

CHROM. 11,847

## Note

---

### Einfache Anordnung zur Adsorption von Geruchsstoffen aus Algen an Tenax GC und deren Überführung in Gaschromatographie-Systeme

F. JÜTTNER und K. WURSTER

*Institut für Chemische Pflanzenphysiologie, Universität Tübingen, Corrensstrasse 41, D 74 Tübingen (B.R.D.)*

(Eingegangen am 2. Februar 1979)

Wiederholt ist berichtet worden<sup>1–3</sup>, dass Algenblüten eine grosse Zahl organischer Substanzen an das Wasser abgeben, dadurch dessen Geruch und Geschmack verändern und die Qualität des Rohwassers verschlechtern. Da Algenblüten nur sporadisch auftreten und eine längerdauernde Untersuchung nicht möglich machen, benutzten wir Algengrosskulturen, um diese Stoffe zu identifizieren. Dazu war es notwendig, sehr geringe Mengen flüchtiger Stoffe zu konzentrieren und in Gaschromatographie-Systeme zu überführen. Wir benutzten dazu eine einfache Anordnung, die eine Adsorption flüchtiger Komponenten an Tenax GC zuließ und eine anschliessende quantitative Überführung und kapillar-gaschromatographische Trennung dieser Substanzen ermöglichte, ohne dass Umbauten an den Gaschromatographen erforderlich wurden.

#### MATERIAL UND METHODEN

##### *Gaschromatographie und Massenspektrometrie*

Zur gaschromatographischen Trennung wurde ein Gaschromatograph Fractovap 2150 der Firma Carlo Erba mit einer 25-m "wall-coated open tubular" (WCOT)-Glaskapillarsäule, die mit UCON 50 HB 5100 beschichtet war (WGA, Darmstadt, B.R.D.), verwendet. Als Trägergas wurde H<sub>2</sub> (100 ml/min) bei einem Splittverhältnis von 1:30 benutzt. Die Temperaturen des Einspritzblocks und des Flammenionisationsdetektors wurden bei 200° gehalten. Die Peak-Flächen wurden mit einem Integrator Supergrator-2 (Columbia Science Industries) bestimmt. Zur Aufnahme der Massenspektren diente ein MAT 112 S mit gleicher Säule aber Helium als Trägergas. Die Ionisationsenergie lag bei 80 eV.

##### *Geruchs-Sammelröhrchen*

Zur Adsorption der Geruchsstoffe wurde Tenax GC 60–80 mesh (Applied Science Labs.) verwendet. 0.15 g Tenax GC, das jeweils von 1-cm Glaswatte begrenzt war, wurde in Glas-Spritzkörper (150 mm × 10 mm O.D. × 8 mm I.D.) gefüllt, deren eine Ende durch einen fest eingekitteten Luer-Lock-Schraubverschluss verschlossen war (Fig. 1). Die Geruchs-Sammelröhrchen sind Sonderanfertigungen der Firma Henke und Saas/Tuttligen. Transport und Lagerung dieser Röhrchen

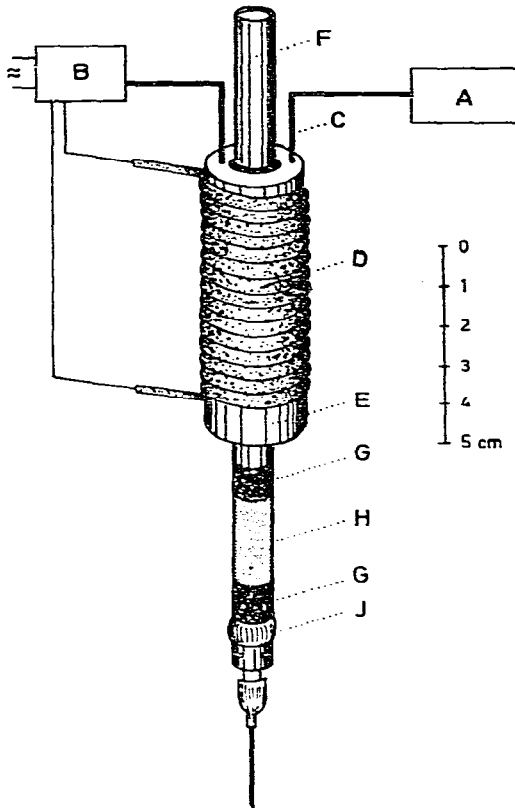


Fig. 1. Geruchs-Sammelröhrchen und Heizblock zur Überführung flüchtiger Substanzen in Gaschromatographen. A = Temperaturanzeige, B = Temperaturregler, C = Temperaturfühler, D = Heizschnur, E = Messing-Zylinder, F = Geruchs-Sammelröhrchen, G = Glaswatte, H = Tenax GC, J = Luer-Lock-Anschluss.

erfolgte in kleinvolumigen Schliffgläsern (20 cm Länge, 2 cm Durchmesser) bei Zimmertemperatur.

#### *Thermische Elution der Geruchs-Sammelröhrchen*

Zur thermischen Elution der auf Tenax GC adsorbierten Substanzen wurde durch das Septum des Einspritzblocks eines Gaschromatographen eine 22-mm lange Luer-Lock-Nadel mit einem inneren Durchmesser von 0.2 mm durchgesteckt und mit dem Geruchs-Sammelröhrchen verbunden. Über dieses wurde dann mit einer beweglichen Anordnung ein Heizzylinder aus Messing geschoben. Dieser hatte eine Länge von 6.5 cm, eine innere Bohrung von 10.5 mm, einen Aussendurchmesser von 22 mm und war von einer 1 m langen Heizschnur aus Glasseide (150 W) umwickelt (Fig. 1).

Zwei Bohrungen an der Schmalseite des Zylinders waren zum Einsetzen eines Thermo- und Heizfühlers vorgesehen, die mit einem Anzeige- und Temperaturregler (Herastat) verbunden waren. Das freie Ende des Geruchs-Sammelröhrchens wurde dann mit einer Metallverschraubung mit einer Wasserstoffquelle verbunden. Der Wasserstoffvordruck betrug 0.4 MPa und wurde mit einem Nadelventil

weiterreduziert, so dass bei Probenaufgabe das Manometer für das Trägergas 0.04 MPa anzeigte. Der Durchfluss lag bei 100 ml/min. Vor der thermischen Elution wurde der Ofenraum des Gaschromatographen durch Hineinstellen eines Gefäßes mit flüssigem Stickstoff auf  $-10^{\circ}$  abgekühlt und der Trägergasstrom abgestellt. Dann wurde der Heizblock in 2.5 min auf  $300^{\circ}$  aufgeheizt und weitere 1.5 min bei dieser Temperatur gehalten. Nach dieser Zeit waren die adsorbierten Komponenten vollständig eluiert, und das Geruchs-Sammelröhrchen war bereits für eine nächste Probennahme regeneriert. Zur gaschromatographischen Trennung der so aufgetragenen Substanzen wurde das Gefäß mit flüssigem Stickstoff entfernt, der Ofenraum zunächst rasch auf  $0^{\circ}$  und dann mit einem Temperaturprogramm von  $6^{\circ}/\text{min}$  bis auf  $180^{\circ}$  aufgeheizt.

#### *Überlagerung mit authentischen Substanzen*

Wenn die Massenspektren und Retentionszeiten unbekannter Verbindungen mit denen authentischer Substanzen identisch waren, wurde eine Überlagerung durchgeführt. Eine eingestellte Menge authentischer Substanz wurde mit einem inneren Standard in *n*-Pentan gelöst und auf das beladene Tenax GC aufgetragen. Dann wurde zunächst bei  $60^{\circ}$  das Lösungsmittel in 5 min mit einem Wasserstoff-Gasstrom ausgeblasen. Anschliessend wurden die Substanzen thermisch eluiert und chromatographiert.

#### *Extraktion der Geruchsstoffe aus den Algenkulturen*

Die Geruchsstoffe der Algenkulturen wurden mit einem kontinuierlichen Gasstrom eines 1.2%  $\text{CO}_2$ -Luft-Gemisches ausgetragen. Das Gas-Gemisch diente gleichzeitig zur Versorgung der Algen mit  $\text{CO}_2$ . Sechs Geruchs-Sammelröhrchen wurden parallel geschaltet, und durch jedes wurde 30 min 1 l/min Abluft durchgeblasen. Dabei kam es gelegentlich zu geringer Kondensation von Wasser. Dieses wurde nach vorsichtigem Beföhnen mit einem  $\text{H}_2$ -Gasstrom entfernt. Das  $\text{CO}_2$ -Luft-Gemisch wurde vor Eintritt in die Algenkultur von organischen Bestandteilen gereinigt. Es wurde dazu durch ein Katalysator-Rohr geschickt, das mit 600 g Pt/ $\alpha\text{Al}_2\text{O}_3$  (Heraeus) gefüllt war und auf  $500^{\circ}$  gehalten wurde.

#### *Algengrosskultur*

Zur Untersuchung wurde *Cyanidium caldarium* verwendet, das unter gleichen Bedingungen wie beschrieben<sup>4</sup> in einer 110-l Algengrosskulturanlage<sup>5</sup> kultiviert wurde.

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Das ursprünglich von Zlatkis *et al.*<sup>6</sup> verwendete und anschliessend vielfach variierte System zur Adsorption flüchtiger Verbindungen an Tenax GC<sup>7-9</sup> oder andere Polymere<sup>10</sup> erfordert einige Umbauten an den verwendeten Gaschromatographen, was die allgemeine Verwendung dieses Systems einschränkt. Durch einige wesentliche Änderungen konnten wir das System soweit vereinfachen, dass es direkt in jedem Gaschromatographen oder jeder Gaschromatographie-Massenspektrometer-Kombination ohne Umbauten angewendet werden kann.

Als erstes erwies sich die Verwendung einer speziellen Speichersäule als über-

flüssig, wenn die Kapillarsäule beim Auftragen der Substanz genügend gekühlt wurde. Bei einer UCON 50 HP 5100 beschichteten Kapillarsäule reichte eine Kühlung auf  $-10^{\circ}$  des Ofenraumes aus. Bei den schnell eluierten Kohlenwasserstoffen kam es bis zum *n*-Octan zu einer geringen Peak-Verbreiterung. Ein Verstopfen der Säule beim Übertragen der Substanzen wurde bisher nicht beobachtet.

Als zweites wurde ein Geruchs-Sammelröhrchen konstruiert, von dem die adsorbierten Substanzen leicht thermisch eluiert und in den Gaschromatographen überführt werden können, ohne Änderungen am Einspritzblock vornehmen zu müssen. Die Vollständigkeit der Überführung wurde an einem Testgemisch aus  $\alpha$ -Pinen, Myrcen, Methylheptenon, *n*-Pentadecan, Caryophyllen, Carvon, Geranylacetone und  $\beta$ -Ionon, das in der aufgeführten Reihenfolge eluiert wurde, getestet. Bei 6 min Aufheizen des Geruchs-Sammelröhrchens auf  $100^{\circ}$  wurde nur  $\alpha$ -Pinen eluiert, bei  $150^{\circ}$  fehlten  $\beta$ -Ionon und Geranylacetone, und Carvon war abgeschwächt. Bei  $200$ ,  $250$  und  $300^{\circ}$  waren keine Unterschiede in der thermischen Elution zu beobachten. Die selektive Elution ausschliesslich niedrigflüchtiger Substanzen bei niedrigen Temperaturen wurde zur Entfernung von Lösungsmitteln beim Auftragen von Referenzsubstanzen verwendet. Die Elutionszeit liess sich ohne Substanzverlust bei  $250^{\circ}$  auf 3 min verkürzen, wobei 2.5 min zum Erreichen der Endtemperatur benötigt wurden. Fig. 2 gibt ein Gaschromatogramm der flüchtigen Stoffe wieder, die mit einem Gasstrom (30 l) in 30 min aus einer 110-l Kultur von *Cyanidium*

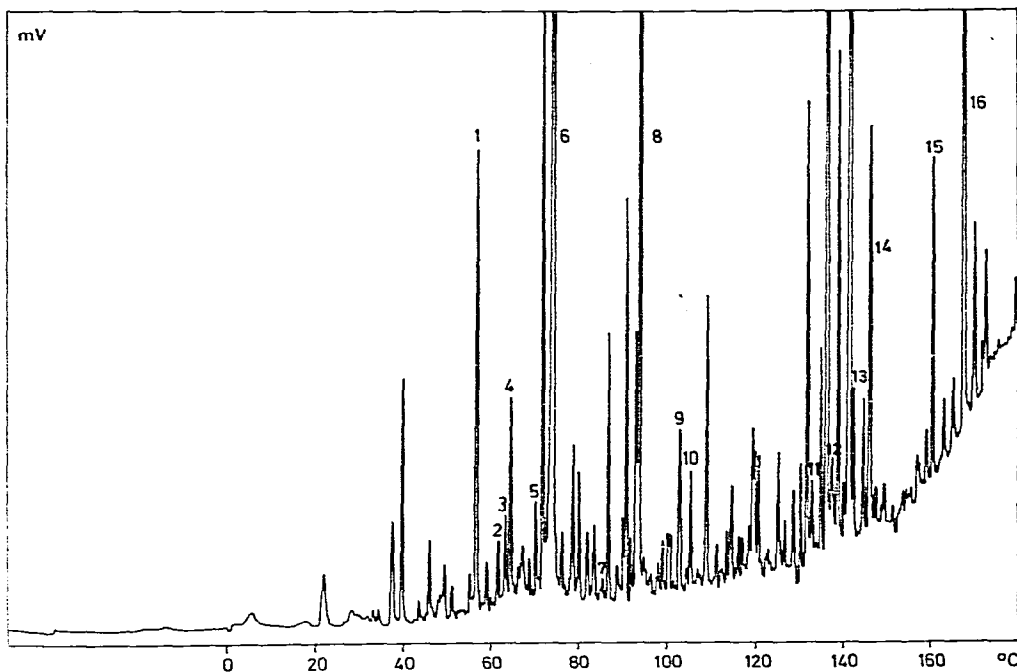


Fig. 2. Gaschromatogramm der flüchtigen Verbindungen von 30-l Abluft einer Kultur von *Cyanidium caldarium*, aufgetragen mit einem Geruchs-Sammelröhrchen auf eine Glas-Kapillarsäule UCON 50 HP 5100. Peaks: 1 = *n*-Decan, 2 = Äthylbenzol, 3 = *p*-Xylol, 4 = *m*-Xylol, 5 = *o*-Xylol, 6 = *n*-Undecan, 7 = Octanon-3, 9 = *p*-Dichlorbenzol, 10 = Tridecan, 11 = *n*-Pentadecan, 12 = Naphthalin. Nor-Carotinoide: 8 = Methylheptenon, 13 = Methylgeraniat, 14 = Dihydrotrimethyl-naphthalin, 15 = Geranylacetone, 16 =  $\beta$ -Ionon.

caldarium ausgetragen und auf ein Geruchs-Sammelröhrchen aufgetragen wurden. Die Identifizierung der Einzelkomponenten erfolgte mit Hilfe der Massenspektren und durch Überlagerung mit Vergleichssubstanzen. Zahlreiche kleinere Peaks liessen sich einfach identifizieren, da sie weitverbreitete Verunreinigungen des Wassers<sup>11,12</sup> und der Luft<sup>13</sup> darstellen. Sie stellen überwiegend den nur schwer reduzierbaren Untergrund dar, der durch Verunreinigungen des destillierten Wassers, der Nährsalze, Begasungsluft etc. eingeschleppt wird. Ein Teil der grösseren Peaks konnte als 6-Methylhept-5-en-2-on, 1,2-Dihydro-1,1,6-trimethylnaphthalin, Methylgeraniat, Geranylaceton und  $\beta$ -Ionon identifiziert werden. Sie werden von der Alge in das Medium exkretiert und gehören alle zur Gruppe der Nor-Carotinoide. Es konnte gezeigt werden, dass sie teilweise eine sehr starke physiologische Wirkung auf das Wachstum anderer Algen ausüben können<sup>4</sup>. Die Bestimmung sehr kleiner Mengen dieser Komponenten in Algenkulturen erfolgte in einer Anordnung nach Grob und Grob<sup>14</sup>, jedoch war statt der Aktivkohle ein Geruchs-Sammelröhrchen in den Kreislauf geschaltet. Eine Verdünnung der Probe, wie sie bei der Lösungsmittlextraktion auftritt, wurde hierdurch vermieden. Die Geruchs-Sammelröhrchen stellen somit ein ideales System dar, um kleinste Mengen flüchtiger Stoffe im Wasser und in Gasen nachzuweisen.

#### DANK

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sind wir für finanzielle Unterstützung und der Firma Firmenich SA/Genf für die Überlassung einer Probe von Methylgeraniat zu Dank verpflichtet.

#### LITERATUR

- 1 E. A. Sigworth, *J. Amer. Wat. Works Ass.*, 49 (1957) 1507.
- 2 H. Liebmann, *Münch. Beitr. Abwasser-, Fisch- Flussbiol.*, 12 (1965) 127.
- 3 E. G. Bellinger, *Proc. Soc. Wat. Treat. Exam.*, 18 (1969) 106.
- 4 F. Jüttner, *Z. Naturforsch. C*, 34 (1979) 186.
- 5 F. Jüttner, in N. G. Carr und B. A. Whitton (Herausgeber), *The Biology of Blue-Green Algae*, Blackwell Sci. Publ., Oxford, 1973, S. 536.
- 6 A. Zlatkis, H. A. Lichtenstein und A. Tishbee, *Chromatographia*, 6 (1973) 67.
- 7 W. Bertsch, A. Zlatkis, H. M. Liebich und H. J. Schneider, *J. Chromatogr.*, 99 (1974) 673.
- 8 T. A. Bellar und J. J. Lichtenberg, *J. Amer. Wat. Works Ass.*, 66 (1974) 739.
- 9 M. Vanhaelen. R. Vanhaelen-Fastré und J. Geeraerts, *J. Chromatogr.*, 144 (1977) 108.
- 10 K. E. Murray, *J. Chromatogr.*, 135 (1977) 49.
- 11 W. Kölle, K.-H. Schweer, H. Güsten und L. Stieglitz, *Vom Wasser*, 39 (1972) 109.
- 12 F. Zürcher und W. Giger, *Vom Wasser*, 47 (1976) 37.
- 13 K. Grob und G. Grob, *J. Chromatogr.*, 62 (1971) 1.
- 14 K. Grob und G. Grob, *J. Chromatogr.*, 90 (1974) 303.