



Den Elementen gezielt auf der Spur: Kopplungen mit der Element-Massenspektrometrie

Steigende Anforderungen an die Reinheit von hochreinen Chemikalien und Wirkstoffen und die selektive Quantifizierung von Verunreinigungen und Abbauprodukten stellen eine besondere Herausforderung an die Elementanalytik von Spuren und Ultraspuren dar. Trennverfahren als Probenvorbereitung in Kopplung mit massenspektrometrischen Methoden bieten eine weitere Möglichkeit für optimale Ergebnisse.

Ein Vorteil der Kopplung von chromatographischen Trenntechniken (wie der HPLC oder der CE) und quantitativer Element-Massenspektrometrie (wie der ICP-MS) besteht darin, dass hierbei die zentralen Aufgaben der Analytik „*Separieren – Identifizieren – Quantifizieren*“ in einer Methode integriert sind.

Analysentechnik im Detail

Die ICP-MS (induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie) ermöglicht die hochselektive Bestimmung der Elemente des Periodensystems von Lithium bis Uran bis in den Ultraspurenbereich hinein ($< 1 \mu\text{g}/\text{kg}$). Dabei werden die Elemente in einem hochfrequenten Argon-Plasma ionisiert. Dies geschieht nahezu unabhängig davon, in welcher chemi-

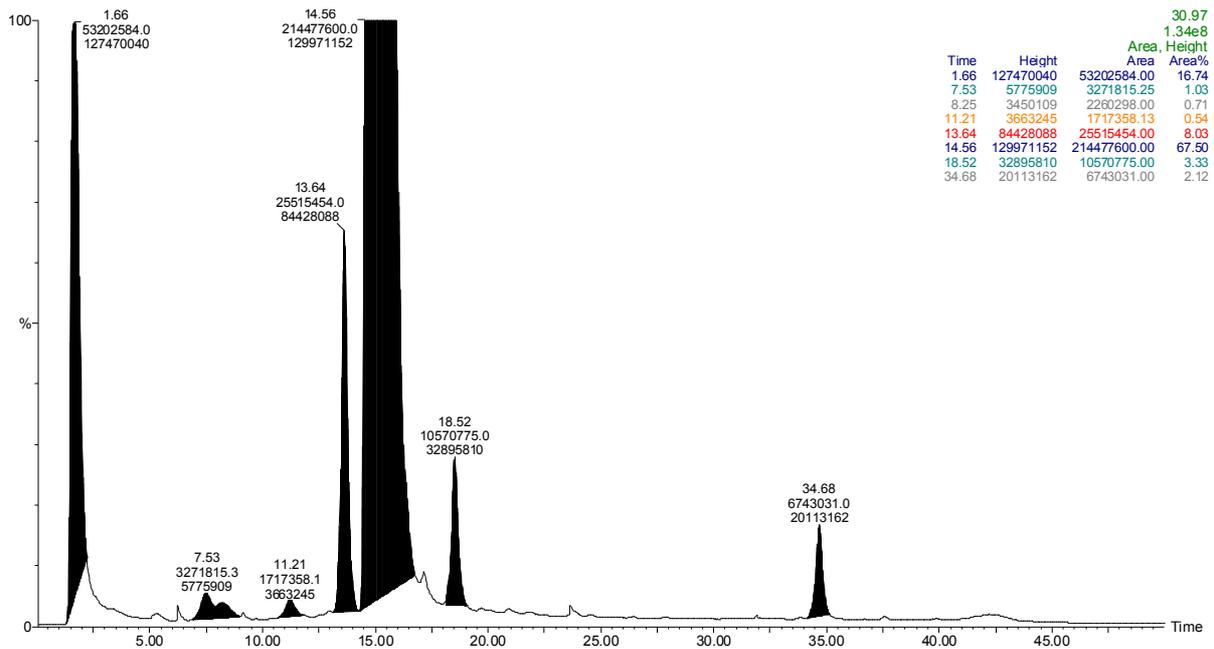
schen Form sie in das Plasma gelangen. Hierin liegt der große Vorteil der ICP-MS: Da eine Kalibrierung substanz~~un~~spezifisch erfolgen kann, muss nicht für jede zu quantifizierende Verbindung ein entsprechender Standard vorliegen oder synthetisiert werden. Ist die Summenformel der jeweiligen Substanz bekannt (beispielsweise aus der organischen Massenspektrometrie), so kann über die Bestimmung des Elementgehalts in der Verbindung eine Quantifizierung erfolgen. Hierzu ist es lediglich notwendig, die entsprechende Substanz von anderen Komponenten abzutrennen, welche ebenfalls das beobachtete Element enthalten. Dieses geschieht über die vorausgehende Kopplung mit einer Trennmethode wie der HPLC oder CE (Kapillarelektrophorese) an das ICP-MS, so dass jede einzelne Verbindung separat in die Ionisierungsquelle gelangt. Der wesentliche Vorteil der CE gegenüber der HPLC-Kopplung liegt insbesondere darin, dass labile Komplexe untersucht werden können, da keine störenden Wechselwirkungen mit der stationären Phase stattfinden.

Vorteile der Kopplung

- *Matrixunempfindlichkeit:* Beim Einsatz von leistungsstarken Detektionssystemen ist häufig nicht die Empfindlichkeit das Problem, sondern Störungen durch Matrixeinflüsse. Mit der vorgeschalteten chromatographischen Trennung können diese Querempfindlichkeiten ausgeschaltet werden.
- *Unterscheidung von Spezies:* In der Elementanalytik geht der Trend hin zur Bestimmung der einzelnen Spezies (Elementspeziation), die mehr Informationen liefert als eine alleinige Elementbestimmung.
- *Spezifität/Eindeutigkeit:* Die eindeutige Identifikation von unbekanntem Spurenkomponenten ist ohne Kopplung oftmals gar nicht möglich. Erst die direkte Verbindung zur Massenspektrometrie gestattet in diesen Fällen die strukturelle Charakterisierung des fraglichen Analyten.
- *Selektive Quantifizierung von Spuren:* Aufgrund der sehr hohen Empfindlichkeit und Selektivität massenspektrometrischer Detektoren kann die Konzentration im Spurenbereich präzise erfasst werden.

Beispiel 1: Quantifizierung von Glufosamid-Nebenkomponenten mit HPLC-ICP-MS

Das Potential der Methode zeigte sich bei der Quantifizierung von Nebenkomponenten in einem Pharmawirkstoff. Ausgangspunkt dabei war die Quantifizierung von phosphorhaltigen Nebenkomponenten im ebenfalls phosphorhaltigen Wirkstoff Glufosamid. Zu diesem Zweck wurde die HPLC mit der ICP-MS gekoppelt und das Element Phosphor mit seinem einzigen stabilen Isotop auf der Masse 30,97 amu detektiert.



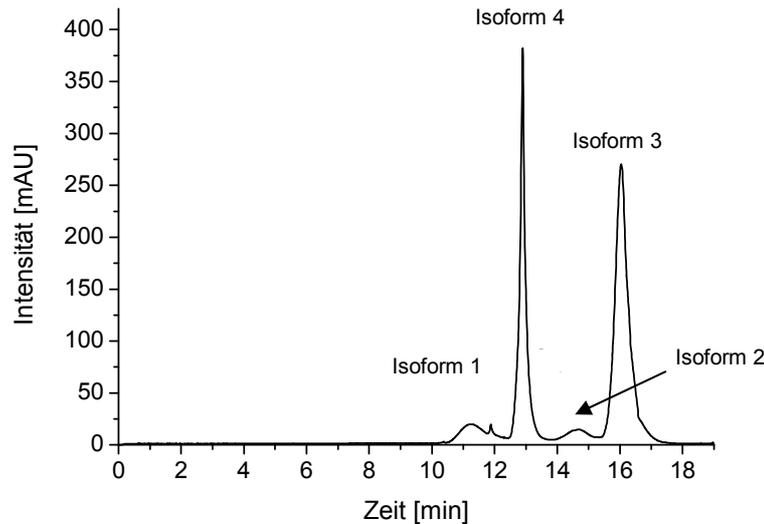
HPLC-Chromatogramm einer Glufosfamid-Probe mit Detektion von Phosphor mittels hochauflösender ICP-MS: Glufosfamid: 14,56 min; interner Standard: 34,68 min.

Wie deutlich zu erkennen ist, eluieren neben der Hauptkomponente Glufosfamid weitere phosphorhaltige Verbindungen sowie ein zugesetzter Standard bekannter Konzentration. Durch einen Vergleich der Peakflächen dieses Standards mit denen der anderen Komponenten wurde die Menge an Phosphor in diesen Peaks erhalten. Bei bekanntem Phosphoranteil der Verbindung (Summenformel) konnte nun leicht der absolute Gehalt der Nebenkomponekte berechnet werden.

Beispiel 2: Analyse der Fe-Beladungsstufen von Transferrin mit CE-ICP-MS

Eine gute Alternative zur vorgeschalteten Trennung mittels HPLC ist oftmals die CE (Kapillarelektrophorese), z. B. können hiermit gut Blutbestandteile getrennt werden. Anschließend erfolgt eine parallele Detektion von Eisen und Schwefel mit dem ICP-MS. So konnten wir den Fe-Gehalt in Blutbestandteilen, wie Transferrin, quantifizieren. Hierzu arbeiteten wir mit einer externen, matrixangepassten Kalibrierung, bei der das Transferrin mit unterschiedlichen Fe-Konzentrationen gesättigt wurde.

Neben der Quantifizierung von Protein-Isoformen über den Eisengehalt konnten die aufgetrennten weiteren Blutbestandteile durch die parallele Detektion von Schwefel identifiziert werden. Dabei wird die Serummatrix in der CE von Transferrin abgetrennt.



Synthetische Serummatrix mit Transferrin-Isoformen

Fazit:

Durch die Kopplung von komplementären Analysemethoden wie der HPLC oder CE mit der ICP-MS bietet die AQura GmbH Ihnen Lösungen für bis dato nur sehr schwierig lösbare Fragestellungen. Wir kombinieren unser Know-how zu den vielfältigen Möglichkeiten der chromatographischen Separation mit unseren langjährigen Erfahrungen bei der selektiven und hochempfindlichen massenspektrometrischen Detektion. Erst durch diese Kombination wird in vielen Fällen eine eindeutige Identifizierung und Quantifizierung von Analyten möglich. Gerade organische und bioorganische Substanzen mit Heteroatomen können wir nun in einer komplexen Matrix quantifizieren – und das im Spuren- und Ultraspurenbereich!

Wir sichern Ihnen ein hohes Qualitätsniveau aller Untersuchungen zu. Mit der Erfahrung aus einer langen Konzerntradition werden Ihre analytischen Aufgaben von unseren Spezialisten ideenreich und zielstrebig gelöst. Gerne erstellen wir Ihnen für Ihre speziellen Fragen ein individuelles Angebot. Bitte sprechen Sie uns an!

AQura GmbH

Standort Marl

Paul-Baumann-Str. 1
45772 Marl

Standort Hanau

Rodenbacher Chaussee 4
63457 Hanau

www.aqura.de

Stand der Information: Juli 2013