

# Die umfassende zweidimensionale Gaschromatographie – eine neue Dimension für analytische Trennwissenschaften

Cornelia Meinert und Uwe J. Meierhenrich\*

Analytische Methoden · Gaschromatographie ·  
Komplexe Proben · Massenspektrometrie

Professor Volker Schurig gewidmet

**D**ie umfassende zweidimensionale Gaschromatographie ermöglicht gegenüber jedweder eindimensionalen Trennmethode eine erhöhte Auflösung und eine verbesserte Identifizierung organischer Analyten in komplexen Mischungen. Ursprünglich zum Auflösen hochkomplexer Erdölproben eingeführt, zogen die enorme Trennleistung und die Möglichkeit zum Gewinn weiterer strukturrelevanter Informationen über die Analyten schnell das Interesse von Analytikern verschiedener wissenschaftlicher Disziplinen auf sich. In diesem Kurzaufsatzz stellen wir die zugrundeliegende Theorie, jüngste Fortschritte und zukünftige instrumentelle Entwicklungen der umfassenden zweidimensionalen Gaschromatographie sowie ausgewählte Anwendungen vor.

## 1. Einleitung

Seit 1951 wird die Gaschromatographie (GC) in der analytischen Chemie als Trennmethode eingesetzt.<sup>[1]</sup> Einige Jahre nach Einführung der GC ermöglichte es die Entwicklung der Kapillartrennsäule<sup>[2]</sup> (einer Kapillare, deren innere Oberfläche einen Film der stationären Phase trägt), Analyten gaschromatographisch in scharfe und oft Basislinien-getrennte Signale aufzulösen. Infolge dieser rasanten Entwicklung der Kapillartrennsäulen-Gaschromatographie – eines Quantensprungs in den analytischen Trennwissenschaften – sind heutzutage etwa 400 000 Gaschromatographen weltweit in Anwendung. Der zweite Quantensprung der gaschromatographischen Techniken findet in heutiger Zeit mit der Einführung der mehrdimensionalen Gaschromatographie statt. Durch das Koppeln zweier stationärer Phasen in Reihe ist es nunmehr möglich, Analyten zu trennen, die sich mithilfe konventioneller, eindimensionaler Gaschromatographie (1D)-GC nicht hatten auflösen lassen. Mehrdimensionale gaschromatographische Trennverfahren finden sich entweder

in Form der Zielkomponenten-Schnitt(„heart-cut“)-zweidimensionalen (2D-)Gaschromatographie oder in jener der umfassenden zweidimensionalen Gaschromatographie (GC × GC).<sup>[3]</sup> Zielkomponenten-Schnitt-2D-GC transferiert ein Gemenge von Analyten selektiv von der primären Kapillartrennsäule (<sup>1</sup>D, erste Dimension) auf eine sekundäre Kapillartrennsäule (<sup>2</sup>D, zweite Dimension), indem ein Ventil oder Deans Switch verwendet wird. Der chromatographische Teilabschnitt von Eluenten der ersten Säule, der auf die zweite Säule gegeben wird, wird als Zielkomponenten-Schnitt oder „heart-cut“ bezeichnet. Die 2D-GC ist zum Analysieren und Isolieren von Zielverbindungen geeignet, die in komplexen Mischungen vorliegen; sie hat deutlich zur Erhöhung der Auflösung gaschromatographischer Methoden beigetragen. Im Unterschied dazu überläuft in der GC × GC – der jüngsten und leistungsvollsten zweidimensionalen gaschromatographischen Trennmethode – die gesamte Probe beide stationären Phasen. Der Schlüssel einer GC × GC-Methode liegt in ihrem Modulationsprozess. Dabei werden Segmente von Analyten sequenziell und kontinuierlich mithilfe eines Modulators von der ersten Kapillartrennsäule auf die zweite Kapillartrennsäule gegeben.

Heute wird die umfassende zweidimensionale Gaschromatographie bereits in modernen Laboratorien zur Detektion und Quantifizierung von Analyten und Kontaminanten im Spurenbereich für diverse Proben eingesetzt. Besonders zeichnet sich die GC × GC bei der Analytik komplexer Pro-

[\*] Dr. C. Meinert, Prof. Dr. U. J. Meierhenrich  
Institut de Chimie de Nice ICN, UMR CNRS 7272  
Université de Nice-Sophia Antipolis, Faculté des Sciences  
Parc Valrose, 06108 Nizza (Frankreich)  
E-Mail: uwe.meierhenrich@unice.fr  
Homepage: <http://www.unice.fr/meierhenrich/>

ben aus. Zu den prominentesten Anwendungen zählen die Analysen von Erdölen in der Petrochemie,<sup>[4]</sup> Boden-, Wasser- und Luftproben innerhalb der Umweltchemie,<sup>[5]</sup> Nährstoffproben in der Lebensmittelchemie,<sup>[6]</sup> ätherischen Ölen<sup>[7]</sup> und Absoluten in der Aroma und Parfümindustrie<sup>[8,9]</sup> sowie verschiedenen Metaboliten in der Biochemie.<sup>[10]</sup> Die Kopplung der GC × GC mit Massenspektrometern oder Flammenionisationsdetektoren eröffnet interessante Anwendungen für die qualitative und quantitative Bestimmung von Zielkomponenten.

Dieser Kurzaufsatz fasst nicht ausschließlich jüngste Anwendungen der GC × GC zusammen – er schildert vielmehr den Stand der Technik der umfassenden mehrdimensionalen Gaschromatographie. Konzeptionelle Entwürfe, die zur Realisierung der kontinuierlichen mehrdimensionalen Gaschromatographie entwickelt worden sind, werden vorgestellt. Unser Interesse gilt auch jüngsten Fortschritten sowie Einschränkungen der GC × GC.

## 2. Grundlagen der mehrdimensionalen Gaschromatographie

Die Entwicklung umfassender mehrdimensionaler Trenntechniken war ein historischer Meilenstein in der Entwicklung der Chromatographie. Seit dem ersten Vorschlag einer solchen Technik von Giddings<sup>[11]</sup> im Jahre 1984 wurden große Fortschritte in Theorie und Praxis gemacht. Das viel beachtete, erste umfassende zweidimensionale Gaschromatogramm wurde 1991 an einer Ölprobe aufgenommen.<sup>[12]</sup> Komplexe Proben, die oft mehrere Tausend Komponenten samt Isomeren enthalten, die sich zudem in einem weiten Konzentrations- und Flüchtigkeitsbereich befinden, sind eine anspruchsvolle Aufgabe für die Routineanalytik. Die Auflösung und die Identifizierung aller Komponenten waren oft unrealistisch, besonders unter Verwendung der klassischen 1D-GC. Der revolutionäre Aspekt der neuen GC × GC-Methode ist, dass alle Analyten einer Probe auf zwei verschiedenen Kapillartrennsäulen komplementärer Selektivität getrennt werden können, was eine optimierte Auflösung zur Folge hat. Die hohe Auflösung in Kombination mit einer dritten Dimension, wie etwa der Massenspektrometrie, machen aus der GC × GC eine der leistungsfähigsten Trennmethoden zur chemischen Analyse von flüchtigen und schwerflüchtigen organischen Verbindungen. Apparative Details der



**Uwe J. Meierhenrich** studierte Chemie an der Philipps-Universität Marburg. Nach der Promotion an der Universität Bremen bei Prof. Wolfram H.-P. Thiemann identifizierte er Aminosäuren in einem künstlichen Kometen am Max-Planck-Institut für Sonnensystemforschung in Katlenburg-Lindau und am C.B.M. in Orléans in Vorbereitung auf die Kometenmission Rosetta. 2005 wurde er als Professor an die Universität Nizza-Sophia Antipolis berufen. 2011 erhielt er den Horst-Pracejus-Preis der GDCh für seine Arbeiten zur Chiralität und enantioselektiven Chromatographie.

GC × GC und ihre Anwendung zur Analyse komplexer Matrices wurden kürzlich in Artikeln zusammengefasst, die die Grundlagen dieser Technik schildern.<sup>[13,14]</sup>

In der idealen zweidimensionalen Gaschromatographie ist die Signalkapazität  $n_c$  das mathematische Produkt aus den Signalkapazitäten erster und zweiter Dimension [Gl. (1)].<sup>[15]</sup>

$$n_{c,\text{GC}\times\text{GC}} = {}^1n_c \cdot {}^2n_c \quad (1)$$

$n_c$  beschreibt die maximale Zahl von Signalen in einem chromatographischen System, die in einem beliebigen Zeitintervall unter einer definierten Mindestauflösung  $R_S$  bestimmt werden kann.  $R_S \geq 1.5$  ist für die meisten Anwendungen akzeptabel und entspricht einer Signalbreite – ausgedrückt als Standardabweichung ( $\sigma$ ) für ideale Gaußsche Signalformen – von  $6\sigma$ .

### 2.1. Die umfassende Trennung

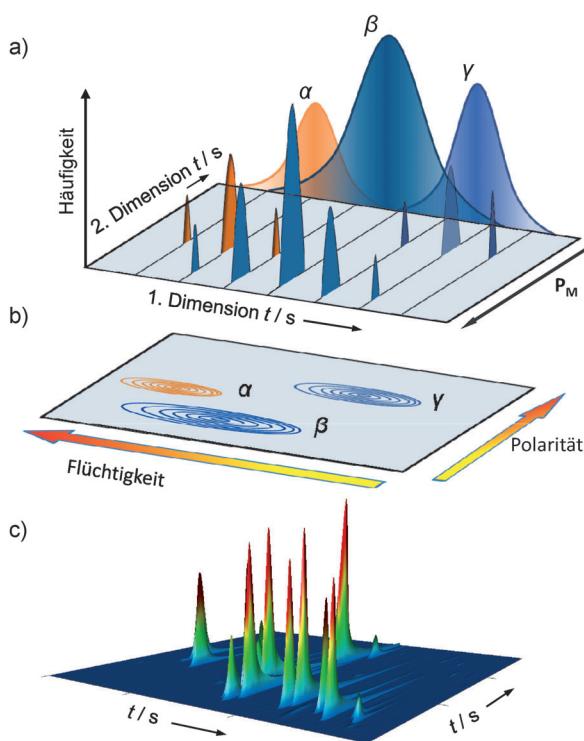
Der Modulationsprozess, der zwei Kapillartrennsäulen mit unterschiedlichen stationären Phasen miteinander verbindet, ist in der GC × GC von grundlegender Bedeutung. Obzwar der Modulationsprozess durch verschiedene apparative Maßnahmen erreicht werden kann, bleibt das grundlegende Prinzip identisch. Der Modulator, der zwischen zwei Kapillartrennsäulen platziert ist, bewirkt, dass (idealerweise) die Gesamtmenge aller Analyten, die aus der ersten Kapillartrennsäule eluiert, periodisch zurückgehalten und in Form scharfer Banden in die zweite Kapillartrennsäule injiziert wird. Das Signal eines Analyten, der aus der ersten Kapillartrennsäule eluiert, wird dabei in mehrere Segmente geschnitten; jedes dieser Segmente wird individuell über die zweite Dimension eluiert. In einigen GC × GC-Instrumenten ist die zweite Kapillartrennsäule in einem separaten Ofen samt Gehäuse untergebracht, was eine flexible und unabhängige Kontrolle ihrer Temperatur möglich macht. Durch GC × GC kann eine bessere Auflösung erzielt werden, denn die Analyten werden zwei unabhängigen Trennungen unterzogen, wodurch Coelutionen, die durch identische Retentionszeiten an beiden stationären Phasen verursacht werden, unwahrscheinlich werden.

Die Zeit, die für einen Modulationszyklus erforderlich ist, wird als Modulationsperiode  $P_M$  bezeichnet und beträgt im Allgemeinen 2–8 s. Die Modulationsperiode sollte kleiner



**Cornelia Meinert** erhielt 2004 das Diplom in Chemie an der Universität Leipzig, wo sie in der organischen und Umweltchemie tätig war. Nach der Promotion mit einer Arbeit über die Charakterisierung komplexer Umweltproben mithilfe Effekt-orientierter Analytik und präparativer Kapillar-Gaschromatographie am Helmholtz-Zentrum für Umweltwissenschaften in Leipzig wurde sie 2009 Postdoktorandin in der Arbeitsgruppe von Prof. Meierhenrich an der Universität Nizza-Sophia Antipolis. Ihre Forschungen befassen sich mit Enantiomerentrennungen mithilfe von GC × GC.

sein als die über die  $^1\text{D}$ -Kapillartrennsäule erzielte Signalbreite eines Analyten, sodass a) mehrere Segmente (Schnitte) pro Analyt erhalten werden und b) damit die Auflösung der  $^1\text{D}$ -Kapillartrennsäule nicht konterkariert wird. Die optimale Leistungsfähigkeit der umfassenden  $\text{GC} \times \text{GC}$  wird erreicht, sofern pro Analyt mindestens drei Modulationen pro  $1\text{D}$ -Signal erzielt werden können.<sup>[13]</sup> Basierend auf der Modulationsperiode wird der zeitabhängige Datenstrom am Detektor in eine zweidimensionale Retentionsfläche, das so genannte Konturdiagramm, konvertiert. Dessen Achsen werden durch die beiden Retentionszeiten ( $1\text{D}$ -Zeit  $\times$   $2\text{D}$ -Zeit) dargestellt.<sup>[12]</sup> Das Ergebnis dieses kontinuierlichen Modulationsprozesses ist in Abbildung 1b wiedergegeben.



**Abbildung 1.** Illustration eines  $\text{GC} \times \text{GC}$ -Chromatogramms. a) Chromatographische Signale ( $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ ) einer typischerweise unpolaren  $^1\text{D}$ -Kapillartrennsäule werden sequenziell über eine definierte Modulationsperiode ( $P_M$ ) in Segmente geschnitten. Hier nicht aufgelöste Analyten werden mithilfe einer im Allgemeinen polaren, kurzen Micro-Bore- $^2\text{D}$ -Kapillartrennsäule getrennt. b) Der Datenfluss des Detektors wird gewöhnlich in einem 2D-Konturdiagramm wiedergegeben oder zeigt c) Signallängen im 3D-Format in Form konischer Signale.

Als Kapillartrennsäule in der zweiten Dimension wird in der  $\text{GC} \times \text{GC}$  in der Regel eine kurze  $^2\text{D}$ -Säule (1–2 m) mit kleinem Innendurchmesser (ca. 0.1 mm) und kleiner Filmdicke verwendet, da die  $\text{GC} \times \text{GC}$ -Technik wie beschrieben auf der schnellen Analyse akkumulierter Segmente pro Analyt beruht. Als Kapillartrennsäule in der ersten Dimension fungiert gewöhnlich eine konventionelle Säule (ca. 25 m), um eine klassische 1D-Elution zu gewährleisten. Idealerweise eluieren die Analyten von der zweiten Kapillartrennsäule innerhalb einer Modulationsperiode. In diesem Fall kann eine Überlagerung mit Signalen aus einer späteren Modulation

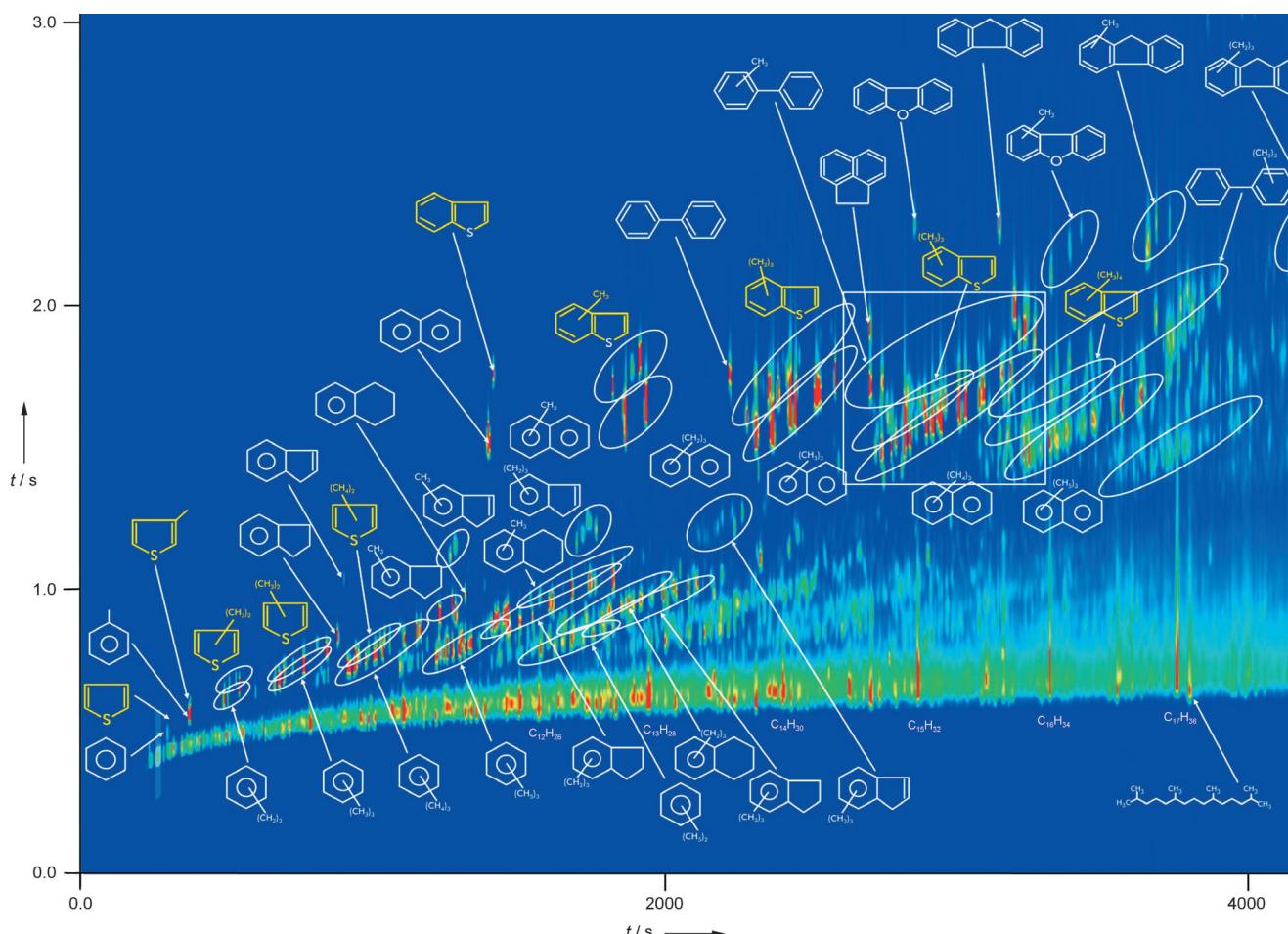
vermieden werden, ein Phänomen, das als Signalumbruch („wrap-around“) bezeichnet wird. Signalumbrüche sind in aller Regel zu vermeiden. Sofern Umbruchsignale nicht mit anderen Analyten coeluieren oder interferieren, können sie toleriert werden.

Wie in Abbildung 1 angedeutet, fokussiert der Modulator die Analyten aus der  $^1\text{D}$ -Kapillartrennsäule, bevor er sie auf die  $^2\text{D}$ -Kapillartrennsäule weiterleitet; die Signalbreiten werden dadurch verkleinert. Der fokussierende Effekt bewirkt, zusammen mit einer minimalen Signalverbreiterung auf der zweiten Kapillartrennsäule, das Auftreten scharfer, hoher Signale und führt damit zu verbesserten Bestimmungsgrenzen.<sup>[16,17]</sup> Eine übliche Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses liegt bei einem Faktor von 5–10, abhängig von der Akquisitionsrate des Detektors, dem Modulatorsystem, der Charakteristik der zweiten Kapillartrennsäule (Länge, Innendurchmesser, stationäre Phase), der Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases und dem Temperaturprogramm. Ein anderer wesentlicher Vorteile der Spurenanalytik mit  $\text{GC} \times \text{GC}$  gegenüber der mit  $1\text{D}$ -GC ist, dass erstere strukturierte Chromatogramme liefert, die Interferenzen in Form von Signalüberlagerungen und mitextrahierten Matrixverunreinigungen minimieren. Zudem ist in der  $\text{GC} \times \text{GC}$  das Rauschen der Basisfläche minimal, was die Integration der Signale vereinfacht.

## 2.2. Strukturierter Trennraum in $\text{GC} \times \text{GC}$ -Chromatogrammen

Die umfassende  $\text{GC} \times \text{GC}$ -Analyse bietet nicht nur eine bessere Auflösung von Analyten bezüglich des chromatographischen Rauschens und coeluiender Komponenten, sondern legt auch Struktureigenschaften der Analyten offen, indem sie die Gruppierung von strukturell ähnlichen Homologen, Verwandten und Isomeren in einem 2D-Diagramm ermöglicht.<sup>[18,19]</sup> Abbildung 2 zeigt wichtige Merkmale eines  $\text{GC} \times \text{GC}$ -Chromatogramms, die auf Struktureigenschaften der Analyten hinweisen: Chromatographische Regionen von gesättigten, cyclischen, olefinischen, Heteroatom-haltigen und aromatischen Kohlenwasserstoffen sind sichtbar. Verzweigte und unverzweigte Kohlenwasserstoffe sind durch unterschiedliche Retentionszeiten im unteren Bereich der zweiten Dimension getrennt, wohingegen die polarisierbaren aromatischen Zwei- und Dreiringsysteme wie Phenanthren, Biphenyl, Dibenzothiophen, Dibenzofuran und deren alkylierte Derivate bedingt durch stärkere Wechselwirkungen mit der polaren stationären Phase der zweiten Dimension im oberen Trennraum des Chromatogramms beobachtet werden. Innerhalb der Konstitutionsisomere können Elutionsmuster für die verschiedenen alkylierten Verbindungen bestimmt werden. Oft kann die gezeigte Trennung in Klassen chemischer Verbindungen zur Identifikation unbekannter Verbindungen hilfreich sein. In einigen Fällen ist eine derartige Klassifizierung gar primäres Ziel der  $\text{GC} \times \text{GC}$ .

Diverse Parameter haben einen beträchtlichen Einfluss auf die analytische Trennleistung der  $\text{GC} \times \text{GC}$  und bedürfen damit einer Optimierung. Dalluge et al. und Ong et al.<sup>[20]</sup> publizierten Verfahren zur Optimierung, und Beens et al.<sup>[21,22]</sup> entwickelten Programme, die es ermöglichen,  $\text{GC} \times \text{GC}$ -



**Abbildung 2.** Ausschnitt aus einem GC $\times$ GC/ToF-MS-Chromatogramm eines Diesels, aufgenommen über eine unpolare $\times$ polare Säulenkombination. Isomere treten im 2D-Chromatogramm in definierten Regionen auf, ebenso wie artverwandte Gruppen und Isomere. Analyten im unteren Trennraum des GC $\times$ GC-Chromatogramms sind durch schwache polare Wechselwirkungen mit der stationären  $^2$ D-Phase gekennzeichnet. Wiedergabe mit Genehmigung von LECO. Ähnliche Chromatogramme können durch die Verwendung chromatographischer GC $\times$ GC-Systeme von Agilent, Shimadzu oder Thermo Scientific erzeugt werden.

Trennungen auf Grundlage thermodynamischer Daten vorherzusagen. Weitere Studien nutzen Enthalpie- ( $\Delta H_i$ ) und Entropiedaten ( $\Delta S_i$ ) aus experimentell bestimmten Retentionszeiten ausgewählter Analyten, um den GC $\times$ GC-Trennraum vorherzusagen und zu optimieren.<sup>[23]</sup> Die große Zahl experimenteller Parameter und deren Verknüpfung gestalten die Bestimmung der optimalen GC $\times$ GC-Parameter jedoch oft schwierig.<sup>[24]</sup> Zusätzlich zu den optimalen Einstellungen der Modulation müssen primäre Betriebsbedingungen wie die Chemie der stationären Phase (Typ, Schichtdicke), die Dimensionen der Kapillartrennsäulen (Länge, Durchmesser), die Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases, Druckbedingungen am Säulenende, Temperaturbedingungen beider Säulen sowie die Detektoreinstellungen optimal aufeinander abgestimmt sein. Eine nichtoptimale Auswahl der stationären Phase kann z.B. einen deutlichen Verlust an Trennleistung hervorrufen. Die Kapillartrennsäule der ersten Dimension enthält üblicherweise eine unpolare stationäre Phase, um viele Verbindungen in diversen Matrices auf Grundlage ihrer unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten in mobiler und stationärer Phase zu trennen. Die in der zweiten Dimension

eingesetzte stationäre Phase ist in der Regel polar, um schnelle Trennungen auf Grundlage polarer Wechselwirkungen, wie Dipol-Dipol-Wechselwirkungen und Wasserstoffbrücken, sowie über Polarisierbarkeitseffekte zu bewerkstelligen.

Eine GC $\times$ GC-Trennung wird als rein orthogonal bezeichnet, sofern keine Kreuzeffekte zwischen beiden Dimensionen bestehen.<sup>[25]</sup> So sollte die Retention eines jeden Analyten auf beiden stationären Phasen durch voneinander unabhängige Mechanismen vonstattengehen. Es wird als wichtig angesehen, die Kreuzeffekte für den mehrdimensionalen Trennraum zu minimieren, da sie zu Bereichen im chromatographischen Trennraum führen können, die nicht nutzbar, d.h. nicht durch Analyten belegbar, sind. In diesem Falle zeigen Analyten die Tendenz, sich lediglich auf der Diagonalen des 2D-Trennraums zu sammeln. Jede Korrelation der Selektivitäten der beiden stationären Phasen sollte somit minimiert werden, um die Qualität der GC $\times$ GC-Trennungen zu verbessern. Hierdurch kann ein maximaler Bereich des 2D-Trennraumes für die Analyten zugänglich gemacht werden. Zur Erhöhung der Orthogonalität ver-

schiedener Kombinationen stationärer Phasen wurde in der Literatur auf Konstanten eines Löslichkeitsmodells wie des Abraham-Modells verwiesen.<sup>[26]</sup> Eine andere Methode zur Optimierung des Trennraumes wurde auf Grundlage von Denaulays Algorithmen zur Dreiecksvermessung von Seward et al. vorgeschlagen.<sup>[27]</sup> Diese Methode wurde ferner eingesetzt, um die Kombination stationärer Phasen, geometrische Parameter der Sekundärphase sowie weitere experimentelle Bedingungen wie die Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases und der Ofentemperaturen zu optimieren.

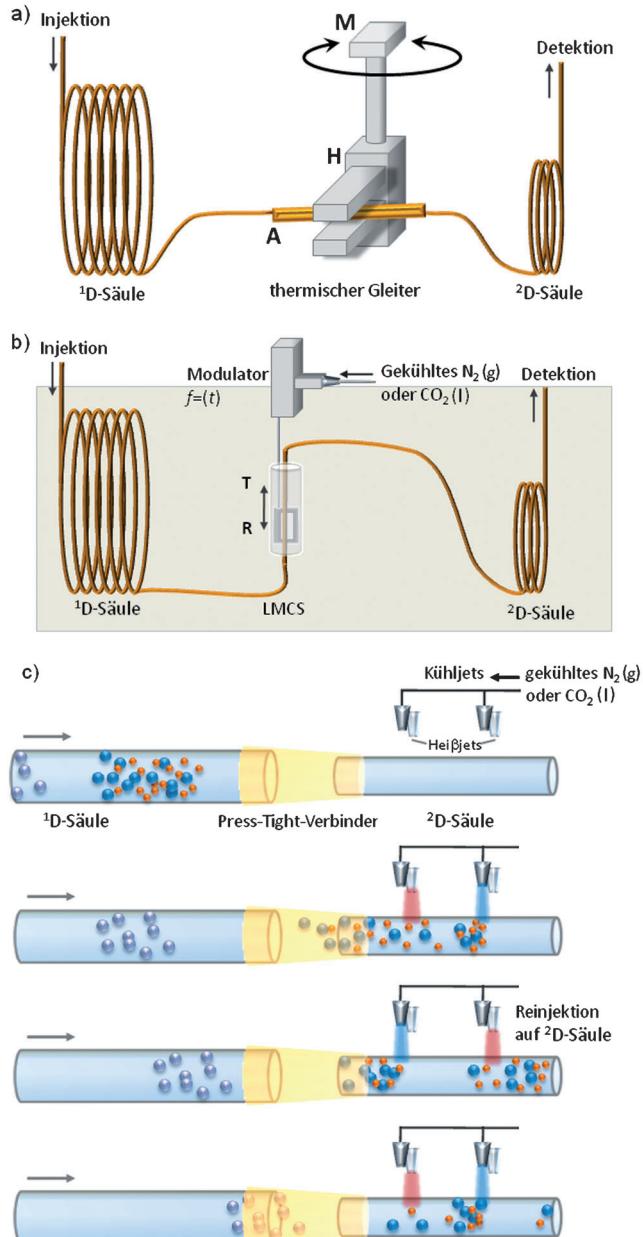
Auch wenn unpolare  $\times$  polare Phasenkombinationen in der GC  $\times$  GC in der Regel bevorzugt werden, gewinnen nichtklassische Kombinationen, wie polare  $\times$  mäßig polare Phasen,<sup>[28]</sup> flüssigkristalline Phasen,<sup>[29]</sup> Phasen aus ionischen Flüssigkeiten<sup>[30]</sup> und enantioselektive stationäre Phasen,<sup>[31–34]</sup> an Interesse, da sie zu hohen Auflösungen der Analyten und auch zu Trennungen chromatographischer Regionen führen können. Omais und Mitarbeiter<sup>[35]</sup> schlugen kürzlich vor, dass die unpolare  $\times$  polare Kombination stationärer Phasen keineswegs eine zwingende Voraussetzung für eine breite Signalverteilung im zweidimensionalen Trennraum ist. Nichtklassische Kombinationen können den Trennraum gelegentlich besser mit Signalen kompletieren. Infolgedessen liegen heute keine definitiven Regeln zur idealen Kombination stationärer Phasen für die GC  $\times$  GC vor. Die finale Entscheidung zur Auswahl der stationären Phasen hängt primär von der Zusammensetzung der Probe ab und richtet sich nicht zuletzt nach der Bewertung des experimentellen Ergebnisses, d.h., ob eine akzeptable Trennung der Analyten erreicht wurde.

### 3. Meilensteine der GC $\times$ GC-Technik

#### 3.1. Aufteilen des Chromatogramms der ersten Dimension in einzelne Fragmente: pneumatische versus thermische Modulation

Verschiedene Typen von GC  $\times$  GC-Modulatoren wurden entworfen, die ihre Fähigkeit zur Aufnahme mehrdimensionaler Gaschromatogramme auch experimentell unter Beweis stellten. Man unterscheidet zwischen zwei Herangehensweisen: der pneumatischen<sup>[36]</sup> und der thermischen Modulation.<sup>[12, 37–42]</sup> Die thermische Modulation hat ein höheres Potenzial, die chromatographische Empfindlichkeit zu erhöhen. Mondello et al.<sup>[41]</sup> listeten kürzlich alle GC  $\times$  GC-Modulatoren mitsamt ihren Charakteristika auf. Der vorliegende Kurzaufsatzt wird sich daher nur auf die signifikantesten Apparate und Entwicklungen konzentrieren.

Pionierarbeiten von Liu und Phillips<sup>[12]</sup> nutzten einen On-Column-Zwei-Phasen-Thermodesorptionsmodulator, der über einen Heizfilm auf der Oberfläche der Kapillartrennsäule erhitzt und mit der umgebenden Luft gekühlt wurde. Dieser Modulator war jedoch schwierig in der Handhabung und von kurzer Lebensdauer. Der erste zuverlässig arbeitende und kommerziell vertriebene Modulator wurde 1999 von Phillips et al. hergestellt.<sup>[37]</sup> Der in Abbildung 3a wie dargegebene, rotierende thermische Modulator (thermische Gleiter) wurde entwickelt, um Analyten zu akkumulieren



**Abbildung 3.** Arbeitsprinzipien gebräuchlicher Modulatoren. a) Das System des thermischen Gleiters, das zwischen den Säulen der ersten und zweiten Dimension platziert ist, akkumuliert Analyten aus der ersten Dimension, bis der gekerbte Heizfinger (H), der mit dem Modulator (M) rotiert, die Analyten in die zweite Dimension speist. b) Longitudinal modulierte Kryosysteme (LMCS) akkumulieren Analyten in der T-Position und geben diese in der R-Einstellung auf die zweite chromatographische Dimension. In der R-Einstellung bewegt sich das LMCS, sodass akkumulierte Analyten der Ofentemperatur ausgesetzt sind. c) Kryodüsen-basierte Modulatoren akkumulieren die Analyten aus der ersten Dimension mithilfe eines Kühljets (rechts dargestellt). Der im Folgenden eingeschaltete Heißjet heizt die Analyten schnell auf und bewirkt deren Weiterleitung. Zeitgleich wird der links angeordnete Kühljet eingeschaltet, um ein Durchbrechen der Analyten zu verhindern. Darauf erfolgt durch Einschalten des zweiten Heißjets (links) die eigentliche Injektion in die zweite chromatographische Dimension. Nach dem Akkumulations-Weiterleitzyklus wird die folgende Modulation gestartet.

und reinjizieren. Dazu wurde ein rotierender gekerbter Heizfinger regelmäßig über ein Segment der zum Auffangen der Analyten zwischengeschalteten Kapillartrennsäule mit großer Filmdicke geführt. Der Nachteil des thermischen Gleiters war, dass die Arbeitstemperatur des Säulenofens etwa 100°C geringer sein musste als die maximal zulässige Temperatur für die stationäre Phase der Modulationskapillare. Heutzutage werden thermische Gleiter und verwandte Modulationstechniken nicht mehr eingesetzt.

Effizientere Modulatoren nutzen kryogekühlte Flüssigkeiten wie Kohlendioxid, Stickstoff oder Luft; sie wurden Ende der 1990er Jahre eingeführt. Der erste Kryomodulator wurde von Kinghorn und Marriott beschrieben.<sup>[38]</sup> Das longitudinal modulierte Kryosystem (LMCS) nutzt sich ausdehnendes, flüssiges Kohlendioxid zur tiefkalten Akkumulation und zum Fokussieren der Analyten in den ersten Zentimetern der zweiten Kapillartrennsäule (Abbildung 3b). Die Re-injektion wird erreicht, indem der Modulator longitudinal wegbewegt und die akkumulierte Fraktion der Analyten durch die umgebende Ofentemperatur schnell erwärmt wird. Verschiedene Typen heutiger Modulatoren nutzen Kryodüsen,<sup>[39]</sup> die Kohlendioxid oder flüssigen Stickstoff zur Modulation von GC × GC-Systemen im Labormaßstab einsetzen, ohne dabei auf bewegliche Teile zurückzugreifen (Abbildung 3c).

Die zweite Klasse von Modulatoren, die so genannten ventilbasierten Modulatoren, beruht auf dem Prinzip des Umschaltens von Gasflüssen. Ein Segment des eluierenden Signals wird gesammelt und nach dem Umschalten eines Ventils mit hohem Druck über die zweite Dimension gegeben, die einer unabhängigen Druckregelung unterliegt. Ventilbasierte Modulatoren sind in ihrem Aufbau recht einfach und wurden 1998 erstmals von Synovec und Mitarbeitern beschrieben.<sup>[36a]</sup> Erste ventilbasierte Modulatoren überführen jedoch nur einen Teil der Analyten von der ersten Dimension in die zweite, weshalb die Verwendung von ventilbasierten Modulatoren auf die Analytik konzentrierter Proben begrenzt war. Jüngste Entwicklungen der Ventil/Gasfluss-Modulatoren, wie der unabhängige Gasflüsse nutzende Deans Switch,<sup>[42]</sup> die Modulation über Schaltventile,<sup>[43]</sup> die Modulation mithilfe gepulster Gasflüsse<sup>[44]</sup> und die Kapillarflusstechnik, haben Ventil/Gasfluss-Modulatoren als ernste Konkurrenten zu den thermischen Modulatoren aufschließen lassen.<sup>[45]</sup> Die thermische Modulation bietet in der Regel eine höhere Auflösung der Analyten. Zudem ist sie bezüglich der Kombination von Kapillartrennsäulen und Trägergasflüssen weniger limitiert. Ein Nachteil ist jedoch der relativ hohe Verbrauch von flüssigem Stickstoff oder Kohlendioxid. Neue Gasflussumodulatortechniken sind über den gesamten Flüchtigkeitsbereich effektiv, ohne auf Feineinstellungen und Kühlmittel zurückgreifen zu müssen. Zudem ermöglichen sie tragbare GC × GC-Gerätschaften, die hilfreich für die direkte Probenahme sein können.

### 3.2. Datenverarbeitung durch adäquate Software

In der frühen Geschichte der GC × GC gab es kaum Methoden zur fortschrittlichen Datenverarbeitung. Erste

Programme zur Datenverarbeitung und -interpretation zweidimensionaler Chromatogramme erforderten etwa sieben Stunden.<sup>[46]</sup> Die große Menge von Informationen, die in umfassender GC × GC generiert wird, führte zu Schwierigkeiten bei der Datenverarbeitung. Die Entwicklung von Software-Algorithmen, die es ermöglichen, die 2D-Signale des gesamten Trennraums zu integrieren, Signale zu identifizieren und Signalsegmente nach der Modulation korrekt zu kombinieren, hat deutlich zur vermehrten Anwendung von GC × GC-Systemen beigetragen. Zeng et al.<sup>[47]</sup> zeigten kürzlich in einem Aufsatz, wie umfangreich chemometrische Techniken heute Analytikern bei der GC × GC-Datenanalyse und -interpretation helfen. Für weitere Informationen zur multivarianten Datenanalyse und Software-Hilfen verweisen wir auf diesen Aufsatz.

Für die GC × GC gibt es zahlreiche Computerprogramme, die auf chemometrische Methoden zurückgreifen. ChromaTOF wurde für das Pegasus-4D-System (LECO) optimiert, und HyperChrom (Thermo Fisher Scientific), Transform (ITT Visual Information Solutions), GC Image (GC Image), ChromaSquare (Shimadzu) sowie andere Programme sind kommerziell erhältlich.<sup>[48]</sup> Diese Programme können für Datenakquise, Visualisierung, Signaldetektion, Diskriminierung, Quantifizierung, Dekonvolution, Clustering und Klassifizierung durch Erkennung von Mustern, Kalibrierung und massenspektrometrische Erkennung, Auswertung der Ergebnisse sowie im Sinne diverser weiterer Funktionen verwendet werden. Damit auch in Zukunft weitere Fortschritte gemacht werden, sollten neue, spezielle und hauseigene chemometrische Techniken, die sich derzeit in Entwicklung befinden, in die Routineprogramme der GC × GC einfließen.

### 3.3. Die Detektion von GC × GC-Signalen mit ausreichender Akquisitionsrate

Wie oben beschrieben, produziert eine jede Modulation ein komplettes Chromatogramm in der zweiten Dimension. Die Modulationsperiode beträgt in der Regel einige Sekunden, was in Chromatogrammen der zweiten Dimension kurze Signalbreiten von nur 50 ms hervorrufen kann. Zur Quantifizierung von Analyten sind daher in der GC × GC schnelle Detektoren, die Akquisitionsraten von mindestens 100 Hz zulassen, erforderlich. Flammenionisationsdetektoren (FIDs) mit vernachlässigbarem internem Volumen können Daten mit bis zu 300 Hz aufnehmen. Daher werden FIDs in der GC × GC weitläufig eingesetzt, besonders zur Analytik komplexer Proben. Der vermehrte Einsatz der GC × GC in akademischen und industriellen Bereichen liegt jedoch in ihrer Kopplung mit Massenspektrometern (MS) begründet. Mit Massenspektrometern gekoppelte GC × GC-Systeme profitieren von einer „dritten Dimension“, indem für jeden Analyten *m/z*-Spektren aufgenommen werden. Die in der Massenspektrometrie gewonnenen Fragmentierungsmuster fungieren hier als molekülspezifische Fingerabdrücke. Die Komplementarität beider Techniken gilt als Grund für die Stärke der GC × GC-MS.

Fast alle GC × GC-MS-Anwendungen wurden mit Flugzeit(ToF)- oder Quadrupol-Massenspektrometern durchge-

führt. Die hohe Datenakquisitionsrate von ToF-MS-Geräten (bis zu 200 Hz) führt zusammen mit verbesserten massenspektrometrischen Dekonvolutionsprogrammen zu sauberen und eindeutigen Massenspektren, selbst wenn partiell coeluirende Verbindungen zugegen sind. Die jüngst eingeführten, schnell scannenden Quadrupol-Massenspektrometer<sup>[49]</sup> haben die Anwendungen der GC × GC weiter vermehrt. Trotz den wegen der limitierten Datenakquisitionsrate eingeschränkten Massenbereichen von 100–200 Da (aufgrund der Notwendigkeit, einzelne Ionen jeder Masse im Scancbereich aufzunehmen) und dem erforderlichen Interscan-Zyklus, der die spektrale Qualität und quantitative Analyse begrenzt, sind Quadrupol-MS-Kopplungen mit der GC × GC-Technik sehr beliebt und deutlich kostengünstiger als GC × GC-ToF-MS-Geräte. Wenn Analyten im Spurenbereich bestimmt werden müssen, liefern GC × GC-ToF-MS-Instrumente allerdings Spektren besserer Qualität als Quadrupol-MS-Kopplungen, besonders für coeluirende Schultersignale kleiner Intensität.<sup>[50]</sup> Für beide Detektionsarten wird der Gebrauch sanfter chemischer Ionisationsmethoden anstelle der konventionellen Elektronenstoßionisation empfohlen, sofern Organohalogenverbindungen analysiert werden. 2005 nutzten Korytár et al. als erste ein schnell scannendes Quadrupol-Massenspektrometer im Elektroneneinfang-Negativionen(ECNI)-Modus, gekoppelt mit einem GC × GC-Instrument.<sup>[51]</sup> Das Massenspektrometer konnte 23 Spektren über einen 300-Da-Massenbereich produzieren. Kurz darauf führte dieselbe Arbeitsgruppe ein GC × GC-ToF-MS-System ein, das im ECNI-Modus arbeitete.<sup>[52]</sup> Das ECNI-ToF-MS-Instrument nutzte Methan als Reagensgas, und die Daten wurden über einen Massenbereich von 50 bis 700 Da mit einer Akquisitionsrate von 40 Hz aufgenommen.

Die GC × GC wurde in jüngsten Studien auch in Kombination mit Isotopenverhältnis-Massenspektrometern<sup>[53]</sup> und Isotopenverdünnungs-ToF-MS-Geräten<sup>[54]</sup> verwendet. Ein großer Vorteil der zuletzt genannten Detektionsmethode besteht im Einsatz isotopenmarkierter interner Standards zur akkurate Quantifizierung. Erwähnenswert ist, dass auch einige hochauflösende ToF-MS-Anwendungen in der GC × GC-Literatur mit Massenauflösungen ( $m/\Delta m$ ) von Halbwertsbreiten bis zu 5000 beschrieben sind.<sup>[55]</sup> Der Mehrzahl der GC × GC-MS Anwender reicht jedoch eine Auflösung im Bereich ganzer Masseneinheiten, um Spektren zu generieren, die mithilfe von MS-Datenbanken ausgewertet werden können. Quadrupol-MS- und ToF-MS-Geräte geringer Auflösung können für derartige Zwecke durchaus genügen.

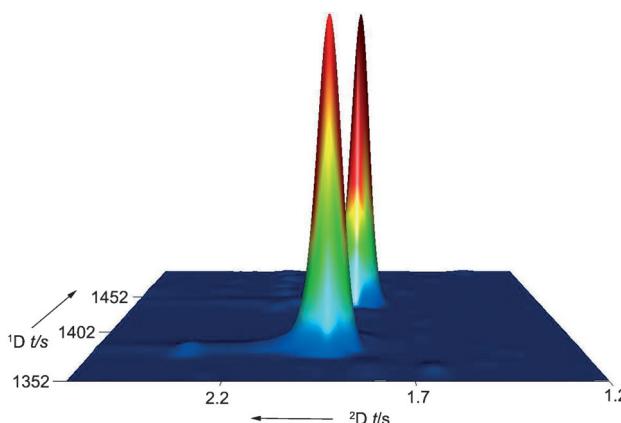
Weitere interessante Möglichkeiten bietet die Kopplung der GC × GC mit schnellen, empfindlichen und elementselektiven Detektoren. Solche Techniken werden gewöhnlich auf Anwendungen beschränkt, für die Empfindlichkeit und Selektivität von Massenspektrometern unzureichend sind. Zum Beispiel wurden Mikroelektroneneinfangdetektoren ( $\mu$ ECD) mit einer typischen Akquisitionsrate von 50 Hz als nützliche Alternative für die quantitative Analyse und das kostengünstige Screening von polyhalogenierten Verbindungen wie polychlorierten Paraffinen, Dibenzodioxinen und Dibenzofuranen (PCDD/FS) sowie Organochlorpestiziden beschrieben.<sup>[18,29,56]</sup> Studien, die umfassende GC × GC mit Stickstoff-Phosphor-Detektoren (GC × GC-NPD) koppeln,

zeigten das Potenzial und die hohe Empfindlichkeit des NPD zur Bestimmung Stickstoff-haltiger Verbindungen in komplexen Matrices von Nahrungsmitteln.<sup>[57]</sup> Selbst ein duales Detektionssystem der GC × GC (GC × GC-ECD/NPD) mit einem ECD und einem parallel geschalteten NPD wurde entwickelt, um halogenierte und Stickstoff-haltige Verbindungen zeitgleich im Rahmen der Pestizidanalytik bestimmen zu können.<sup>[58]</sup> Einige wenige Anwendungen wurden für die Kopplung der GC × GC mit Atomemissionsdetektoren,<sup>[59]</sup> Schwefel-<sup>[60]</sup> und Stickstoff-Chemolumineszenz-Detektoren<sup>[61]</sup> sowie olfaktorischer (O-)Detektion<sup>[62]</sup> beschrieben. Die olfaktorische Detektion kommt gelegentlich in der Aroma- und Parfümbranche zum Einsatz und dient dazu, die chemischen Strukturen von Verbindungen aufzuklären, die den Geruch eines der hier verwendeten Extrakte hervorrufen. Die endliche Zeit zwischen der Aufnahme des Duftstoffes durch die Probanden und der hervorgerufenen Reaktion in deren Gehirn macht die Charakterisierung von Duftstoffen mit GC × GC-O schwierig, eluieren die Analyten in der GC × GC aus der zweiten Dimension doch wie beschrieben als äußerst schmale Signale. Langsamere Temperaturprogramme könnten dieses Problem lösen, sind für die Anwender jedoch mit zeitaufwändiger Analytik verbunden.

### 3.4. Enantioselektive GC × GC mit chiralen stationären Phasen

Eine weitere wichtige instrumentelle Entwicklung der GC × GC dient der enantioselektiven Trennung chiraler Analyten mit stationären Phasen, die verdünntes Cyclodextrin<sup>[63]</sup> oder Chirasil-Val<sup>[64]</sup> enthalten. Das Interesse an der Trennung von Enantiomeren durch die Gaschromatographie hat stetig zugenommen, besonders weil man Unterschiede zwischen den Enantiomeren bezüglich der von ihnen hervorgerufenen Reaktionen in biologischen Systemen verstehen wollte. So zeigen Enantiomere oft unterschiedliche Gerüche und pharmazeutische Effekte, sie werden unterschiedlich verstoffwechselt, und sie können auch zur Bestimmung von Authentizität, Qualität und geographischem Ursprung von Proben verwendet werden. Sofern das Wissen über das Wechselspiel zwischen der Chiralität von Verbindungen und deren biologischer Aktivität vertieft wird und sofern die Gesetzgebung bezüglich chiraler Verbindungen stringenter wird, ist auch die Entwicklung verlässlicher GC × GC-Methoden zur Quantifizierung von Enantiomerenüberschüssen ( $ee = 100(R-S)/(R+S)$ ) in komplexen biologischen und synthetischen Proben von Bedeutung. In der Literatur wird die Kombination enantioselektiver × moderat polar/polarer Phasen<sup>[31]</sup> sowie unpolarer × enantioselektiver Phasen<sup>[32]</sup> beschrieben. Weil die Trennung von Enantiomeren in der GC durch enantioselektive stationäre Phasen auf schneller Kinetik beruht und thermodynamisch kontrolliert ist,<sup>[65]</sup> ist die Kombination von enantioselektiver × polarer Phase zur Trennung von Enantiomeren bevorzugt. Werden strukturiertere Chromatogramme benötigt, liefert die Kombination von unpolarer × enantioselektiver Phase zum Teil bessere Ergebnisse. Die Dringlichkeit, eine schnelle enantioselektive Trennung in der zweiten Dimension der GC × GC durchzuführen, wurde von Shellie und Marriott erörtert.<sup>[31]</sup> Die prä-

zise Bestimmung eines *ee*-Werts ist auch für Forschungen zum Ursprung des Lebens und dessen Homochiralität von großem Interesse. Jüngst ermöglichte es die Analyse mithilfe eines enantioselektiven GC × GC-ToF-MS-Systems, chirale Verbindungen inklusive Aminosäuren in simuliertem kosmischem Eis nachzuweisen.<sup>[33]</sup> In einem zusätzlichen Experiment gelang es mithilfe der gleichen analytischen Instrumente, statistisch signifikante Enantiomerenüberschüsse in der Aminosäure Alanin zu erfassen (Abbildung 4).<sup>[34]</sup> Die außergewöhnliche chromatographische Trennung der Analyten von Coeluenten aus der ersten Dimension resultierte in einer planen Basisfläche, über die sich die Signale integrieren ließen, wodurch präzise ein *ee*-Wert bestimmt werden konnte.



**Abbildung 4.** Enantioselektives GC × GC-ToF-MS-Chromatogramm der Racematspaltung von L-Alanin (Signal links) und D-Alanin (Signal rechts) als N-Ethoxycarbonylheptafluorbutyratester-Derivate auf einer 25-m-Chirasil-d-Val-Phase, gekoppelt mit einer 1.4-m-Carbowax-Phase. Die 2D-Trennung resultiert in einer planen Basisfläche um die getrennten Enantiomere, was die präzise Bestimmung des Enantiomerenüberschusses ermöglicht. Jeder Punkt im abgebildeten zweidimensionalen Trennraum enthält sein individuelles Massenspektrum. Die Massenspektren für beide Enantiomere sind identisch.

#### 4. GC × GC – wo stehen wir, und was bringt die Zukunft?

Interessanterweise wird das Potenzial der GC × GC – die Multiplizität der chromatographischen Signalkapazität, die in der Fachliteratur oft als „überlegene Auflösung“, „unerreichte Signalkapazität“ und „herausragendes Trennvermögen“ gepriesen wird – in heutigen GC × GC-Anwendungen kaum verwirklicht. Auch wenn eine große Zahl von Signalen komplexer Mischungen getrennt werden kann, sind untrennbare Analyten, wie in Abbildung 2 dargestellt, noch immer vorhanden. Selbst wenn in der GC × GC ein großer Trennraum zur Verfügung steht, kann das theoretische Trennvermögen in der Praxis oft nicht erreicht werden, weil Analyten ( $m$ ) nicht regelmäßig angeordnet sind, um zufälliges Überlappen zu verhindern. Analyten ordnen sich vielmehr beliebig im chromatographischen Trennraum an. Um ein Beispiel zu nennen, muss  $n_c$ , um nur 82 % in zufälliger Abfolge eluierender Analyten zu trennen,  $m$  um einen Faktor 10 übersteigen, was eine Zahl von  $4 \times 10^6$  theoretischen Böden  $N$

erfordert.<sup>[15b]</sup> Daher kann nicht einmal die umfassende GC × GC immer die Anforderungen an das erforderliche Trennvermögen bestimmter Anwendungen erfüllen. Eine optimierte GC × GC-Analytik erreicht jedoch eine bessere Auflösung als 1D-GC. Blumberg et al. zeigten, dass fast jeder Fachliteraturbericht zur GC × GC nichtoptimierte Systeme beschreibt.<sup>[66]</sup> Der substanzliche Unterschied zwischen beschriebenem und theoretisch möglichem Trennvermögen in umfassender 2D-GC wird nach den Autoren hauptsächlich durch zu breite Modulationspulse, unzureichende Trennungen in der ersten Dimension<sup>[66]</sup> und nicht optimale Strömungsgeschwindigkeiten der Trägergase verursacht.<sup>[27,67]</sup> Daher überschätzt der theoretische Wert der Signalkapazität  ${}^1n_c {}^2n_c$  oft deren experimentellen Wert.

#### 4.1. Qualitative und quantitative GC × GC-Analytik

Die GC × GC ermöglicht in der Regel eine bessere Trennung der Analyten sowie die Gruppierung von Analyten im 2D-Diagramm. Allerdings bleibt die Strukturbestimmung mithilfe der GC × GC eine schwierige Aufgabe, ist sie doch weniger mittelbar als mit der 1D-GC: Wegen des Fehlens einfach zu gebrauchender Retentionsindizes für beide Dimensionen, wegen unzureichender spektraler Datenbanken und wegen der steigenden Komplexität, die durch die Genese einer zunehmenden Zahl von Möglichkeiten im zweidimensionalen Trennraum bedingt ist, bleiben Identifizierungen getrennter Signale in der GC × GC häufig schwierig. Die Identifizierung von Analyten kann durch Computerprogramme erleichtert werden, die in der Lage sind, molekulare Substrukturen zu erkennen und daraus passende molekulare Strukturen zu errechnen.<sup>[68]</sup> Derartige Programme sind in der Literatur jedoch noch wenig beschrieben. Zudem sind Retentionsindizes wichtige Hilfsmittel, um falsche Identifizierungen zu minimieren, und spielen eine große Rolle bei der GC-Analytik. Obwohl mathematische<sup>[69]</sup> und experimentelle<sup>[21,70]</sup> Annäherungen beschrieben wurden, die auf die Retention in der 2D-GC zurückgreifen, ist der Einsatz von nutzerfreundlichen Methoden und Datenbanken für Retentionsindizes bezüglich der zwei Dimensionen der GC × GC noch limitiert.

Einige Arbeitsgruppen studieren die Korrelation von Retentionsindizes GC × GC-getrennter Analyten mit physikalisch-chemischen Kenndaten von deren Molekülstrukturen, als da wären Flüchtigkeit, Wasserlöslichkeit und Wasser/Octanol-Verteilungskoeffizienten.<sup>[71]</sup> Kürzlich stellten Seeley et al.<sup>[72]</sup> ein Solvationsparametermodell vor, das mit physikalisch-chemischen Daten des Analyten sowie mit Informationen zur stationären Phase kombiniert wurde,<sup>[26]</sup> um das Retentionsverhalten verschiedener Analyten vorherzusagen.

Das primäre Ziel der meisten GC × GC-Anwendungen waren oft qualitative Analysen, und man konzentrierte sich weniger auf quantitative Analysen. Um die schmalen, modulierten GC × GC-Signale auch quantitativ beschreiben zu können, sind hohe Akquisitionsraten von 50 Hz und mehr erforderlich, die mindestens 10 Datenpunkte pro chromatographisches Signal aufnehmen.<sup>[21]</sup> Adäquate, quantitative Analysen und Kalibrationen können erreicht werden, indem

lediglich die größten modulierten Signale von Analyt und internem Standard erfasst werden.<sup>[73]</sup> Ein Vorteil des Nutzens von zwei bis drei der höchsten modulierten Signale liegt in deren Unabhängigkeit von der exakten Modulationszeit sowie der In-Phase- und Außer-Phase-Modulation.

#### 4.2. Miniaturisierung von GC×GC-Geräten

Aktuell richtet sich das Interesse verstärkt auf die Entwicklung schnellerer GC Methoden, indem kurze, schmale Narrow-Bore-Kapillartrennsäulen, schnelle Temperaturprogramme und hohe Trägergasgeschwindigkeiten eingesetzt werden.<sup>[74]</sup> Die Optimierung der Übertragung einer Methode von der „normalen“ zur schnellen Chromatographie ist immer ein Kompromiss zwischen Geschwindigkeit, Auflösung und Signalkapazität.<sup>[75]</sup> Mit der Anforderung nach einer hohen Durchsatzrate von Proben bleibt es eine anspruchsvolle Aufgabe, gleichzeitig die Auflösung aller Signale wie auch die Signalkapazität des Systems aufrechtzuerhalten. Die erste Anwendung der schnellen GC×GC wurde für Allergene, die zuweilen in Parfümproben zugegen sind, beschrieben. Deren Trennung gelang in 5 min, indem eine <sup>1</sup>D-Kapillartrennsäule mit einem Innendurchmesser von 5 m × 0.1 mm in Reihe mit einer <sup>2</sup>D-Kapillartrennsäule mit einem Innendurchmesser von 0.3 m × 0.05 mm geschaltet wurde, was einen verbesserten lateralen Wärme- und Massetransfer zur Folge hatte.<sup>[76]</sup> Konventionelle Analysen komplexer Parfümproben erfordern oft etwa 75 min; dagegen resultierten schnelle Trennungen der Analyten mit Signalhalbwertsbreiten von 25–50 ms in Analysenzeiten von nur einigen Minuten, weil kurze Kapillartrennsäulen mit kleinen Innendurchmessern in beiden Dimensionen zusammen mit erhöhten Temperaturprogrammen in der Kryomodulation genutzt werden konnten.

Heute ist die Miniaturisierung der GC×GC-Systeme eine weitere interessante Forschungsrichtung. Hier werden Mikrosäulen in Kombination mit miniaturisierten Modulatoren verwendet. Kürzlich wurde der Einsatz einer 3 m langen, 150 µm breiten und 240 µm tiefen Trennsäule beschrieben, die auf einen Siliciumchip von 3.2 cm × 3.2 cm geätzt worden war, was 5000–6000 theoretische Böden ermöglichte.<sup>[77]</sup> Zwei der Trennsäulen wurden mit verschiedenartigen stationären Phasen belegt und mit einem Stop-Flow-Ventil gekoppelt, was die Trennung benachbarter Signale weiter verbesserte. 2010 beschrieben Reidy et al. das erste thermisch modulierte Mikro-GC×GC-System.<sup>[78]</sup> Eine Mischung von Kohlenwasserstoffen und Alkoholen wurde getrennt, indem eine 6 m und eine 0.25 m lange Mikrosäule mit Querschnitten von 158 µm × 240 µm in der ersten Dimension und 46 µm × 170 mm in der zweiten Dimension mit einem thermischen Mikro-Zweiphasen-Modulator<sup>[79]</sup> gekoppelt wurden, dessen Arbeitstemperaturbereich zwischen –35 und 250 °C lag. Das miniaturisierte Design ermöglicht ein breites Spektrum von Applikationen, von der petrochemischen Industrie bis zu Studien zum Ursprung des Lebens. Die drastische Miniaturisierung wird in Zukunft die Produktion tragbarer, wenige Ressourcen verbrauchender GC×GC-Systeme möglich machen, die organische Verbindungen *in situ* detektieren kön-

nen, die Rückschlüsse auf den Ursprung ersten zellulären Lebens zulassen<sup>[80]</sup> und bei zukünftigen Missionen zum Mars, Titan und zu Kometen zum Einsatz kommen könnten.

#### 4.3. Dreidimensionaler Trennraum

Neben der GC×GC halten weitere umfassende zweidimensionale chromatographische Techniken wie die LC×LC,<sup>[81]</sup> die LC×CE,<sup>[82]</sup> die CE×CE<sup>[83]</sup> und die LC×GC<sup>[84]</sup> Einzug in moderne analytische Laboratorien (LC = Flüssigchromatographie, CE = Kapillarelektrophorese). Jüngste Fortschritte bei den mehrdimensionalen Trenntechniken führen gar die dritte chromatographische Dimension in Techniken ein, z.B. in Form der LC-GC×GC,<sup>[85]</sup> der LC×LC×CE<sup>[86]</sup> und der GC×GC×GC,<sup>[87]</sup> um die analytische Selektivität weiter zu steigern. Kürzlich nutzten Synovec et al.<sup>[88]</sup> zwei Membranventile mit sechs Eingängen als Schnittstelle zwischen drei in Serie geschalteten Kapillartrennsäulen, die in einem konventionellen GC-Instrument, gekoppelt an einen FID, untergebracht waren. Der Einsatz einer Bis(triflat)imid-basierten ionischen Flüssigkeit als stationäre Phase ermöglichte die Analyse einer Dieselprobe mit einer Laufzeit von 4 s bei erhöhter analytischer Selektivität und Signalkapazität. Die gewählte stationäre Phase zeichnete sich durch eine hohe Selektivität für Phosphorverbindungen aus. Sie war zwischen einer unpolaren DB-5-Kapillartrennsäule in der ersten Dimension (Laufzeit 20 min) und einer komplementären polaren DB-Wax-Kapillartrennsäule in der dritten Dimension (Laufzeit 200 ms) angeordnet. Die Autoren beobachteten, dass ein thermisch moduliertes Instrument eine höhere Empfindlichkeit liefert, weil ein ventilbasiertes System wie beschrieben nur einen Teil der Analyten auf die nachfolgende chromatographische Dimension gibt. Thermisch modulierte Systeme sind zum jetzigen Zeitpunkt jedoch noch nicht in der Lage, einen Analyten in zeitlich ausreichend schmalen Pulsen zu injizieren, wie sie für eine Kapillartrennsäule in der dritten Dimension erforderlich wären.

Welthagen et al. haben die GC×GC mit der Einzelphotonenionisation (SPI) gekoppelt.<sup>[89]</sup> Die Autoren nutzten zwei selektive chromatographische Phasen, um Analyten auf Grundlage ihrer Polarität und Polarisierbarkeit zu trennen. Die sanfte massetrennende Ionisation wurde zur Simulation einer Trennung nach Flüchtigkeit eingesetzt. Venkatramani et al.<sup>[25]</sup> diskutierten zuvor, dass die auf sanfter Ionisation beruhende Massenspektrometrie ähnliche Trenncharakteristika aufweist wie eine unpolare stationäre Phase in der GC. Dies sei durch das Fehlen der Fragmentierung und der Bildung der einzelnen Molekülionen bedingt. Infolgedessen bildet das beschriebene Experiment einen dreidimensionalen umfassenden Trennraum. An die laserbasierte SPI-Massenspektrometrie wird die Anforderung gestellt, dass der Laser Licht im spektralen VUV-Bereich generieren muss.

Im Allgemeinen wächst die Selektivität eines Systems mit jeder zusätzlich eingeführten chromatographischen Dimension. Auch die gewonnenen Datensätze dehnen sich mit jeder weiteren Dimension aus. Zudem gilt es als Ziel, die Komplexität der Instrumente überschaubar zu halten und die Gesamtmenge der Analyten auf die nächste Trenndimension

zu überführen, ohne sie nach erfolgter Trennung wieder zu vermischen. Dabei ist es unabdingbar, den tertiären Trennraum voll zu nutzen, was durchaus anspruchsvoll ist, da heutige stationäre GC-Phasen keine vollständig unterschiedlichen Selektivitäten aufweisen und in vielen Proben Analyten ähnlicher Polarität gemeinsam auftreten.

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

Auch wenn die GC × GC noch als junge Technik angesehen wird und bisher primär in Forschungs- und Entwicklungslabors Verwendung findet, hat ihr Einsatz in den vergangenen Jahren doch deutlich zugenommen. Prinzipien und Methoden der GC × GC beruhen heute auf guten Grundlagen. Robuste und nutzerfreundliche Modulatoren mit verschiedenen Detektoren (wie ToF und schnell scannenden Quadrupol-Massenspektrometern) sind kommerziell erhältlich und haben die GC × GC für die Routineanalytik, zum Screening komplexer Proben und zur Quantifizierung von Analyten zugänglich gemacht. Wie die jüngste Literatur zeigt, wachsen Forschungs- wie auch Industrieanwendungen der GC × GC in einer Reihe verschiedener Bereiche wie der Lebensmittelsicherheit, Duftstoffe, kriminaltechnischer Untersuchungen, Petrochemie, Metabolomik sowie Umweltforschung.

Die umfassende GC × GC-MS bietet gegenüber der konventionellen 1D-GC-MS mehrere Vorteile: Erstens wird die Selektivität erhöht, indem drei Dimensionen zur Trennung zugänglich sind (im Allgemeinen Flüchtigkeit, Polarität und Masse). Zweitens macht der Gewinn in der Signalhöhe durch die Modulator-gesteuerten Fokussierungseffekte die GC × GC-Technik besonders für die Detektion von Verbindungen im Spurenbereich nützlich. Drittens liefert die GC × GC geordnete Chromatogramme, in denen sich Verbindungen ähnlicher Struktur in Regionen gruppieren, was die Identifizierung unbekannter Analyten oft erleichtert. Die strukturbasierte Identifizierung von Analyten benötigt keineswegs die Trennung aller Verbindungen aus der Probe. Weiterhin hilft die GC × GC, Coelutionen von Analyten und chromatographischem Rauschen zu minimieren, was potenzielle Interferenzen mit selektiven Detektionsmethoden vermindert und damit häufig zu qualitativ hochwertigen Ergebnissen führt.

Allerdings hat die GC × GC ihr volles Potenzial noch nicht ausgeschöpft. Eines der Hauptgebiete, auf dem Bedarf zur Verbesserung besteht, ist die Erleichterung der Identifikation von Analyten. Weitere Entwicklungen in der GC × GC-Analytik erfordern beträchtliche Fortschritte bei nutzerfreundlichen automatisierten Programmen, die die große Zahl von Signalen, die im Allgemeinen in einem GC × GC-Diagramm auftreten, korrekt auszuwerten vermögen. Zudem wird die Entwicklung von MS-Datenbanken in Kombination mit automatisierten Arbeitshilfen zur Genese von Strukturen erwartet, wie auch die Erstellung von Datenbanken für Retentionsindices in beiden chromatographischen Dimensionen sowie die Entwicklung eindeutiger Quantifikationstechniken für ausgewählte Analyten. Erste Versuche zur Auswertung großer Mengen komplexer Datensätze wurden gemacht, die

die akkurate Angleichung von Chromatogrammen und deren Hintergrundkorrekturen erfordern.

Rechnergestützte chemometrische Methoden haben steigende Fortschritte zu verzeichnen und haben einen enormen Einfluss auf die steigende Zahl von GC × GC-Anwendungen. Allerdings werden für den zukünftigen Fortschritt sowie zum Sammeln analytischer Informationen Verfahren zur multivariaten 2D-Analytik erforderlich sein, bei denen die chromatographischen Eigenschaften mit strukturellen Deskriptoren von Molekülen korreliert werden.

Ein weiterer Trend ist, dass die Analyten effizienter auf die 2D-Ebene verteilt werden, d.h. die Signalkapazität der GC × GC erhöht wird. Dazu sind eine verbesserte eindimensionale Trennung sowie eine schnellere Modulation vonnöten. Auch die Schnelligkeit der Trennung in der zweiten Dimension sollte erhöht werden, was ein schnelleres Scannen sowie verbesserte Programme zur Signalidentifikation erfordert. All diese Verbesserungen sind anspruchsvolle Ziele – ihr möglicher Nutzen wird jedoch weitreichend sein.

Diese Arbeit wurde von der „Agence Nationale de la Recherche“ (ANR-07-BLAN-0293) und einem Postdoktorandenstipendium des „Centre National d’Etudes Spatiales“ (CNES) für C.M. unterstützt.

Eingegangen am 31. Januar 2012,  
veränderte Fassung am 12. April 2012  
Online veröffentlicht am 10. September 2012

- 
- [1] E. Cremer, R. Müller, *Z. Elektrochem.* **1951**, *55*, 217–220.
  - [2] M. J. E. Golay in *Gas Chromatography* (Hrsg.: V. J. Coates), Academic Press, New York, **1958**.
  - [3] L. Mondello, A. C. Lewis, K. D. Bartle, *Multidimensional Gas Chromatography*, Wiley, Chichester, **2002**.
  - [4] a) J. Blomberg, P. J. Schoenmakers, J. Beens, R. Tijsse, *J. High Resolut. Chromatogr.* **1997**, *20*, 539–544; b) G. S. Fryssinger, R. B. Gaines, *J. High Resolut. Chromatogr.* **1999**, *22*, 251–255; c) S. J. Rowland, C. E. West, A. G. Scarlett, D. Jones, R. A. Frank, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, *25*, 1198–1204.
  - [5] a) A. C. Lewis, N. Carslaw, P. J. Marriott, R. M. Kinghorn, P. Morrison, A. L. Lee, K. D. Bartle, M. J. Pilling, *Nature* **2000**, *405*, 778–781; b) X. Xu, L. L. P. Stee, J. Williams, L. Beens, M. Adahchour, R. J. J. Vreuls, U. A. T. Brinkmann, *Atmos. Chem. Phys.* **2003**, *3*, 665–682; c) G. Semard, A. Bruchet, P. Cardinael, J. P. Bouillon, *Water Sci. Technol.* **2008**, *57*, 1983–1989; d) E. Jover, V. Matamoros, J. M. Bayona, *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 4013–4019.
  - [6] a) J. Dalluge, M. van Rijn, J. Beens, R. J. J. Vreuls, U. A. T. Brinkmann, *J. Chromatogr. A* **2002**, *965*, 207–217; b) P. Q. Tranchida, P. Dugo, G. Dugo, L. Mondello, *J. Chromatogr. A* **2004**, *1054*, 3–16; c) E. Humston, J. D. Knowles, A. McShea, R. E. Synovec, *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 1963–1970.
  - [7] a) R. Shellie, P. J. Marriott, C. Cornwell, *J. High Resolut. Chromatogr.* **2000**, *23*, 554–560; b) R. Shellie, J. P. Marriott, P. Morrison, *J. Chromatogr. Sci.* **2004**, *42*, 417–422; c) G. Eyes, P. J. Marriott, J. P. Dufour, *J. Chromatogr. A* **2007**, *1150*, 70–77; d) C. von Mühlens, C. A. Zini, E. B. Caramao, P. J. Marriott, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1200*, 34–42.
  - [8] a) R. Shellie, P. J. Marriott, A. Chaintreau, *Flavour Fragrance J.* **2004**, *19*, 91–98; b) C. Kok Whye, T. Chin Ping, M. Hamed, C. Sung Tong, Y. B. Che Man, N. S. Abdul Hamid, O. Azizah, B. Mahiran, *Food Chem.* **2011**, *125*, 1481–1489.

- [9] C. Debonneville, A. J. Chaintreau, *J. Chromatogr. A* **2004**, *1027*, 109–115.
- [10] a) W. Welthagen, R. A. Shellie, J. Spranger, M. Ristow, R. Zimmermann, O. Fiehn, *Metabolomics* **2005**, *1*, 65–73; b) R. E. Mohler, B. P. Tu, K. M. Dombek, J. C. Hoggard, E. T. Young, R. E. Synovec, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1186*, 401–411; c) M. Oresic, T. Hyötyläinen, S.-K. Herukka, M. Sysis-Aho, I. Mattila, T. Seppänen-Laakso, V. Julkunen, P. V. Gopalacharyulu, M. Hallikainen, J. Koikkalainen, M. Kivipelto, S. Helisalmi, J. Löötjönen, H. Soininen, *Transl. Psychiatry* **2011**, *1*, e57; d) M. F. Almstetter, P. J. Oefner, K. Dettmer, *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *402*, 1993–2013.
- [11] a) J. C. Giddings, *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 1258A–1260A; b) J. C. Giddings, *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* **1987**, *10*, 319–323.
- [12] Z. Liu, J. B. Phillips, *J. Chromatogr. Sci.* **1991**, *29*, 227–231.
- [13] a) R. C. Y. Ong, P. J. Marriott, *J. Chromatogr. Sci.* **2002**, *40*, 276–291; b) T. Górecki, J. Harynuk, O. Panic, *J. Sep. Sci.* **2004**, *27*, 359–379; c) M. Adachour, J. Beens, U. A. T. Brinkmann, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1186*, 67–108.
- [14] L. Mondello, P. Q. Tranchida, P. Dugo, G. Dugo, *Mass Spectrom. Rev.* **2008**, *27*, 101–124.
- [15] a) J. C. Giddings, *Unified Separation Science*, Wiley, New York, **1991**; b) J. C. Giddings, *J. Chromatogr. A* **1995**, *703*, 3–15.
- [16] J. Beens, H. Boelens, R. Tijssen, J. Blomberg, *J. High Resolut. Chromatogr.* **1998**, *21*, 47–54.
- [17] a) H.-J. de Geus, J. de Boer, J. B. Phillips, E. B. Ledford, Jr., U. A. T. Brinkman, *J. High Resolut. Chromatogr.* **1998**, *21*, 411–413; b) A. L. Lee, K. D. Bartle, A. C. Lewis, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 1330–1335; c) T. T. Truong, P. J. Marriott, N. A. Porter, *J. Anal. Chem.* **2001**, *84*, 323–335.
- [18] a) P. Korytár, P. E. G. Leonards, J. de Boer, U. A. T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* **2002**, *958*, 203–218.
- [19] a) J. Dalluge, J. Beens, U. A. T. Brinkmann, *J. Chromatogr. A* **2003**, *1000*, 69–108; b) J. F. Focant, A. Sjodin, W. E. Turner, D. G. Patterson, Jr., *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 6313–6320; c) P. Korytár, P. E. G. Leonards, J. de Boer, U. A. T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 29–44.
- [20] a) J. Dalluge, R. J. J. Vreuls, J. Beens, U. A. T. Brinkman, *J. Sep. Sci.* **2002**, *25*, 201–214; b) R. Ong, P. J. Marriott, P. Morrison, P. Haglund, *J. Chromatogr. A* **2002**, *962*, 135–152.
- [21] J. Beens, R. Tijssen, J. Blomberg, *J. Chromatogr. A* **1998**, *822*, 233–251.
- [22] J. Beens, H.-G. Janssen, M. Adachour, U. A. T. Brinkmann, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 141–150.
- [23] F. L. Dorman, P. D. Schettler, L. A. Vogt, J. W. Cochran, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1186*, 196–201.
- [24] J. Harynuk, T. Górecki, *Am. Lab.* **2007**, *39*, 36–39.
- [25] C. J. Venkatramani, J. Xu, J. B. Phillips, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 1486–1492.
- [26] S. K. Poole, C. F. Poole, *J. Sep. Sci.* **2008**, *31*, 1118–1123.
- [27] G. Semard, V. Peulon-Agasse, A. Bruchet, J. P. Bouillon, P. Cardinal, *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 5449–5454.
- [28] M. Adahchour, J. Beens, R. J. J. Vreuls, A. M. Batenburg, U. A. T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* **2004**, *1054*, 47–55.
- [29] P. Haglund, P. Korytár, C. Danielsson, J. Diaz, K. Wiberg, P. Leonards, U. A. T. Brinkman, J. de Boer, *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, *390*, 1815–1827.
- [30] V. R. Reid, J. A. Clark, D. W. Armstrong, R. E. Synovec, *J. Sep. Sci.* **2008**, *31*, 3429–3436.
- [31] R. A. Shellie, P. J. Marriott, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 5426–5454.
- [32] M. Junge, H. Huegel, P. J. Marriott, *Chirality* **2007**, *19*, 228–234.
- [33] C. Meinert, J.-J. Filippi, P. de Marcellus, L. d'Hendecourt, U. J. Meierhenrich, *ChemPlusChem* **2012**, *77*, 186–191.
- [34] P. de Marcellus, C. Meinert, M. Nuevo, J.-J. Filippi, G. Danger, D. Deboffle, L. Nahon, L. d'Hendecourt, U. J. Meierhenrich, *Astrophys. J. Lett.* **2011**, *727*, L27.
- [35] B. Omais, M. Courtiade, N. Charon, J. Ponthus, D. Thiébaut, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 7550–7554.
- [36] a) C. A. Bruckner, B. J. Prazen, R. E. Synovec, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 2796–2804; b) J. V. Seeley, F. Kramp, C. J. Hicks, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 4346–4352; c) J. V. Seeley, *J. Chromatogr. A* **2012**, *1255*, 24–37.
- [37] J. B. Phillips, R. B. Gaines, J. Blomberg, F. W. M. van der Wielen, J.-M. Dimandja, V. Green, J. Granger, D. Patterson, L. Racovalis, H.-J. de Geus, J. de Boer, P. Haglund, J. Lipsky, V. Sinha, E. B. Ledford, *J. High Resolut. Chromatogr.* **1999**, *22*, 3–10.
- [38] a) P. J. Marriott, R. M. Kinghorn, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 2582–2588; b) R. S. Kinghorn, P. J. Marriott, *J. High Resolut. Chromatogr.* **1998**, *21*, 620–622; c) R. S. Kinghorn, P. J. Marriott, *J. High Resolut. Chromatogr.* **1999**, *22*, 235–238.
- [39] a) J. Beens, M. Adahchour, R. J. J. Vreuls, K. Altena, U. A. T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* **2001**, *919*, 127–132; b) J. Harynuk, T. Górecki, *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 53–63; c) M. Adahchour, J. Beens, U. A. T. Brinkman, *Analyst* **2003**, *128*, 213–216.
- [40] a) M. Libardoni, J. H. Waite, R. Sacks, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 2786–2794; b) M. Libardoni, E. Hasselbrink, J. H. Waite, R. Sacks, *J. Sep. Sci.* **2006**, *29*, 1001–1008.
- [41] P. Q. Tranchida, G. Purcaro, P. Dugo, L. Mondello, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2011**, *30*, 1437–1461.
- [42] J. V. Seeley, N. J. Primeau, S. V. Bandurski, S. K. Seeley, J. D. McCurry, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 1840–1847.
- [43] F. C. Y. Wang, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1188*, 274–280; F. C. Y. Wang, US Patent 2007/0214866A1, **2007**.
- [44] M. Poliak, M. Kochmann, A. Amirav, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1186*, 189–195.
- [45] H. J. Cortes, B. Winniford, J. Luong, M. Pursch, *J. Sep. Sci.* **2009**, *32*, 883–904.
- [46] J. Dalluge, L. L. P. van Stee, X. Xu, J. Williams, J. Beens, R. J. J. Vreuls, U. A. T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* **2002**, *974*, 169–184.
- [47] Z.-D. Zeng, H. M. Hugel, P. J. Marriott, *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *401*, 2373–2386.
- [48] a) B. V. Hollingsworth, S. E. Reichenbach, Q. Tao, A. Visvanathan, *J. Chromatogr. A* **2006**, *1105*, 51–58; b) B. Wang, A. Q. Fang, J. Heim, B. Bogdanov, S. Pugh, M. Libardoni, X. A. Zhang, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 5069–5081; c) S. Dasgupta, K. Banerjee, S. H. Patil, M. Ghaste, K. N. Dhumal, P. G. Adsule, *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 3881–3889; d) P. Q. Tranchida, G. Purcaro, C. Fanali, P. Dugo, G. Dugo, L. Mondello, *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 4160–4166; e) S. Castillo, I. Mattila, J. Miettinen, M. Oresic, T. Hyotylainen, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 3058–3067; f) S. D. Johanningsmeier, R. F. McFeeeters, *J. Food Sci.* **2011**, *76*, C168–C177.
- [49] a) R. A. Shellie, P. J. Marriott, *Analyst* **2003**, *128*, 879–883; b) R. A. Shellie, P. J. Marriott, C. W. Huie, *J. Sep. Sci.* **2003**, *26*, 1185–1192; c) M. Adahchour, M. Brandt, H.-U. Baier, R. J. J. Vreuls, A. M. Batenburg, U. A. T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1067*, 245–254; d) L. Mondello, A. Casilli, P. Q. Tranchida, M. Lo Presti, P. Dugo, G. Dugo, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *389*, 1755–1763; e) G. Purcaro, P. Q. Tranchida, C. Ragonese, L. Conte, P. Dugo, G. Dugo, L. Mondello, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 8583–8590.
- [50] Z. L. Cardeal, M. D. R. Gomes da Silva, P. J. Marriott, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 2823–2836.
- [51] P. Korytár, J. Parera, P. E. G. Leonards, J. de Boer, U. A. T. Brinkmann, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1067*, 255–264.
- [52] P. Korytár, J. Parera, P. E. G. Leonards, F. J. Santos, J. de Boer, U. A. T. Brinkmann, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 71–82.
- [53] a) H. J. Tobias, G. L. Sacks, Y. Zhang, J. T. Brenna, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 8613–8621; b) H. J. Tobias, Y. Zhang, R. J. Auchus, J. T. Brenna, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 7158–7165.
- [54] J.-F. Focant, E. J. Reiner, K. MacPherson, T. Kolic, A. Sjödin, D. G. Patterson Jr., S. L. Reese, F. L. Dorman, J. Cochran, *Talanta* **2004**, *63*, 1231–1240.

- [55] a) N. Ochiai, T. Ieda, K. Sasamoto, A. Fushimi, S. Hasegawa, K. Tanabe, S. Kobayashi, *J. Chromatogr. A* **2007**, *1150*, 13–20; b) H. Shunji, T. Yoshikatsu, F. Akihiro, I. Hiroyasu, T. Kiyoshi, S. Yasuyuki, U. Masa-aki, K. Akihiko, T. Kazuo, O. Hideyuki, A. Katsunori, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1178*, 187–198.
- [56] a) C. Danielsson, K. Wiberg, P. Korytár, S. Bergek, U. A. T. Brinkmann, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 61–70; b) A. M. Muscalu, E. J. Reiner, S. N. Liss, T. Chen, G. Ladwig, D. Morse, *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *401*, 2403–2413.
- [57] a) D. Ryan, P. Watkins, J. Smith, M. Allen, P. Marriott, *J. Sep. Sci.* **2005**, *28*, 1075–1082; b) D. Ryan, P. Marriott, *J. Sep. Sci.* **2006**, *29*, 2375–2382.
- [58] W. Khummueng, P. Morrison, P. J. Marriott, *J. Sep. Sci.* **2008**, *31*, 3404–3415.
- [59] L. L. P. van Stee, J. Beens, R. J. J. Vreuls, U. A. T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 89–99.
- [60] R. Hua, Y. Li, W. Liu, J. Zheng, H. Wei, J. Wang, X. Lu, H. Kong, G. Xu, *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 101–109.
- [61] M. Z. Öznel, J. F. Hamilton, A. C. Lewis, *Environ. Sci. Technol.* **2011**, *45*, 1497–1505.
- [62] B. d'Acampora Zellner, A. Casilli, P. Dugo, G. Dugo, L. Mondello, *J. Chromatogr. A* **2007**, *1141*, 279–286.
- [63] V. Schurig, H.-P. Nowotny, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 969–986; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 939–957; V. Schurig, M. Jung, S. Mayer, S. Negura, M. Fluck, H. Jakubetz, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2265–2267; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2222–2223.
- [64] H. Frank, G. J. Nicholson, E. Bayer, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 396–398; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, *17*, 363–365.
- [65] U. Beitler, B. Feibusch, *J. Chromatogr.* **1976**, *123*, 149–166.
- [66] a) L. M. Blumberg, *J. Chromatogr. A* **2003**, *985*, 29–38; b) L. M. Blumberg, F. David, M. S. Klee, P. Sandra, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1188*, 2–16.
- [67] D. Ryan, P. Morrison, P. Marriott, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1071*, 47–53.
- [68] a) E. L. Schymanski, C. Meinert, M. Meringer, W. Brack, *Anal. Chim. Acta* **2008**, *615*, 136–147; b) E. L. Schymanski, M. Bataineh, K.-U. Goss, W. Brack, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2009**, *28*, 550–561; c) HighChem. *Mass Frontier*, 5.0 trial version; HighChem. Ltd./Thermo Scientific, **2007**.
- [69] J. V. Seeley, S. K. Seeley, *J. Chromatogr. A* **2007**, *1172*, 72–83.
- [70] a) R. J. Western, P. J. Marriott, *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 3–14; b) S. Bieri, P. J. Marriott, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 760–768; Y. Zhao, J. Zhang, B. Wang, S. H. Kim, A. Fang, B. Bogdanov, Z. Zhou, C. McCain, X. Zhang, *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 2577–2583; c) C. von Mühlén, P. J. Marriott, *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *401*, 2351–2360.
- [71] J. S. Arey, R. K. Nelson, L. Xu, C. M. Reddy, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 7172–7182.
- [72] J. V. Seeley, E. M. Libby, K. A. Hill Edwards, S. K. Seeley, *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 1650–1657.
- [73] J. J. Harynuk, A. H. Kwong, P. J. Marriott, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1200*, 17–27.
- [74] a) C. A. Cramers, H.-G. Janssen, M. M. van Deursen, P. A. Leclercq, *J. Chromatogr. A* **1999**, *856*, 315–329; b) P. Korytár, H.-G. Janssen, E. Matisová, U. A. T. Brinkman, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2002**, *21*, 558–572.
- [75] a) L. M. Blumberg, M. S. Klee, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 3828–3839; b) M. S. Klee, L. M. Blumberg, *J. Chromatogr. A* **2002**, *40*, 234–247.
- [76] M. Junge, S. Bieri, H. Huegel, P. J. Marriott, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 4448–4454.
- [77] G. Lambertus, R. Sacks, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 2078–2084.
- [78] S. M. Reidy, S.-J. Kim, K. Beach, B. P. Block, E. T. Zellers, K. Kurabayashi, K. D. Wise, *Solid-State Sensors, Actuators, and Microsystems Workshop*, Hilton Head Island, South Carolina, **2010**, S. 78–81.
- [79] S.-J. Kim, S. M. Reidy, B. P. Block, K. D. Wise, E. T. Zellers, K. Kurabayashi, *Lab Chip* **2010**, *10*, 1647–1654.
- [80] U. J. Meierhenrich, J.-J. Filippi, C. Meinert, P. Vierling, J. P. Dworkin, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3826–3839; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3738–3750.
- [81] a) M. M. Bushey, J. W. Jorgenson, *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 161–167; b) L. A. Holland, J. W. Jorgenson, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 3275–3283; c) D. R. Stoll, P. W. Carr, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5034–5035; d) D. R. Stoll, *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *397*, 979–986; e) M. X. Gao, D. W. Qi, P. Zhang, C. H. Deng, X. M. Zhang, *Expert Rev. Proteomics* **2010**, *7*, 665–678.
- [82] a) M. M. Bushey, J. W. Jorgenson, *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 978–984; b) J. Zhang, H. Hu, M. Gao, P. Yang, X. Zhang, *Electrophoresis* **2004**, *25*, 2374–2383.
- [83] a) D. A. Michels, S. Hu, K. A. Dambrowitz, M. J. Eggertson, K. Lauterbach, N. J. Dovichi, *Electrophoresis* **2004**, *25*, 3098–3105; b) H. Liu, C. Yang, Q. Yang, W. Zhang, Y. Zhang, *J. Chromatogr. B* **2005**, *817*, 119–126.
- [84] a) W. C. Quigley, C. G. Fraga, R. E. Synovec, *J. Microcolumn Sep.* **2000**, *12*, 160–166; b) S. de Koning, H.-G. Janssen, M. van Deursen, U. A. T. Brinkman, *J. Sep. Sci.* **2004**, *27*, 397–409.
- [85] a) R. Edam, J. Blomberg, H.-G. Janssen, P. J. Schoenemakers, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 12–20; b) M. Biedermann, K. Grob, *J. Sep. Sci.* **2009**, *32*, 3726–3737.
- [86] A. W. Moore, J. W. Jorgenson, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 3456–3463.
- [87] a) E. B. Ledford, C. A. Billesbach, Q. Y. Zhu, *J. High Resolut. Chromatogr.* **2000**, *23*, 205–207; b) N. E. Watson, W. C. Siegler, J. C. Hoggard, R. E. Synovec, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 8270–8280.
- [88] W. C. Siegler, J. A. Crank, D. W. Armstrong, R. E. Synovec, *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 3144–3149.
- [89] W. Welthagen, S. Mitschke, F. Mühlberger, R. Zimmermann, *J. Chromatogr. A* **2007**, *1150*, 54–61.