Unpolare SPE: Konditionierung

(veröffentlicht auf www.analytik-news.de am 13. Januar 2009)

Kontakt:
Tel. 06151-703273
ute.beyer@varianinc.com

Nachdem wir uns bisher mit der Vorbehandlung der Probe für die unpolare SPE beschäftigt haben, wenden wir uns heute der Behandlung des SPE-Materials zu.

Welche Materialien kann man für die unpolare SPE (Anreicherung aus wässriger Lösung) einsetzen?

Kieselgelbasierendes Material, z.B.

- Bond Elut C18, C8, C2, C1, CH (Cyclohexyl), PH (Phenyl)
- SPEC C18AR, C18, C8, C2, Phenyl

Polymer, z.B.

- Bond Elut Plexa, PPL, LMS, ENV
- Nexus, Focus

Warum muss man konditionieren?

Das unpolare SPE-Sorbens muss für die polare (wäßrige) Probe „aufnahmefähig“ gemacht werden.

Das heißt: Die Oberfläche des Sorbens muss vollständig von wässriger Lösung benetzt sein. Da die Oberfläche aber unpolar ist, kann man nicht direkt Wasser aufgeben, es würde quasi abgestoßen werden, man braucht einen Lösungsvermittler, der die unpolare Oberfläche benetzen kann

Oberfläche des Sorbens

Es handelt sich bei den Sorbentien um hoch poröse Teilchen. Die äußere, leicht zugängliche Oberfläche ist sehr gering im Vergleich zur Oberfläche IN den Poren. Um maximale Wechselwirkungen zu ermöglichen, muss die riesige innere Oberfläche der Sorbenspartikel aufnahmefähig, also benetzt sein

Typische Konditionierungsvorschrift:

1. 1 – 2 Säulenvolumina Methanol
   - kurz einwirken lassen
   - langsam durchtropfen lassen (ca. 1-2 mL/min)
   - Sorbens nicht trocken laufen lassen, d.h. STOP, wenn die Flüssigkeit knapp über der Fritte steht
2. Anschließend 1 – 2 Säulenvolumina Wasser (bzw. Puffer oder Säure/Base, falls eine pH-Wert-Einstellung notwendig ist)
   - aufgeben
   - langsam durchtropfen lassen (ca. 1-2 mL/min)
   - Sorbens nicht trocken laufen lassen, d.h. STOP, wenn die Flüssigkeit knapp über der Fritte steht

Warum ist ein langsamer Durchfluss günstig?

Es braucht etwas Zeit, bis das Lösemittel IN alle Poren gelangt ist. Bei zu schnellem Durchfluß erreicht man u.U. nicht die ganze (innere) Oberfläche, so dass die Kapazität der Kartusche (drastisch) abnehmen kann.

Bei der Methodenentwicklung unbedingt das Durchtropfen beobachten! Auch bei automatisierten Systemen und inbesondere dann, wenn die Kartuschengröße, Sorbensmenge oder das Material geändert wurde.

Warum sollte das Sorbens nach der Zugabe von Methanol nicht mehr trocken laufen?

Weil dann u.U. die Benetzung nicht mehr vollständig ist. Folge:

- Geringere Kapazität, weniger (bzw. im Extremfall keine) Wechselwirkungen
- Und damit: geringere Wiederfindungsraten

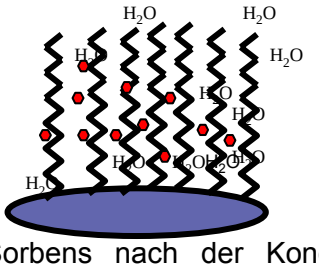
Unpolare SPE: Konditionierung

(veröffentlicht auf www.analytik-news.de am 13. Januar 2009)

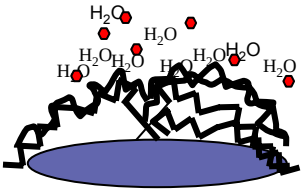
Kontakt:
Tel. 06151-703273
ute.beyer@varianinc.com

Warum ist Trockenlaufen bei C18-Materialien schlimmer als bei Polymer-materialien?

Durch die Konditionierung werden die C18-Ketten „aufgefaltet“ und so erst für die wässrige Probe zugänglich.



Läuft das Sorbens nach der Konditionierung trocken, ist es nur eine Frage der Zeit, bis die C18-Ketten quasi wieder „zusammenfallen“ und wie im unkonditionierten Zustand von der wässrigen Probe nicht benetzt werden können.



Bei Polymermaterialien sind keine Ketten vorhanden, die aufgefaltet werden müssten. So lange die Poren innen noch benetzt sind, ist es nicht ganz so schlimm wenn das Material nach der Konditionierung kurz trocken läuft. (Bond Elut Plexa beispielsweise verträgt dies nahezu ohne Einbußen bei der Wiederfindung.)

Was ist „non-conditioned“ SPE?

Es gibt sogar Polymermaterialien, die durch entsprechende Oberflächenmodifikation für den Einsatz ohne Konditionierung konzipiert sind (z.B. Nexus). Das funktioniert tatsächlich, da die Oberfläche ausreichend wasserbenetzbar ist (im Gegensatz zu nicht modifizierten Polymeren).

ABER: wer maximale Reproduzierbarkeit und Kapazität erreichen möchte, sollte immer ordentlich konditionieren.

Was kann man tun, wenn die Kartusche aus Versehen trocken gelaufen ist?

Wenn die Probenaufgabe noch nicht begonnen hat, konditioniert man einfach neu mit Methanol und Wasser.

Wie fällt eine schlechte Konditionierung auf?

Häufig schon durch Änderung des Flußwiderstandes bei gleichbleibendem Vakuum oder Überdruck. Und natürlich am Ende der Analyse durch zu geringe Wiederfindungsraten aufgrund ungenügender Retention der Analyten

Warum wird in manchen Methoden mit mehreren organischen Lösemitteln konditioniert?

z.B. Dichlormethan → Methanol → Wasser
oder Isooctan → Methanol → Wasser

In erster Linie macht die Konditionierung das Sorbens aufnahmebereit für die Probe, d.h. sie ermöglicht die Wechselwirkungen zwischen Analyt und Sorbensoberfläche. Die Konditionierung kann aber auch als Reinigungsschritt angesehen werden, mit dem evtl. vorhandene Spuren von Verunreinigungen aus dem Sorbens und der Kunststoff-Kartusche entfernt werden. Insbesondere bei Polymermaterialien war dies früher notwendig, die modernen Materialien weisen aber eine viel höhere Reinheit auf.

Wer auf Nummer Sicher gehen will, konditioniert mit dem Elutionsmittel (gefolgt von Wasser/Puffer), dann kann man relativ sicher sein, dass bei der Elution keine Verunreinigungen welcher Art auch immer (aus Sorbens, Kartusche, aus dem Labor) im Eluat landen.

Was ist bei der Wahl der organischen Lösemittel für die Konditionierung zu beachten?

Sie müssen wassermischbar sein, denn sie sollen ja als Lösungsvermittler für die wässrige Probe dienen.

Ist das Elutionsmittel nicht mit Wasser mischbar, braucht man ein zweites Lösemittel zum Vermitteln, z.B. nach Dichlormethan kann Methanol eingesetzt werden, dann erst Wasser.

Ist das Elutionsmittel bzw. „Reinigungslösemittel“ auch nicht mit Methanol mischbar, muss die Kartusche danach getrocknet werden, z.B. Reinigung mit Isooctan, dann trocknen, dann Konditionierung mit Methanol und Wasser.