

Ein paar Worte zur Probenvorbereitung für die LC/MS

(veröffentlicht auf www.analytik-news.de am 1. September 2009)

Der Einzug der LC/MS in die Routineanalytik hat das Leben der Analytiker eindeutig erleichtert. Probleme mit Co-Elutionen gehören mit MS/MS weitgehend der Vergangenheit an, man „sieht“ nur noch die Substanzen, die man sehen möchte, der Rest kann ausgeblendet werden.

Aber was bedeutet das für die Probenvorbereitung?

Vieles hat sich vereinfacht.

- ✓ Durch die stark verbesserte Empfindlichkeit kann häufig auf eine Anreicherung verzichtet werden, Proben können theoretisch direkt injiziert werden, ggf. über eine „Large Volume“ Injektion.
- ✓ Doch ganz so einfach ist es nicht, denn je nach Matrix ist immer noch eine Aufreinigung notwendig.
- ✓ Verdünnen kann helfen („Dilute & Shoot“), aber auch nicht immer.

Worin liegt denn das Problem?

Ionensuppression heißt das Zauberwort.

- ✓ Darunter versteht man die Beeinflussung der Ionisierung eines Analyten durch zeitgleich in der Ionenquelle vorhandene Matrix- oder sonstige Probenbestandteile.
- ✓ Meist ist die im Überschuss vorhandene Matrix das Problem.
- ✓ Die Folge der Beeinflussung ist in den meisten Fällen eine verringerte Anzahl an Ionen, die nachfolgend im MS detektiert werden können, aber auch eine Erhöhung der Ionenausbeute ist möglich.

Für den Analytiker heißt dies,

- ✓ er kann sich nicht unbedingt darauf verlassen, dass die Größe des Signals (Peakfläche / Peakhöhe) richtig ist, woraus ein falsches Messergebnis resultieren kann.
- ✓ man sieht keine Überlagerungen, kann Peaks einwandfrei auswerten, aber die Signalintensität kann trotzdem falsch sein.

Wie erkennt man Ionensuppression?

- ✓ Man kann sie messen mittels Post-Column-Infusion und so genau sehen, in welchem Bereich eines Chromatogramms eine Störung für einen bestimmten Analyten auftritt.
- ✓ Man erkennt sie, wenn man nach Verdünnen der Messlösung eine höhere Signalintensität erhält.
- ✓ Man erkennt sie, wenn man einen Vergleich der Signalintensitäten anstellt zwischen einem Standard, der in reinem Lösemittel angesetzt wurde, und einem Standard gleicher Konzentration, der zur Probenmatrix (Leermatrix) oder einer aufgearbeiteten Leermatrix zudosiert wurde.

Was heißt das für die Probenvorbereitung?

- ✓ Häufig sind Filtration (bei Partikelbelastung und insbesondere wenn LC-Säulen mit kleinen Partikeln verwendet werden) und Verdünnung vollkommen ausreichend,
- ✓ man sollte aber auf jeden Fall prüfen, ob Ionensuppression vorliegt.

Wenn Ionensuppression vorliegt,

- ✓ kann man noch versuchen, die chromatographischen Bedingungen so zu optimieren, dass die Analyten besser von der Matrix und sonstigen Probenbestandteilen abgetrennt sind.
 - Bei polaren Analyten genügt es häufig, deren Retention etwas zu verlängern, um sie aus dem Anfangsbereich des Chromatogramms heraus zu halten, in dem alle hoch polaren Matrixbestandteile erscheinen (z.B. Salze).
 - Man kann dies je nach Analyt beispielsweise durch Verwendung einer polar modifizierten Säule erreichen (Varian Polaris-Reihe) oder durch Einsatz des HILIC-Mechanismus (mit einer Varian Monochrom MS-Säule).
- ✓ Aber je nach Art der störenden Substanzen und Komplexität der Probe lässt sich mit chromatographischen Mitteln alleine nicht allzuviel erreichen.

Dann ist die Probenvorbereitung gefragt!

Ein paar Worte zur Probenvorbereitung für die LC/MS

(veröffentlicht auf www.analytik-news.de am 1. September 2009)

- ✓ Die **Festphasenextraktion** (SPE) ist immer noch die Methode, die die **reinsten Extrakte** liefert.
- ✓ Die **Flüssigextraktion** wässriger Proben **in der Kartusche** (mit **ChemElut**) ist eine recht **unkomplizierte** Methode zur Probenvorbereitung, wenn die Analyten in Lösemitteln wie Hexan, Ethylacetat, TBME, Chloroform oder Dichlormethan gut löslich sind.
Allerdings ist damit ein **Lösemittelwechsel** vor der Messung **notwendig**.
- ✓ Aber für die **LC/MS** geht es häufig **einfacher**, der **Extrakt** muss ja **nicht immer perfekt rein** sein, sondern **nur rein genug**, um die Ionensuppression in den Griff zu bekommen. Alles andere schafft die MS/MS.

Beispiele:

- ✓ **Entfernung von Salzen** (z.B. aus Urin) über PL-Mixed MP Kartuschen (Kombination von Anionen- und Kationenaustauscher auf Polymerbasis)
- ✓ **Entfernung von Proteinen und Phospholipiden** (aus Serum und Plasma) mit **Captiva ND Lipids**
- ✓ **Extraktaufreinigung** bei der **Bestimmung von Mycotoxinen** (Trichothecene) in Getreide und Futtermitteln mit Bond Elut Mycotoxin.