

Projekt: Diverse algemene activiteiten

Onderwerp: Verslag van het "Fifth international symposium on capillary chromatography" Riva del Garda (Italië), april 26-28, 1983.

Samenvatting:

Tijdens het symposium werden 20 lezingen en ca. 80 posters gepresenteerd, waarbij de volgende onderwerpen van de capillaire chromatografie behandeld werden:

1. Trends and developments in capillary columns and stationary phases.
2. Analysis of industrial and environmental samples.
3. Sampling and trace analysis.
4. Capillary liquid chromatography  
(super critical fluid chromatography).
5. Capillary chromatography in natural product and food research.
6. Instrumentation.

De teksten van de lezingen en van de posters zijn verschenen in een symposiumboek dat ter inzage ligt op de afdeling Contaminanten, terwijl deze teksten eind 1983 gepubliceerd zullen worden in "The Journal of Chromatography".

Door ondergetekende werd een poster getiteld "Procedure for the gas-chromatographic mass spectrometric confirmation of some exogene growth promoting compounds in urine of cattle" gepresenteerd.

Tevens werd een tentoonstelling gehouden van apparatuur etc. door een 25-tal fabrikanten.

Op 1983-04-29 werd een bezoek afgelegd aan Carlo-Erba een Italiaanse fabrikant van gaschromatografische systemen.

Inleiding:

Het "Fifth international symposium on capillary chromatography" is een vervolg op de zogenaamde Hindelange symposia, welke een zeer grote faam genieten. Daar capillaire chromatografie destijds door slechts weinigen gebezigd werd, en de symposia door een kleine groep specialisten bezocht werd, lag het accent, blijkens de literatuur, voornamelijk op de hardware (het maken van kolommen, bevestigen, injectiesystemen etc.).

Echter na 1975 is capillaire chromatografie een ingeburgerde techniek geworden, waarvoor commerciële apparatuur te kust en te keur te koop is.

Vooal na de introductie van de, gemakkelijker hanteerbare, "fused silica" kolommen heeft deze chromatografische techniek een zeer grote vlucht genomen. Het symposium werd dan ook bezocht door ruim 400 deelnemers.

In dit verslag zullen enkele voor het RIKILT van belang zijnde, hetzij op korte - hetzij op lange termijn, onderwerpen kort besproken worden.

1. Trends and developments in capillary columns and stationary phases

- Op het gebied van de capillaire kolommen voeren de "fused silica" kolommen, blijkens de lezingen en de posters, de boventoon ten opzichte van glazen kolommen. Op het gebied van de stationaire fase kan tegenwoordig gekozen worden uit een groot scala, zowel apolaire als polaire fasen kunnen probleemloos toegepast worden.
- Een nieuwe trend op dit gebied werd gepresenteerd door Schutjes (blz. 29 symposiumboek), namelijk het gebruik van capillaire kolommen met een zeer kleine inwendige diameter (tot 50  $\mu\text{m}$ , momenteel is standaard 250  $\mu\text{m}$ ).

Het voordeel van deze kleine inwendige diameter is een zeer hoog schotelgetal  $10^5$  en dus een zeer hoog scheidend vermogen terwijl de analysetijd klein is.

Een nadeel is de extreem hoge druk welke voor dit type kolommen noodzakelijk is (afhankelijk van de lengte 10-80 atm), welke met de gebruikelijke apparatuur niet te verwezenlijken is. Door de fa. Chrompack is een compromis ontwikkeld namelijk kolommen met een inwendige diameter van 100  $\mu\text{m}$ , waarmee schotelgetallen van 10.000/-meter behaald kunnen worden.

Met Chrompack is afgesproken dat het RIKILT een prototype ter beschikking krijgt, zodat nagegaan kan worden wat de bruikbaarheid onder praktijkomstandigheden is onder andere voor de PCB analyse.

- Door diverse symposia deelnemers werd de reproduceerbaarheid van bepaalde kolommen zeer geroemd o.a. J en W. In verband met de automatisering door middel van dataverwerking is dit zeer belangrijk en er zal dan ook door het RIKILT aandacht aan geschonken moeten worden.
- Door Ahnhoff (blz. 55) werd een methode beschreven om het kwantitatieve aspect van capillaire kolommen te testen. Alhoewel dergelijke tests door ons routinematig uitgevoerd worden, kunnen enkele aspecten uit de methode van Ahnhoff wellicht aan onze testprocedure toegevoegd worden.

## 2. Analysis of industrial and environmental samples

- Door Konimar (blz. 180) werd een verhaal over de analyse van PCB's in sediment gehouden. Daar het RIKILT zich intensief bezighoudt met deze problematiek zal deze presentatie zorgvuldig bestudeerd worden. Opvallend was het verschil qua kwantificering via "splitless" en "on column" injectie wat door Konimar werd gerapporteerd. Splitless hoger dan on column.

Afspraken met betrekking tot het uitwisselen van informatie zijn gemaakt.

- Door Stan en medewerkers werden drie posters met betrekking tot de analyse van residuen van pesticiden gepresenteerd (blz. 189: 203 en 557). Stan maakt onder andere gebruik van een twee dimensionaal gaschromatografisch systeem (Sichromat: fa. Siemens). Door retentietijden op twee kolommen te vergelijken (Linked retention time) en/of door vergelijking van de respons op verschillende detectoren kan de identificatie van pesticiden beter uitgevoerd worden dan met een enkelkolomssysteem.

Het betreft hier een volautomatisch geavanceerd systeem waarmee door Stan goede resultaten werden geboekt. Een dergelijk systeem zou ook binnen het RIKILT zinvol toegepast kunnen worden.

De ontwikkeling op dit gebied zal dan ook nauwlettend gevolgd worden.



- Door Simone (blz. 211) werd een poster met betrekking tot de analyse van PCB's gepresenteerd.  
Op het eerste gezicht leek het verhaal de trend van de bepaling van individuele componenten, zoals door ons voorgesteld, te volgen maar was echter niet volledig.  
Toegezegd is om enkele RIKILT publicaties over dit onderwerp toe te zenden.
- Door Wells (blz. 357) werd een poster gepresenteerd met betrekking tot het gebruik van interne standaarden. Daar dit onderwerp binnen de afdeling Contaminanten de laatste tijd een punt van discussie is kunnen de resultaten van Wells mogelijk direct toegepast worden.

### 3. Sampling on Trace analysis

- Door onder andere Grob (blz. 254) en Pretorius (blz. 892) werd het zogenaamde "solvent effect" aan de orde gesteld.  
Het "solvent effect" wil zeggen wat de rol is van het oplosmiddel op de chromatografische piek zowel positief als negatief. Alhoewel dit onderwerp nogal theoretisch en vaak abstract is bevatten de lezingen en de achteraf gehouden discussie enkele elementen welke in de praktijk toegepast kunnen worden, onder andere het opsplitsen van pieken ten gevolge van een te lage oventemperatuur bij begin van de analyse etc.
- Ook op het gebied van de on-column injectie techniek waren nogal wat nieuwtjes te zien.  
Bij de on column injectie techniek wordt het te analyseren monster direct door middel van een injectienaald als vloeistof in de kolom gebracht (= kwantitatieve injectie techniek).  
Tot nu toe waren er slechts drie fabrikanten met dergelijke systemen op de markt onder andere Carlo Erba (systeem in gebruik op de afdeling Contaminanten).  
Naast enkele commercieel leverbare systemen onder andere Chrompack, SGE en Varian welke vrij duur zijn wordt onder andere door Sandra (blz. 315); Schomburg (blz. 280); Geeraert en Sandra (blz. 346) aangegeven dat met in eigen beheer vervaardigde systemen goede resultaten behaald kunnen worden. In het kader van het vet en olie onderzoek is met name het verhaal van Geeraert en Sandra (blz. 346) interessant.

- Door Vogt (blz. 592) werd een injectiesysteem beschreven waarbij het mogelijk is om 100  $\mu$ l monster (20x meer dan onder standaard omstandigheden mogelijk) te injecteren op een klein voorkolommetje. Na de injectie op de koude voorkolom wordt het oplosmiddel afgeblazen terwijl de componenten op de voorkolom vastgehouden worden. Aansluitend wordt de voorkolom snel verhit en een normale GC analyse kan uitgevoerd worden. Het lijkt met deze injectie techniek mogelijk een ca. 20x lagere detectiegrens te bereiken hetgeen voor sommige van de door het RIKILT uit te voeren analyses zeer interessant is. De toepassingsmogelijkheden voor het RIKILT dienen dan ook op korte termijn nagegaan te worden.
- Op het gebied van de selectieve monsternamen onder andere Thermodesorptie, topgas en microdestillatie werden enkele nieuwe methoden gepresenteerd. Alhoewel met uitzondering van de thermodesorptie techniek deze aanpakken op korte termijn niet direct binnen het RIKILT toegepast zullen worden, zullen de presentatie's van onder andere Gagliardi (blz. 418) Chialva (blz. 430) en Kolb (blz. 441) op lange termijn zeer bruikbaar blijken te zijn.

#### 4. Capillary liquid chromatography

- Capillaire vloeistof chromatografie is een techniek, die door een groot aantal mensen nogal kritisch wordt benaderd vanwege problemen met voornamelijk de hardware. Het is bij deze techniek onder meer noodzakelijk dat men beschikt over pompen welke een flow van 1-50  $\mu$ l/min zeer nauwkeurig en reproduceerbaar kunnen leveren alsmede detectoren voorzien van cuvetten met een volume < 1  $\mu$ l. Mijns inziens is deze techniek binnen het RIKILT alleen (voorlopig) zinvol toepasbaar in combinatie met een massaspectrometer. Ten einde in de toekomst van deze techniek gebruik te kunnen maken is de afgelopen jaren de literatuur op dit gebied bijgehouden en konden dan ook tijdens het symposium geen nieuwe gezichtspunten ontdekt worden.
- Supercritical liquid chromatography. Dit is een techniek welke mijns inziens in de praktijk niet of nauwelijks toepasbaar is, althans voor laboratoria zoals het RIKILT.

Men brengt bij deze techniek een gas of vloeistof juist boven het kritieke punt ( $> P$  en  $> T$ ) zodat er geen onderscheid gemaakt kan worden tussen gas en vloeistof en gebruikt dit fluid als eluent. Zie onder andere presentaties van Novotny (blz. 901) en Fjeldsted (blz. 749 en 756).

#### 5. Capillary chromatography in natural product and food research

- Tijdens deze sessie werd een lezing door Badings van het NIZO (blz. 543) met betrekking tot de analyse van vetzuren gepresenteerd. Hierin werd ondermeer melding gemaakt van een ringonderzoek waarin onder andere het RIKILT heeft geparticipeerd. De tekst van deze lezing is dan ook doorgegeven aan de betrokken afdeling.
- Door Frank (blz. 600) werd een methode bescheven om enantiomeren van aminozuren en analoge verbindingen te scheiden. Frank stelt dat deze techniek superieur is aan de conventionele methode waarbij ionenchromatografie als voorzuivering toegepast dient te worden. De tekst van deze lezing zal ter beoordeling aan de betrokken afdeling binnen het RIKILT overhandigd worden.
- Tijdens deze sessie werd door ondergetekende een Poster gepresenteerd (zie later).

#### 6. Instrumentation

- Door Smith (blz. 800) werd een lezing gepresenteerd met betrekking tot GC-FTIR. Er werden enkele applicaties beschreven waarbij naast de FTIR als GC detector gewerkt werd met een FID. Afhankelijk van de te onderzoeken component is het mogelijk vrij lage concentraties (10 tot 100x hoger dan bij GC/MS) te meten. Uiteraard is het noodzakelijk dat de component één of meerdere karakteristieke groepen (bijvoorbeeld Hydroxyl, carbonyl etc.) bevat. Enkele problemen welke in de toekomst opgelost dienen te worden zijn de gevoeligheid, ontleding in de cel, geometrie van de lichtpijp etc. Alhoewel deze techniek nog niet geheel volmaakt is, lijkt het mij zinvol de vorderingen welke gemaakt worden binnen het RIKILT door middel van een werkgroep te volgen.
- Door Leclerq (blz. 763) werd een lezing gepresenteerd over de verwerking van het detectorsignaal na capillaire chromatografie.



Een probleem bij capillaire chromatografie is het feit dat pieken vaak te snel gegenereerd worden om door versterkers en datasystemen verwerkt te worden.

Alhoewel het een vrij technisch (electronica) verhaal betrof is het voor gebruikers van moderne chromatografische systemen zeer aan te bevelen dit verhaal te bestuderen.

#### Instrumenten tentoonstelling

Door een aantal fabrikanten werden nouveautés gepresenteerd.

- Carlo-Erba introduceerde hun nieuwe GC type 5000 welke geënt is op de 4600 serie waarbij de bediening nu geschiedt door middel van een micro-processor. Dit nieuwe type GC werd na afloop van het symposium uitvoerig bekeken tijdens een bezoek aan de fabriek van Carlo-Erba.
- Door Finnigan werd een selectieve mass detector gepresenteerd. Het hart van deze machine bestaat uit een cyclotron waarmee spectra van 10-650 amu kunnen opgenomen worden.

De kosten van dit systeem inclusief IBM microcomputer bedraagt ca. f 95.000,--.

- Een nieuwe firma op de GC markt is Orion-analytica. Men heeft een gaschromatograaf ontwikkeld waarbij na injectie het monster gesplitst wordt over twee kolommen en de componenten hetzij door twee identieke hetzij door twee verschillende detectoren gemeten worden.

Door vooraf cq. parallel een mengsel van interne standaarden te analyseren en door dit mengsel aan het monster toe te voegen kunnen van de te meten componenten retentie indices berekend worden. Deze indices worden dan vergeleken met gegevens in een bibliotheek waarna automatisch een identificatie plaatsvindt alsmede een quantificatie. Het systeem is mijns inziens zeer goed toepasbaar daar waar een groot aantal monsters geanalyseerd dienen te worden. Door vergaande automatisering vooral op het gebied van identificatie en quantificatie, ook geschikt voor complexe analysis zoals bijvoorbeeld de PCB analyse, kan zeer veel tijd bespaard worden.

#### Poster presentatie

Door ondergetekende werd een poster gepresenteerd getiteld "Procedure for the gaschromatographic mass spectrometric confirmation of some exogene growth promoting compounds in urine of cattle".

Alhoewel het een gespecialiseerd onderwerp betrof trok de poster een redelijke belangstelling.

Met name de door ons ontwikkelde drastische voorzuivering via GPC of extrelut kolommen in combinatie met een twee dimensionaal vloeistof chromatografisch systeem kreeg ruime aandacht.

Immers deze voorzuivering is, met kleine modificaties, algemeen toepasbaar voor zuivering van biologische stoffen. Tevens werden contacten gelegd met o.a. Van Luchene uit België en Uralest uit Rusland beide deskundigen op het gebied van steroïden.

Hun interesse gold naast de opwerking ook de massaspectrometrische analyse van exogene anabolica en de door ons, algemeen geldende, criteria.

Ook bleek dat er binnen het RIKILT een leemte is op het gebied van het gedrag van anabolica in vivo (o.a. metabolisme). Men kon mij vertellen dat experimenteel vastgesteld was dat  $17 \alpha$  methyltestosteron omgezet wordt tot de overeenkomstige tetra hydro verbinding een en ander in tegenstelling tot het door ons gerapporteerde. Met name Uralets beschikt over uitgebreide gegevens hierover welke wij te zijner tijd zullen ontvangen.

Gezien deze mededeling lijkt het mij zinvol om een zoals eerder op projektvergaderingen, door de afdeling Contaminanten, voorgestelde studie naar het gedrag van anabolica (accent op metabolisme) te starten.

Ook beschikt Uralets over gegevens met betrekking tot het ook bij de paardensport als doping gebruikte middel nortestosteron en metaboliëten van nortestosteron.

Ook deze gegevens zullen te zijner tijd aan het RIKILT ter beschikking worden gesteld.

1983-05-18

W.A. Traag



cc. directeur, sektorhoofd (2x), direktie VKA, afd. Contaminanten (5x)  
afd. De Ruig, afd. Diergeneesmiddelen, afd. Zware Metalen, afd.  
Koolhydraten en Vetchemie, afd. Additieven en Vitaminen, Projekt-  
administratie, afd. Normalisatie.