

Unpolare SPE: Konditionierung

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

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 insbesondere 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:

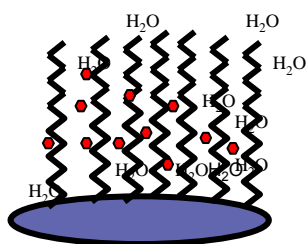
- **Geringere Kapazität**, weniger (bzw. im Extremfall keine) Wechselwirkungen
- Und damit: geringere Wiederfindungsraten

Unpolare SPE: Konditionierung

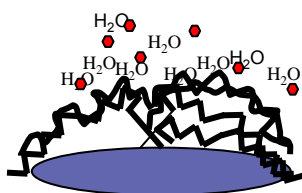
(veröffentlicht auf www.analytik-news.de am 13. Januar 2009)

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 Lösungsmittel 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.