

## On-line Festphasenextraktion (SPE) für die HPLC

Heinrich Obrist\*

### On-line Solid Phase Extraction for LC Analysis

**Abstract:** Solid Phase Extraction (SPE) has rapidly evolved to become one of the most popular methods for sample clean-up today. Based on well-known chromatographic principles, SPE is easily performed, typically provides superior results, and will continue to replace traditional extraction techniques. SPE can be automated using robotic type sample processors; however, for SPE followed by LC or LC/MS, there is a much more efficient alternative and offers ruggedness, excellent precision and high sample throughput. With the PROSPEKT-System, the purified analytes elute directly from the SPE column onto the analytical column for LC analysis, eliminating off-line sample transfer including eluate collection, evaporation, reconstitution and injection.

**Keywords:** Environmental analysis · Food analysis · On-line solid phase extraction · Pharmaceutical analysis · Sample clean-up

Die Festphasenextraktion zur Probenvorbereitung hat einen wichtigen und sicheren Stellenwert in der HPLC-Analytik. Eine Automatisierung der Festphasenextraktion bedeutet für die Probenvorbereitung als Reinigungs- oder/und als Anreicherungsschritt höhere Flexibilität, mehr Effizienz und hohen Probendurchsatz.

Die für die Probenvorbereitung aufzuwendende Zeit beträgt oft bis zu 60% der gesamten Analysenzeit. Untersuchungen belegen aber auch, dass massgebende Fehlerquellen in der Probenvorbereitung liegen (Abb. 1 und 2).

Für das Verständnis der Festphasenextraktion sind die Regeln der Chromatographie bzw. der Flüssig-Fest-Adsorption anwendbar:

1. das Adsorbens (Stationäre Phase) soll eine hohe Affinität gegenüber der zu isolierenden Probesubstanz und
2. eine geringe Affinität gegenüber der Begleitsubstanz (Matrix) aufweisen.

\*Korrespondenz: H. Obrist  
 Metrohm AG  
 CH-9100 Herisau  
 Tel.: +41 1 830 11 66  
 Fax: +41 1 830 27 32  
 E-Mail: oh@metrohm.ch

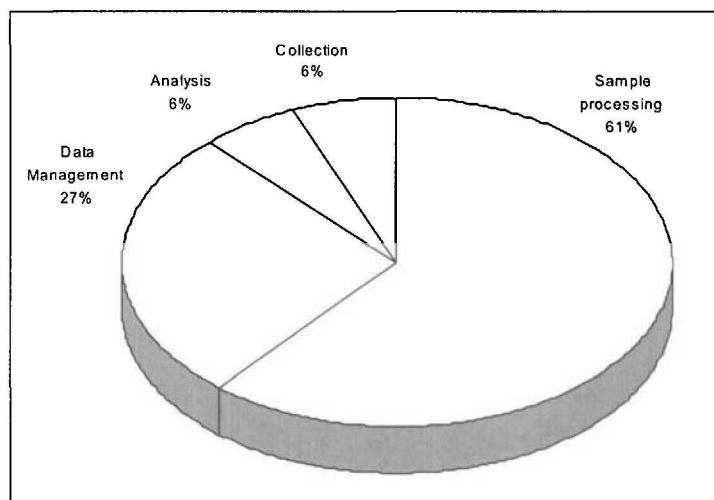


Abb. 1. Zeitaufwand für Probenvorbereitung.

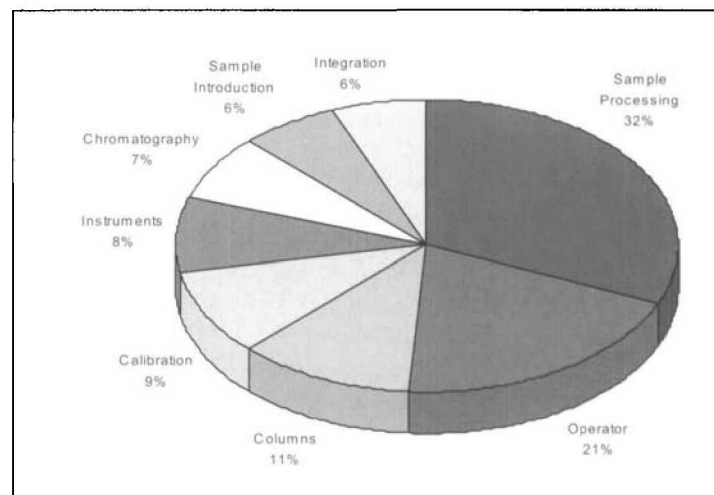


Abb. 2. Fehlerquellen in der Probenanalyse.

Die Polarität als Mass für den lipophilen bzw. hydrophilen Charakter der stationären und der mobilen Phase ist ein weiterer Parameter: Probesubstanzen aus wässriger Matrix mit unpolaren und ionisch funktionellen Gruppen werden auf unpolaren stationären Phasen und Ionenaustauschern adsorbiert, Probesubstanzen mit polaren funktionellen Gruppen aus lipophiler Matrix oder aus einem unpolaren Lösemittel werden durch polare Adsorbentien gebunden.

Hydrophile stationäre Phasen mit wasserähnlichen Eigenschaften sind Silica Si, Diol OH und Cyanopropyl CN. Hydrophobe stationäre Phasen mit fettähnlichen Eigenschaften sind die Reversed Phase-Träger Octadecyl C18, Octyl C8, Ethyl C2 und Phenyl.

Diese Phasensysteme mit ihren Wechselwirkungen werden zur Auswahl der geeigneten Adsorbentien für die Festphasenextraktion genutzt. Ein optimales Adsorbens zeigt starke, aber reversible Bindung zwischen stationärer Phase und der

Probesubstanz. Zur Vergrößerung der Unterschiede in den chemischen Eigenschaften zwischen Probesubstanz und Matrix werden oft auch zusätzliche Parameter eingeführt wie Veränderung der Ionenstärke durch Salzzusatz, durch pH-Änderungen, Zugabe geeigneter Additive oder mittels Verdünnung (Abb. 3 und 4).

Fehlerquellen wie Wäge- und Verdünnungsfehler bei mehrschrittigen Probenvorbereitungen beeinflussen die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit des Analysenergebnisses. Die On-line Festphasenextraktion eliminiert mehrere Arbeitsschritte und wird damit schneller und präziser als Off-line Methoden. Innerhalb des geschlossenen Systems findet kein Probenverlust statt und die Nachweisempfindlichkeit ist signifikant niedriger.

Das PROSPEKT 2-System von Spark NL (Abb. 5) ist ein vollständig autonomes und automatisiertes Gerätekonzept für die Festphasenextraktion von Analyten aus Plasma, Serum, Urin oder Wasser

und ist direkt gekoppelt an das HPLC- bzw. MS-System. (Abb. 6)

Mit der zur Verfügung stehenden Auswahl von Adsorbentien unterschiedlicher stationärer Phasen und Korngrößen (Selektivität) erlaubt das PROSPEKT 2-System die automatische Entwicklung einer optimalen Festphasenextraktionsmethode und resultiert in der Kenntnis des Adsorbens mit der stärksten Retention gegenüber dem Analyten, dem Lösemittel mit der stärksten Elutionskraft, dem effektivsten Waschschritt zur Entfernung der Matrix und zur bestmöglichen Wiederfindungsrate.

Weitere Vorteile der Festphasenextraktion mit dem PROSPEKT 2-System sind: Geschlossenes automatisches System, GLP-konform, 'sicher' für Probe und Operator, hoher Probendurchsatz und kürzere Analysenzeit (High Throughput) in der Pharma-, Lebensmittel- und Umwelt-Analytik,

Eingegangen am 9. Januar 2001

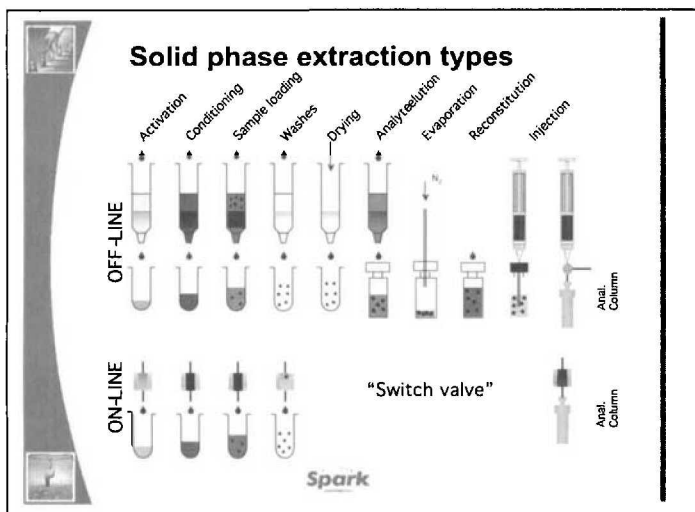


Abb. 3. Festphasenextraktionssysteme.

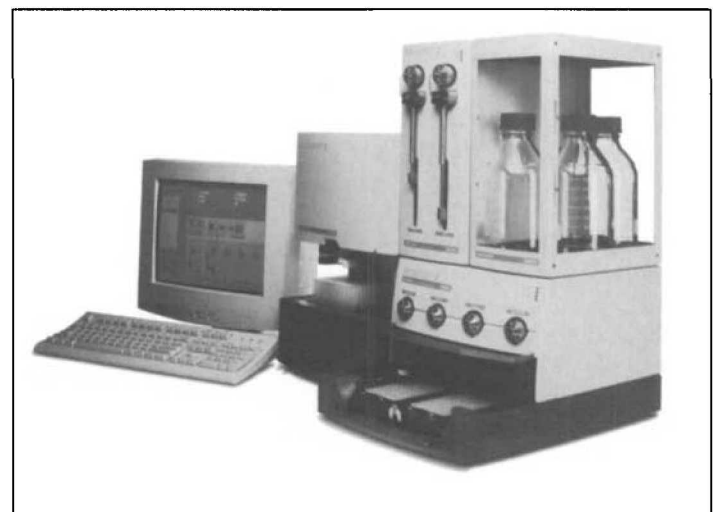


Abb. 5. PROSPEKT 2.

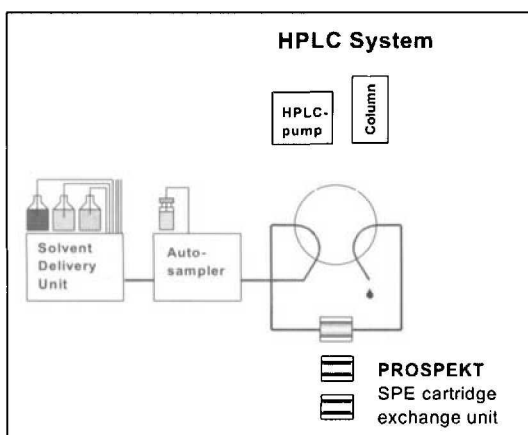


Abb. 4. Prinzip der On-line SPE Probenvorbereitung.

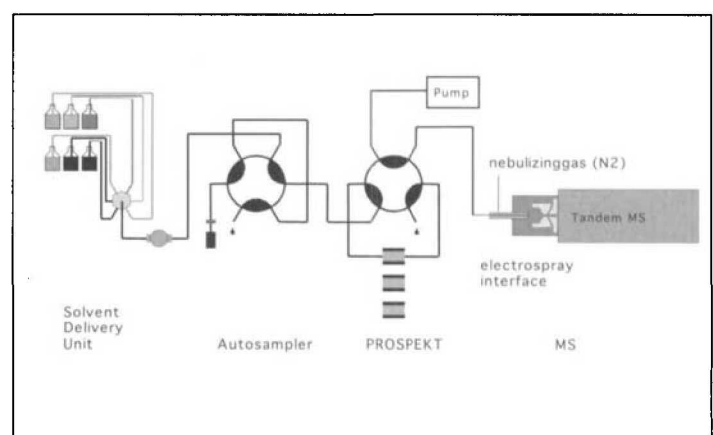


Abb. 6. Prinzip der On-line SPE-(LC) MS.