

Ziele

Schnelle und kostengünstige Analysen – zwei Trends in der analytischen Chemie, die die in allen Schritten automatisierte Planar-Chromatographie durch die **parallele Chromatographie** im Vergleich zu anderen chromatographischen Verfahren mit Leichtigkeit erfüllt. Nach der Chromatographie ist das Fließmittel entfernt und man kann **Lösungsmittel für die MS gradientenunabhängig** wählen. Zudem erfolgt durch die planare Speicherung der chromatographischen Daten die Kopplung mit der Massenspektrometrie (MS) sehr gezielt und **kostenreduziert**. Die Planar-Chromatographie ermöglicht im Gegensatz zu den Säulentechniken ein umfassenderes Bild einer unbekannt Probe, da auch am **Start adsorbierte Substanzen für die MS zugänglich** sind. Aktuelle Kopplungsansätze mittels neuer Ionisierungsquellen, wie Direct Analysis in Real Time (DART) und Atmospheric Pressure Glow Discharge (APGD), die unter Atmosphärendruck arbeiten und das Einführen und Aufnehmen der Massenspektren von interessierenden Zonen erleichtern, werden der Elektrospray-Ionisierung (ESI, nach einer Stempel-basierten Extraktion mit Lösungsmitteln) gegenübergestellt.

Ergebnisse und Diskussion

DART wurde 2005 auf der Pittcom eingeführt. Für die Kopplung mit der HPTLC wird die interessierende Zone auf dem Plattenstreifen (nach Substanzenfenster- oder Bahn-Zuschnitt) in den angeregten, heißen Helium-Gasstrom der Ionenquelle hineingeführt. Das angeregte Helium bildet mit Wassermolekülen in der Luft protonierte Wassercluster, die die Ladung auf die Analyten übertragen. Die desorbierten, (de)protonierten Analyten werden ins MS geleitet und innerhalb weniger Sekunden registriert (Abb. 1A) [1]. Die **Präzision und Linearität** sind überzeugend, wenn man interne Standards oder eine automatisierte Plattenhalterung verwendet – eine generelle Anforderung bei Desorptionsverfahren. Ähnlich operiert die Kopplung mittels **APGD**. Diese neue Ionenquelle nutzt zum Desorbieren/Ionisieren der Analyten einen Heliumplasma-Nachglimmstrom und führt ebenfalls v.a. zu (de)protonierten Molekülen (Abb. 1B) [2].

Dagegen nutzt die Stempel-basierte online Extraktion gängige Ionisierungsprinzipien wie **ESI** oder APCI und lässt sich sehr einfach **mit allen vorhandenen HPLC/MS-Systemen verbinden**. Innerhalb einer halben Minute wird das Massensignal einer vollständig extrahierten Zone erhalten. Das manuelle Interface (ChromeXtraktor, ChromAn, Holzhausen) wurde für den Einsatz von Glasplatten modifiziert [3], und mittels Korrektur über den internen Standard wurde ein Positionierfehler von ca. 5 % ermittelt [4]. Dieser Positionierfehler wird durch das automatisierte Interface, das nacheinander alle zu extrahierenden Zonen ins MS überführt, nulliert. **Der Automat überzeugt auch ohne internen Standard** (Abb. 1C und 2) [5].

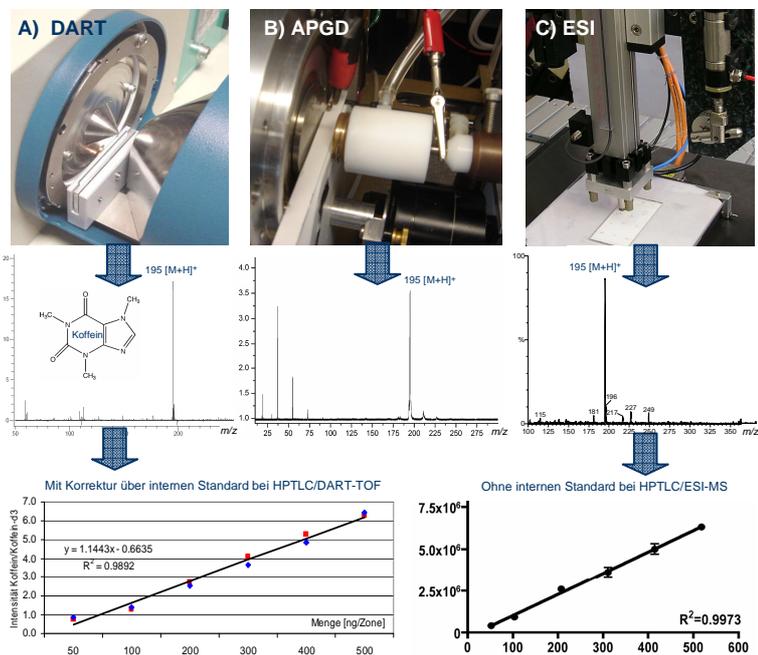


Abb. 1: Vergleich der verschiedenen Ionisierungsquellen (A) HPTLC/DART-TOF, (B) HPTLC/APGD-TOF und (C) HPTLC/ESI-MS und deren Massenspektren (Full-Scan) von Koffein @ m/z 195 [M+H]⁺: Der analytische Response (Kalibration 50 – 500 ng/Zone) von HPTLC/DART-TOF wurde über den internen Standard Koffein-d3 @ m/z 198 [M+H]⁺ korrigiert, wegen der analytische Response bei HPTLC/ESI-MS auch ohne internen Standard überzeugte.

Zusammenfassung

Desorptionverfahren (DART, APGD)

- ☺ Arbeiten unter Umgebungsbedingungen
- ☺ Trockenes Desorptionsverfahren ↔ DESI
- ☺ Keine Plattenvorbereitung ↔ SALDI, SELDI, MALDI, SIMS
- ☺ Einfache Spektren ↔ MALDI, SIMS
- ☺ Quantitativ mit internem Standard oder automatischer Plattenhalterung → ☺ Möglichkeit der Scannens einer ganzen Bahn

Stempel-Extraktionsverfahren (ESI)

- ☺ Universell mit allen HPLC/MS-Systemen einfach verbindbar
- ☺ Automatisiert
- ☺ Kostenreduzierte, gezielte MS-Aufnahme
- ☺ Detektierbarkeit im pg/Zone-Bereich
- ☺ Quantitativ ohne internen Standard sehr gute Präzision/Linearität

Dank an die Landesstiftung Baden-Württemberg (Projekt Nr. P-LS-E2/25), Dr. Luftmann, Universität Münster, Merck, Darmstadt, und CAMAG, Berlin, für die gewährte Unterstützung.

Probe	Koffein im Arzneimittel (mg/Tablette) Mittelwert ± SD	Koffein im Energy drink (mg/100 mL) Mittelwert ± SD
HPTLC/ESI-MS	102.09 ± 5.76	32.91 ± 1.60
RSD (% , n = 6)	(5.6)	(4.9)
HPTLC/UV	101.98 ± 2.30	33.71 ± 0.96
RSD (% , n = 5)	(2.3)	(2.8)
Etikettenangabe	100	32

Abb. 2: Vergleichende Koffein-Bestimmung in einem Energy drink und Arzneimittel mittels der in allen Teilschritten automatisierten HPTLC/ESI-MS-Methode und der validierten HPTLC/UV-Methode. Die mit beiden Methoden erhaltenen Ergebnisse sind statistisch vergleichbar und entsprechen der Etikettenangabe.

Die **Detektionsgrenzen** liegen im ng/Zone- bzw. pg/Zone-Bereich [1, 6]. Bei der Stempel-basierten online Extraktion sind diese jedoch im Vergleich besser, da die komplette Zone samt Tiefenprofil eluiert wird, wogegen bei Desorptionsverfahren nur ein Aliquot der Zonenfläche an der Oberfläche erfasst wird. Die **Ortsauflösung** ist bei HPTLC/DART-TOF besser als 3 mm und bei HPTLC/ESI-MS durch die Stempelbreite von 2 mm gegeben.