

Beispiele für den Einfluss des Säulentyps auf die Qualität der LC/MS-Analytik

Restek GmbH, Schaberweg 23, 61348 Bad Homburg, Tel. 06172 / 2797-42, ute.beyer@restekgmbh.de

Die Säule hat mit Einführung der LC/MS sicherlich etwas an Bedeutung verloren, da die chromatografische Trennung nicht mehr im Vordergrund steht. Doch gibt es nach wie vor Fälle, in denen der Einsatz eines bestimmten Säulentyps die Qualität einer LC/MS/MS-Methode entscheidend beeinflusst. Hierzu im Folgenden drei Beispiele:

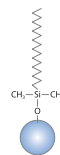
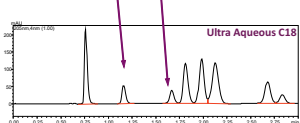
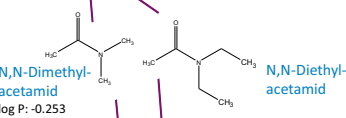
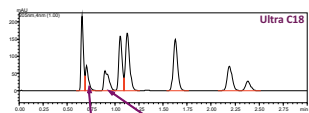
Mehr Retention für polare Substanzen bei Multimethoden im RP-Modus

Mit Hilfe einer geeigneten Säulenselektivität können auch im RP-Modus polare Substanzen stärker retardiert und aus dem Ionensuppressionsbereich zu Beginn des Chromatogramms heraus verzögert werden. Natürlich hat dies seine Grenzen, extrem polare Substanzen wie z.B. Glyphosat oder einige Pestizidmetabolite erfordern spezielle Methoden. Doch hier geht es um die **Verbesserung von Multimethoden mit breitem Polaritätsspektrum**. Ausreichende Retention und gute Peakform der früh eluierenden Substanzen ist eine Voraussetzung für deren eindeutige Identifizierung und empfindliche Quantifizierung.

Mit Restek's **Ultra Aqueous C18**, einer **polar modifizierten C18-Phase**, kann dies für viele Substanzen realisiert werden.

Sie verhält sich wie eine hydrophobe C18-Säule, bildet aber zusätzlich Wasserstoffbrückenbindungen aus. Dies verbessert die Wasserbenetzbarkeit - man kann sie mit 100% wässriger mobiler Phase betreiben - und polare Substanzen werden länger und mit besserer Peakform retardiert, wie das Beispiel rechts zeigt (Anfangsbereich des Testmixes gemäß „Hydrophobic Subtraction Model“ mit Thioharnstoff als Totzeitmarker).

Dieser Säulentyp ist zum Beispiel im Einsatz in der **Pestizidanalytik**, bei der Bestimmung von **wasserlöslichen Vitaminen**, **organischen Säuren** und ähnlichen Anwendungen, kann aber auch wie eine klassische C18 eingesetzt werden als annähernd **universelle C18-Phase**.



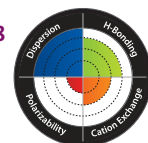
Restek® Ultra C18

Moderne, hydrophobe C18-Phase
➤ Hydrophobe Wechselwirkungen



Restek® Ultra Aqueous C18

Moderne, hydrophobe C18-Phase **mit polarer Modifizierung**
➤ Hydrophobe Wechselwirkungen
➤ UND Wasserstoffbrückenbindungen

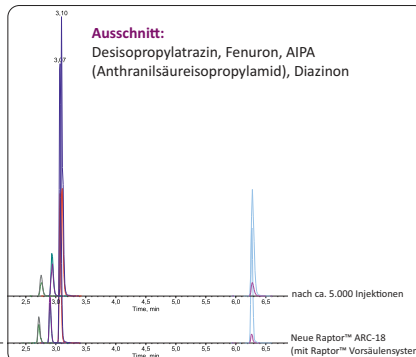
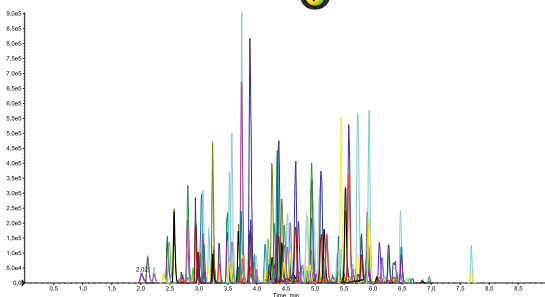


Bessere Robustheit bei gleichbleibender Trennleistung in der UHPLC/MS durch Ersatz von sub-2 µm vollporösen Partikeln durch 2.7 µm Core-Shell Partikel

Die **van-Deemter-Kurve** eines Core-Shell Partikels liegt aufgrund dessen besonderer Struktur „eine Etage tiefer“ als die eines vollporösen Materials mit der gleichen Partikelgröße. Das hat zur Folge, dass man bei gleichem äußeren Verhalten hinsichtlich Rückdruck und Robustheit (z.B. Neigung zum Verstopfen) **mit Core-Shell Säulen deutlich schmalere Peaks** erreicht **als mit vollporösen Säulenmaterialien der gleichen Partikelgröße**. Dies kann man in der UHPLC/MS ausnutzen, wenn man Probleme mit schnell verstopfenden Säulen und Druckanstieg hat und sich nicht den Aufwand einer besseren Probenvorbereitung leisten kann. Mit Restek's **Raptor™ Core-Shell Säulen mit 2.7µm Partikelgröße** erreicht man locker die **Trennleistung einer vollporösen sub-2µm Säule**, hat aber nur **ca. den halben Druck** und eine wesentlich **geringere Neigung zum Verstopfen** aufgrund der größeren Partikelzwischenräume beim größeren 2.7µm Säulenmaterial. Ein **Beispiel** aus der Pestizidanalytik (LC/MS-Multimethode, 130 Pestizide, Direktinjektion der wässrigen Proben, Trinkwasser bis Abwasser) zeigt, wie man die **Robustheit einer Methode entscheidend verbessern** kann, wenn eine sub-2µm Säule nach wenigen Hundert Injektionen verstopft (Druckanstieg, schnell nachlassende Trennleistung).

Gesamtchromatogramm

Raptor™ ARC-18



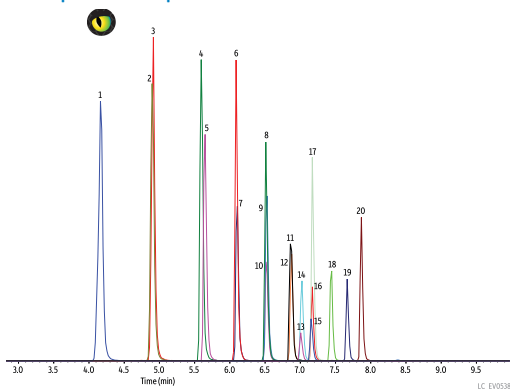
	UHPLC/MS bisher	UHPLC/MS mit Raptor™ ARC-18
Säulenlänge	100 mm	100 mm
ID	2.1 mm	2.1 mm
Partikelgröße	1.7 µm	2.7 µm
Temperatur	45 °C	30 °C
Eluent A	90% Wasser, 10% Methanol, 10mM Puffer*	90% Wasser, 10% Methanol, 10mM Puffer*
Eluent B	100% Methanol, 10mM Puffer*	100% Methanol, 10mM Puffer*
Gradient	27 - 100% B	15 - 100% B
Flussrate	0.25 mL/min	0.40 mL/min
Druck	450 - 570 bar	250 - 350 bar
Injektionsvolumen (Direktinjektion Wasserprobe)	100 µL	100 µL
Analysenzeit bis zum Ende der Trennung	13.5 min	7.8 min
Analysenzeit komplett bis zur nächsten Injektion	19.5 min	10.5 min
Vorteile durch Raptor™	Gleiche Trennleistung, aber längere Standzeit, geringerer Druck, kürzere Analysenzeit (bei Anlage bis 600 bar)	

Referenz: SGS Institut Fresenius GmbH, Tausnusstein (Kundenapplikation)

Schmale Peaks und schnelle Trennungen mit 5 µm Core-Shell Partikeln

Auch mit **5 µm Säulen** lässt sich eine **hervorragende LC/MS-Analytik** durchführen, wie das Beispiel von **14 verschiedene perfluorierten Carbon- und Sulfonsäuren (PFT)** zeigt. **Restek's Raptor™ 5 µm Core-Shell Säulen** erreichen **Peakbreiten wie 3 µm vollporöse Säulen** beim **Rückdruck von klassischem 5 µm Material**. Ganz zu schweigen von der **Robustheit** und unkomplizierten Handhabung. Wie jeder weiß, verzeihen 5 µm Säulen fast alles. Sie verstopfen nicht so leicht und können an jeder HPLC-Anlage problemlos betrieben werden.

Raptor™ C18 5 µm



Methodenparameter

Säule: **Raptor™ C18 5 µm**, 100x2.1mm (Art.Nr. 9304512)
Temperatur: 40°C
Injektionsvolumen: 5 µL
Flussrate: 0.4 mL/min
Mobile Phase A: 5mM Ammoniumacetat in Wasser
Mobile Phase B: Methanol
Gradient:
0 min (10%B)
8 min (95 %B)
8.01 min (10% B)
10 min (10 %B)
Detektion: MS/MS, ESI neg., MRM-Modus

Substanzliste

Standard gemäß EPA 537 (mit 6 internen bzw. Surrogatstandards) in Methanol/Wasser 96/4, Konz. je 5-10 ng/mL

Nr. Analyt	t _r (min)	Precursor-Ion	Produkt-Ion
1. Perfluorbutansulfonsäure (PFBS)	4.17	298.9	79.9
2. Perfluor-n-[1,2- ¹³ C] ₆ hexansäure (13C-PFHxA)	4.90	314.8	269.8
3. Perfluorhexansäure (PFHxA)	4.91	312.7	268.9
4. Perfluorheptansäure (PFHpA)	5.59	362.8	318.8
5. Perfluorhexansulfonsäure (PFHxS)	5.65	398.8	79.8
6. Perfluor-[1,2- ¹³ C] ₈ octansäure (13C-PFOA)	6.09	414.8	369.8
7. Perfluoroctansäure (PFOA)	6.10	412.7	368.8
8. Perfluor-1-[1,2,3,4- ¹³ C] ₄ octansulfonsäure (13C-PFOS)	6.51	502.7	79.9
9. Perfluoroctansulfonsäure (PFOS)	6.52	498.7	79.9
10. Perfluorononansäure (PFNA)	6.52	462.6	418.9
11. Perfluor-n-[1,2- ¹³ C] ₁₀ decan- bzw. caprin- säure (13C-PFDA)	6.87	514.8	469.9
12. Perfluordecane- bzw. caprin- säure (PFDA)	6.88	512.7	468.8
13. N-Deuteriomethylperfluor-1-octansulfonamidoessigsäure (d3-NMeFOSAA)	7.01	572.7	418.9
14. N-Methylperfluor-octansulfonamidoessigsäure (NMeFOSAA)	7.02	569.8	418.9
15. N-Deuterioethylperfluor-1-octansulfonamidoessigsäure (d5-NetFOSAA)	7.16	588.8	418.9
16. N-Ethylperfluor-octansulfonamidoessigsäure (NetFOSAA)	7.17	583.8	418.9
17. Perfluorundecansäure (PFUnA)	7.17	562.8	518.8
18. Perfluordodecan- bzw. laurin- säure (PFDoA)	7.44	612.7	568.8
19. Perfluortridecansäure (PFTrDA)	7.67	662.7	618.8
20. Perfluortetradecan- bzw. myristin- säure (PFTA)	7.87	712.8	668.9

