100 **2002**
  93. Mandalakis M., Zebuhr Y., Gustafsson O. *Efficient isolation of polyaromatic fraction from aliphatic compounds in complex extracts using dimethylformamide-pentane partitionings*; Journal of Chromatography A 1041 (1-2) 111-117 **2004**
  94. Pegliuca G. *Determination of High Molecular Mass Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in a Typical Italian Smoked Cheese by HPLC-FL*; Journal of Agricultural and Food Chemistry 51 (17) 511-515 **2003**
  95. Pupin A.M., Toledo M.C.F. *Benzo(a)pyrene in olive oils on the Brazilian market*; Food Chemistry 55 (2) 185-188 **1996**
  96. Grova N., Feidt C., Crepineau C. et al; *Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon levels in milk collected near potential contamination sources*; Journal of Agricultural and Food Chemistry 50 (16) 4640-4642 **2002**
  97. Bandh C., Ishaq R., Broman D. et al; *Separation for subsequent analysis of PCBs*,

- 
- PCDD/Fs, and PAHs according to aromaticity and planarity using a two dimensional HPLC system*; Environmental Science & Technology 30 (1) 214-219 **1996**
98. Moret S., Conte L., Dean D. *Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon content of smoked fish by means of a fast HPLC/HPLC method*; Journal of Agricultural and Food Chemistry 47 (4) 1367-1371 **1999**
99. Bogusz M.J., El Haj S.A., Ehaideb Z. et al; *Rapid determination of benzo(a)pyrene in olive oil samples with solid-phase extraction and low-pressure, wide-bore gas chromatography-mass spectrometry and fast liquid chromatography with fluorescence detection*; Journal of Chromatography A 1026 (1-2) 1-7 **2004**
100. Abdulkadar A.H.W., Kunhi A.A.M., et al *Determination of benzo(a)pyrene by GC/MS/MS in retail olive oil samples available in Qatar*; Food Additives and Contaminants 20 (129) 1164-1169 **2003**
101. Guillen M.D., Sopelana P., Partearroyo M.A. *Study of several aspects of a general method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid smoke flavourings by gas chromatography-mass spectrometry*; Food Additives and Contaminants 17 (1) 27-44 **2000**
102. Garcia-Falcon M.S., Simal-Gandara J., Carril-Gonzalez-Barro S.T. *Analysis of benzo(a)pyrene in spiked fatty foods by second derivative synchronous Spectrofluorimetry after microwave assisted treatment of samples*; Food Additives and Contaminants 17 (12) 957-964 **2000**
103. van Stijn F., Kerkoff M.A.T., et al *Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils and fats by on-line donor- acceptor complex chromatography and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection*; Journal of Chromatography A 750 263-273 **1996**
104. Perrin J.L., Poirot N., Liska P. et al; *Trace Enrichment and HPLC Analysis of PAHs in Edible Oils and Fat Products, Using Liquid-Chromatography on Electron-Acceptor Stationary Phases in Connection with Reverse Phase and Fluorescence Detection*; Fett Wissenschaft Technologie-Fat Science Technology 95 (2) 46-51 **1993**

- 
105. Moret S., Grob K., Conte L.S. *On-line high-performance liquid chromatography solvent evaporation high-performance liquid chromatography capillary gas chromatography flame ionisation detection for the analysis of mineral oil polyaromatic hydrocarbons in fatty foods*; Journal of Chromatography A 750 (1-2) 361-368 **1996**
  106. Helaleh M.I.H., Al Omair A., Nisar A. et al; *Validation of various extraction techniques for the quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges using gas chromatography-ion trap mass spectrometry*; Journal of Chromatography A 1083 (1-2) 153-160 **2005**
  107. Verband Deutscher Ölmühlen *Nachwachsende Rohstoffe*; Produkte Herstellung **2000**
  108. Umbach W. *Kosmetik Entwicklung, Herstellung und Anwendung kosmetischer mittel*; 2.erweiterte Aufl., Stuttgart Thieme **1995**
  109. Henkel KGa A *European Laboratories. Alkyl polyglycosides, renewable surfactants from coconut and corn*; Carbohydrates in Europe 18 18-27 **1997**
  110. Schrader K *Grundlage und Rezepturen der Kosmetika*; 2.Aufl. Heidelberg, Hütig **1989**
  111. Jellink J.S. *Kosmetologie*; 3.Aufl. Heidelberg, Hütig Verlag **1976**
  112. Egbert C. *Kosmetik für Apotheker*; Stuttgart, Wiss.Verl.Ges. **1989**
  113. Fey H. *Wörterbuch der Kosmetik*; 3.Aufl. Stuttgart, Wiss.Verl.-Ges. **1991**
  114. *Umwelt Bundes Amt für Mensch und Umwelt Inhaltsstoffe in Wasch- und Reinigungsmitteln; Umweltdaten Deutschland Online*; **2004**
  115. Fa.Cognis *6th world surfactant congress*; **2004**
  116. Marcomini A., Zanette M. *Chromatographic determination of non-ionic aliphatic surfactants of the alcohol polyethoxylate type in the environment*; Journal of Chromatography A 733 (1-2) 193-206 **1996**
  117. Sandra P., David F. *Microcolumn Chromatography for the Analysis of Detergents and*



- 
- Lubricants .1. High-Temperature Capillary Gas-Chromatography (Ht-Cgc) and Capillary Supercritical Fluid Chromatography (Csfc)*; Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 13 (6) 414-417 **1990**
118. Rasmussen H.T., Pinto A.M., Demouth M.W. et al; *High-Temperature Gas-Chromatography of Trimethylsilyl Derivatives of Alcohol Ethoxylates and Ethoxysulfates*; Hrc-Journal of High Resolution Chromatography 17 (8) 593-596 **1994**
119. Silver A.H., Kalinoski H.T. *Comparison of High-Temperature Gas-Chromatography and Co-2 Supercritical Fluid Chromatography for the Analysis of Alcohol Ethoxylates*; Journal of the American Oil Chemists Society 69 (7) 599-608 **1992**
120. Julia-Danes E., Casanovas A.M. *Application of mass spectrometry to the analysis of non-ionic surfactants*; Tenside Detergents 16 317-323 **1979**
121. Komarek K., Minar J., Skvarenina S. *Capillary gas chromatography of higher alkylpolyoxyethylene glycols with an even number of carbon atoms in the alkyl group - Influence of type of derivatizing agent, alcohol chain length and oxyethylene chain length on the retention indices with a linear temperature increase*; Journal of Chromatography A 727 (1) 131-138 **1996**
122. Scheidegger D.H. *Bestimmung von Alkoholpolyethoxylaten in Abwasserreinigungsanlagen mittels Gaschromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie mit chemischer Ionisation*; Dissertation Naturwissenschaften ETH Zürich 11014 1-111 **1995**
123. Evans K.A., Dubey.S.T., et al *Quatitation of Alcohol Ethoxylate Surfactants in Environmental Samples by Electrospray Mass Spectrometry*; Journal of the American Oil Chemists Society 74 765-792 **1997**
124. Kravetz L., Salanitro J.P., Dorn P.B. et al; *Influence of Hydrophobe Type and Extent of Branching on Environmental Response Factors of Nonionic Surfactants*; Journal of the American Oil Chemists Society 68 (8) 610-618 **1991**
125. Schroder H.F. *Polar, Hydrophilic Compounds in Drinking-Water Produced from Surface-Water - Determination by Liquid-Chromatography Mass-Spectrometry*; Jouranal of Chromatography 554 (1-2) 251-266 **1991**

- 
126. Schroder H.F. *Pollutants in Drinking-Water and Waste-Water*; Journal of Chromatography A 643 (1-2) 145-161 **1993**
  127. Rockwood A.L., Higuchi T. *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (LC/MS) Analysis of Non-Ionic Surfactants Using the FRIT-FAB Method*; Tenside Surfactants Detergents 29 6-12 **1992**
  128. Jandera P., Holcapek M., Theodoridis G. *Investigation of chromatographic behaviour of ethoxylated alcohol surfactants in normal-phase and reversed-phase systems using high-performance liquid chromatography mass spectrometry*; Journal of Chromatography A 813 (2) 299-311 **1998**
  129. Crescenzi C., Dicorcia A., Samperi R. et al; *Determination of Nonionic Polyethoxylate Surfactants in Environmental Waters by Liquid-Chromatography Electrospray Mass-Spectrometry*; Analytical Chemistry 67 (11) 1797-1804 **1995**
  130. Di Corcia A., Costantino A., Crescenzi C. et al; *Characterization of recalcitrant intermediates from biotransformation of the branched alkyl side chain of nonylphenol ethoxylate surfactants*; Environmental Science & Technology 32 (16) 2401-2409 **1998**
  131. Schreiber A., Efer J. *Identifizierung und Quantifizierung anionischer und nichtionischer Tenside*; GIT Fachzeitschrift für das Laboratorium 42 1050-1055 **1998**
  132. Schroder H.F. *Surfactants - Non-Biodegradable, Significant Pollutants in Sewage-Treatment Plant Effluents - Separation, Identification and Quantification by Liquid-Chromatography, Flow-Injection Analysis Mass-Spectrometry and Tandem Mass-Spectrometry*; Journal of Chromatography A 647 (2) 219-234 **1993**
  133. Castillo M., Alonso M.C., Riu J. et al; *Identification of polar, ionic, and highly water soluble organic pollutants in untreated industrial wastewaters*; Environmental Science & Technology 33 (8) 1300-1306 **1999**
  134. Grant S.C., Blackband S.J. *Osmolyte Distribution and Diffusion in Isolated Single Neurons*; Proceedings of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine 10 **2002**

- 
135. Bessieres M.A., Gibon Y., Lefeuvre J.C. et al; *A single-stop purification for glycine betaine determination in plant extracts by isocratic HPLC*; Journal of Agricultural and Food Chemistry 47 (9) 3718-3722 **1999**
  136. Colmer T.D., Corradini F., Cawthray G.R. et al; *Analysis of dimethylsulphoniopropionate (DMSP), betaines and other organic solutes in plant tissue extracts using HPLC*; Phytochemical Analysis 11 (3) 163-168 **2000**
  137. Farnum C.E., Lee R., O'Hara K. et al; *Volume increase in growth plate chondrocytes during hypertrophy: The contribution of organic osmolytes*; Bone 30 (4) 574-581 **2002**
  138. Kikuchi N., Matsuno K., Miki T. *Separation and Determination of Betaine in An Oriental Medicine by Liquid-Chromatography*; Analytica Chimica Acta 283 (1) 338-343 **1993**
  139. Mar M.H., Ridky T.W., Garner S.C. et al; *A Method for the Determination of Betaine in Tissues Using High-Performance Liquid-Chromatography*; Journal of Nutritional Biochemistry 6 (7) 392-398 **1995**
  140. Nyssola A., Kerovuoto J., Kaukinen P. et al; *Extreme halophiles synthesize betaine from glycine by methylation*; Journal of Biological Chemistry 275 (29) 22196-22201 **2000**
  141. Subbarao G.V., Wheeler R.M., Levine L.H. et al; *Glycine betaine accumulation, ionic and water relations of red-beet at contrasting levels of sodium supply*; Journal of Plant Physiology 158 (6) 767-776 **2001**
  142. Robertson D.E., Noll D., et al. *Detection of osmoregulator betaine in methanogens*; Applied and Environmental Microbiology (Feb) 563-565 **1990**
  143. Motta A., Romano I., Gambacorta A. *Rapid and sensitive NMR method for osmolyte determination*; Journal of Microbiological Methods 58 (2) 289-294 **2004**
  144. Fan T.W.M., Colmer T.D., Lane A.N. et al; *Determination of Metabolites by H-1-NMR and GC-Analysis for Organic Osmolytes in Crude Tissue-Extracts*; Analytical Biochemistry 214 (1) 260-271 **1993**
  145. Hanson A.D., Gage D.A. *Identification and determination by fast atom bombardment*

- 
- mass spectrometry of the compatible solute cholin-O- sulfate in Limonium species and other halophytes*; Australian Journal of Plant Physiology (18) 317-327 **1991**
146. Maffei Facino R., Carini M., et al. *Direct analysis of different classes of surfactants in raw material and in finished detergent formulations by fast atom bombardment mass spectrometry*; Biological Mass Spectrometry 18(9) 673-689 **1989**
147. Hitz W.D., Hanson A.D. *Determination of glycine betaine by pyrolysis gas chromatography in cereals and grasses*; Phytochemistry 19 2371-2374 **1980**
148. Nishimura N., Zhang J., Abo M. et al; *Application of capillary electrophoresis to the simultaneous determination of betains in plants*; Analytical Sciences 17 (1) 103-106 **2001**
149. Zhang J., Nishimura N. *Development of an analytical method for the determination of betains in higher plants by capillary electrophoresis at low pH*; Phytochemical Analysis 13 189-194 **2002**
150. Hirokawa T., Okamoto H., Xu Z. *High-sensitive analysis by capillary electrophoresis and microchip electrophoresis using on-line preconcentration methods* ; Bunseki Kagaku Abstracts 52 (12) **2003**
151. Koc H., Mar M.H., Ranasinghe A. et al; *Quantitation of choline and its metabolites in tissues and foods by liquid chromatography/electrospray ionization-isotope dilution mass spectrometry*; Analytical Chemistry 74 (18) 4734-4740 **2002**
152. Shin Y.G., Cho K.H., Kim J.M. et al; *Determination of betaine in Lycium chinense fruits by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry*; Journal of Chromatography A 857 (1-2) 331-335 **1999**
153. Eichhorn R., Knepper T.P. *Electrospray ionization mass spectrometric studies on the amphoteric surfactant cocamidopropylbetaine*; Journal of Mass Spectrometry 36 (6) 677-684 **2001**
154. Wood K.V., Bonham C.C., Miles D. et al; *Characterization of betains using electrospray MS/MS*; Phytochemistry 59 (7) 759-765 **2002**

- 
155. Ibarra E., Valencia O., Perez H. *Analysis of betaines using near infrared spectroscopy*; Journal of Near Infrared Spectroscopy 13 133-138 **2005**
  156. Fischer E. *Über die Glucoside der Alkohole*; Chemische Berichte 26 2400-2412 **1893**
  157. Hill K., von Rybinski W., Stoll G. *Alkyl Polyglycosides, Technology, Properties and Applications*; Weinheim VCH **1997**
  158. Marl Hüls AG *Produktinformation Glucoside*; Datenblatt 24 **1995**
  159. Kosswig K., Stache H. *Die Tenside*; München Carls Hanser Verlag **1993**
  160. Evans H.M., Emerson O.H., Emerson G.A. *The Isolation from Wheat germ oil of an alcohol, alpha-tocopheroö, having the properties of vitamin E*; Journal of Biological Chemistry 319-32, 113 **1936**
  161. Bockisch M. *Handbuch der Lebensmitteltechnologie, Nahrungsfette und -öle*; (Stuttgart, Ulmer) **1993**
  162. Hugger H. *Sonnenblumen - Züchtung, Anbau, Verarbeitung*; Stuttgart Ulmer Verlag **1989**
  163. *Personliche Mitteilung Frau Schittko*; **2005**
  164. *Verordnung (EG) Nr. 208/2005 Der Kommission vom 4. Februar 2005*; Brüssel Amtsblatt der Europäischen Union **2005**
  165. Ligon A.P. *Entwicklung von Methoden der schnellen GC und CI-MS zum Einsatz in der Prozeß- und Produktanalytik von Fettalkoholen, Fettsäuren und Fettsäuremethylestern*; Dissertation Naturwissenschaften Wuppertal **2001**
  166. Asmussen C. *Chemische Charakterisierung von Alkylethoxylaten*; Dissertation Naturwissenschaften Berlin D83 **2000**
  167. *The Merck Index*; Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, NJ Twelfth Edition **1996**