

Der HPLC-Tipp im November

Welchen Detektor soll ich verwenden?

von Dr. Stavros Kromidas, Blieskastel

Der Fall

Die Frage ist trivial und schwer zugleich. Doch bevor wir in die Problematik einsteigen eine Bemerkung zu Beginn: Die gestellte Frage ist nur dann wirklich relevant, wenn erstens die Probe ziemlich unbekannt ist und zweitens ein begründetes Interesse an „Wahrheit“ besteht. Damit ist gemeint, dass nicht folgendes im Vordergrund steht: Das Ergebnis möge so sein wie ich – und evtl. auch andere – es erwarte(n) und mir auch wünsche. Auch wenn es hart klingen mag, wissen wir alle, dass im Alltag diese Situation gar nicht so selten vorkommt: Wir finden das, was wir suchen. Selten sind (Zeit)Ressourcen vorhanden, um sich ergebnisoffen und ohne diverse Zwänge der Wahrheit zu nähern. Welcher Detektor ist nun der passende für mich?

Die Lösung

These: Die gestellte Frage ist streng genommen falsch. Es sollte nicht heißen „*Welchen* Detektor...“ sondern „*Welche* Detektoren...“ Erläuterung: Im Falle einer mehr oder weniger unbekannt Probe gilt:

Nicht jede, das Ergebnis beeinflussende Substanz/Matrixkomponente ist UV-aktiv – also ist ein DAD alleine nicht immer ausreichend.

Fast jede, das Ergebnis beeinflussende Komponente kann zwar ionisiert werden, doch sollte man mindestens zwei Ionisierungstechniken verwenden. Also ist die alleinige Verwendung von LC-MS (oder gar LC-MS/MS) mit einem gegebenen Risiko behaftet. Man kann nicht ausschließen, dass mancher relevante Analyt in der Probe vielleicht doch flüchtig ist – ein Aerosol-Detektor (CAD oder ELSD) kann folgerichtig kein Universaldetektor per sé sein.

Und um mit einem weiteren bekannten Detektor zu schließen: Der Fluoreszenzdetektor bereitet ob seiner Empfindlichkeit viel Freude – aber nur ca. 20 % der Substanzen fluoreszieren.

Was nun?

Nachfolgend vereinfacht meine persönliche Meinung bzgl. notwendiger Detektion für folgende Fälle stellvertretend – vorausgesetzt die weiter oben formulierte Prämisse, dass nämlich analytische Gesichtspunkte im Vordergrund stehen, gilt:

Umweltproben, Zersetzungsprodukte/Metaboliten, Lebens- und Futtermittel, Peptidfraktionen aus Fermenterbrühe, Rohstoffe, Pflanzenextrakte, Wein, Tabak, Tee, etc.:

1. Stand der Technik, vertretbarer Aufwand und für viele Zwecke ein guter Kompromiss: DAD-MS/MS-Kopplung.
2. Wesentlich informationsreicher und somit empfehlenswert: Nach der Säule ein „T“-Stück verwenden und das Eluat wahlweise weiterleiten an: FLD, CAD, DAD-MS/MS (1). Hier wäre hilfreich: Unterschiedliche Quellen verwenden (mindestens ESI und APCI), denn die Ionisierungstechnik beeinflusst die Fragmentierung und somit die Information. So werden im Falle von komplexen

Matrices und/oder einer großen Anzahl an ähnlichen Analyten nach einer 2D-Trennung immer mehr – jedenfalls in Forschungsbereichen – unterschiedliche MS-Techniken verwendet. Eine hochauflösende MS ist hier übrigens als ein „Muss“ anzusehen.

Selbstverständlich kann je nach Fragestellung und verwendeten Eluenten statt eines FLD's, ein Leitfähigkeitsdetektor oder ein weiterer spezifischer Detektor eingesetzt werden. Liebe Leserinnen, liebe Leser, die Kombinationen sind natürlich beliebig und man kann – und muss! – selbstverständlich über Prioritäten, Vor-/Nachteile, Realisierungschancen etc. diskutieren. Ich hoffe, ich konnte klar machen, worum es hier geht.

Das Fazit

Ein „T“-Stück und der Einsatz von 2-4 Detektoren minimiert im Falle einer nicht gänzlich bekannten Probe bzw. Matrix die Gefahr, dass Ergebnis-beeinflussende Komponenten übersehen werden bzw. Ergebnisse falsch gedeutet und folglich falsche Schlussfolgerungen gezogen werden. Lassen Sie mich mit einem der Murphy´s Gesetze schließen: „Der Fehler befindet sich immer in der Routine, die niemals getestet wurde“.

(1) Edmond Fleischer in Stavros Kromidas (Hrsg.) „Das HPLC-MS-Buch für Anwender“, Wiley-VCH, 2017