

GC-MS-denken in uHPLC

Ultrasnelle HPLC is dé techniek voor high-end oplossingen. Met nieuwe pomp- en kolomtechnologie beschikt de gebruiker over een instrument om in 'no time' tot tientallen stoffen routinematig te screenen. Dat is GC-MS-denken introduceren in HPLC.

uHPLC als nieuwe activiteit. Dat is het belangrijkste nieuws van Interscience tijdens Het Instrument. Jaren geleden stapte de leverancier uit de vloeistofchromatografie om zich toe te spitsen op gaschromatografie en massaspectrometrie (GC-MS). Nu is HPLC terug in het pakket met de introductie van de Accela van Thermo Scientific. Nog een HPLC-speler? Daar zit de markt volgens general manager Marcel van den

Bosch inderdaad niet op te wachten, tenzij die iets toevoegt. Dat is dan ook de inzet. "De klant weet al waar hij de goedkoopste en grootste opstelling kan kopen. Maar waar moet hij heen voor die totaaloplossing? Dus inclusief kolomadvies, analyseoptimalisatie en opleiding, waarvoor we nu onze HPLC-cursussen in gang zetten. Dat gat gaan wij opvullen. Wij zoeken naar slimmere opstellingen, andere toepassingen, ook voor alledaagse

screening. Zoals wij dat voor GC-MS al jaren doen."

Multi-componentenanalyse

Salesmanager Frank Koudijs maakt de vergelijking met de triple quad (Quantum) GC-MS die afgelopen herfst tijdens Labanalyse in De Kuip het licht zag. Dit instrument lijkt op het eerste gezicht een typisch onderzoeksinstrument. Het kan een beperkt aantal componenten zeer gevoelig meten. Maar zet hem in voor routinematig gebruik en de gebruiker beschikt over een supersnelle screeningstool om grote hoeveelheden monsters in een complexe monstermatrix te kunnen analyseren. "De Quantum is daarmee ook zeer geschikt voor multi-componenten-

Salesmanager Frank Koudijs demonstreert het transparante pompgedeelte, met weinig leidingen en één kraan, van de Accela.





Lange HPLC-kolommen versus de korte van enkele cm's die de analyse sterk doen versnellen.

analyses. Daarvoor heb je snelheid nodig. Dat biedt dit instrument met 300 ms/ms overgangen per seconde. Dat levert snel nette data op voor de controle van productieprocessen, bijvoorbeeld de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen in babyvoeding. Het systeem meet zo'n 200 bestrijdingsmiddelen in een half uur op zeer lage niveaus. Indien de Quantum in de selectieve H-SRM-mode een bestrijdingsmiddel in babyvoeding constateert, dan bevestigt het systeem direct de identiteit van het bestrijdingsmiddel met een massaspectrometrische fingerprint. Je hoeft het verdachte monster dus niet opnieuw te injecteren met een ander apparaat of alle monsters elders nog een keer laten meten."

Routineapplicatie

Die benadering bepleit Van den Bosch ook in vloeistofchromatografie. High-end oplossingen zijn leuk, maar uHPLC als routineapplicatie inzetten op een willekeurig lab gebeurt nog veel te weinig. "Hoe kunnen we dit soort apparatuur, die *sec* ontwikkeld

is voor onderzoeksomgevingen, inzetten voor praktisch gebruik in alledaagse laboratoria? De techniek biedt je de mogelijkheid om een piek op een zeer laag niveau te meten. Lever gevoeligheid in en je kunt veel meer componenten bij hoge snelheid meten. Weliswaar bij een mindere, maar voor die screening wel voldoende precisie. In het geval van HPLC praat je natuurlijk niet over honderden componenten, maar over aantallen tussen de tien en dertig. Dan zit je eerder aan je plafond van te meten stoffen bij een screening. Evengoed kun je met een uHPLC, net als bij GC-MS, prima de breedte opzoeken. In klinisch/farmaceutische en foodtoepassingen is dat toch de trend."

Kolomontwikkelingen

Volgens Van den Bosch is het bieden van maatwerkoplossingen in uHPLC nog redelijk onderontwikkeld. Op GC's worden autosamplers gemonteerd, de massaspectrometer wordt als detector toegevoegd, er wordt kolomadvies gegeven. In HPLC is dat nieuw. Daar wil Interscience hetzelfde doen als bij GC-MS. Dat vraagt om deskundig advies, stelt Koudijs. De ontwikkelingen gaan zo snel dat specialisten onmogelijk alles bij kunnen houden. "Op HPLC-kolomengebied is bijvoorbeeld veel gebeurd in de afgelopen drie jaar. Globaal zijn er twee ontwikkelingen. De deeltjes in onze Hypersil-kolommen zijn teruggebracht van 5 naar minder dan 2 micron uitwendige diameter. Daardoor is er meer contact met de dragers in de kolom. Daarmee kan je een analyse met een factor 10 tot 20 versnellen. Omdat je meer interactie met de drager hebt, kun je nu kolommen gebruiken met een lengte van 1 tot 5 cm in plaats van 10 tot 20."

Dood volume?

Voordelen zijn minder eluens, minder injecteren, minder oplosmiddelafval. Wel is veel meer druk nodig. Daar wringt hem de schoen, want simpelweg korte kolommen plaatsen in een gewone HPLC werkt niet echt. Drukken en leidingkwaliteit zijn er niet op afgestemd. Plus het intern volume,

bekend als 'dood' volume, is te groot. Dat gaat voor veel vertraging zorgen. "Bij de Accela zijn de interne leidingen en pompen geschikt voor hoge drukken. Daarbij worden vier vloeistoffen digitaal gemengd. Hij maakt ze bij de pomp aan. Doordat gewerkt wordt met slechts één kraan en geen vier, zoals bij andere uHPLC-systemen, zijn er minder leidingen. Het intern volume, ook dat in de pomp waar het eluens vandaan komt via de kraan, is zo minimaal. Dit is maar 65 microliter voor de gehele HPLC-pomp, normaal is dit bij één plunjer al 100 microliter. Met alle leidingen en in totaal twee plunjers kom je al snel op 400 microliter. Hoe groter het intern volume, hoe groter de vertraging is voor de vloeistof op de kolom komt." Koudijs rekent voor: "Een systeem met zo'n groot intern volume en een debiet van 100 microliter per minuut is al vier minuten bezig voor de gradiënt effect heeft op de componenten die je wilt scheiden." Een paar minuten per analyse lijkt niet veel, maar wat als elke minuut telt? Van den Bosch: "Denk aan vrijgave van een scheepslading die wacht op een aflatoxine-screening. Dan ben je er met één monstertje niet. Een gewone HPLC-analyse duurt 20 minuten, dat kunnen wij in 2 minuten. Vermenigvuldig dat maar eens met twintig voor een representatieve steekproef, dat betekent uren eerder lossen."

Sampleprep automatisering

Bij het vinden van de juiste HPLC-opstelling zorgt Interscience voor de gewenste software en voor advies in de kolomkeuze. En daar begint het pas, besluit Koudijs. "We kunnen bijvoorbeeld een GC-autosampler op een HPLC zetten, met sample prep en injectie op één of twee HPLC's. Dat biedt plek aan 300 monsters. Je hebt misschien iets meer tafelruimte nodig, maar kunt wel ineens twee HPLC's automatiseren. Dat gaat meer richting een totaaloplossing. Ik vermoed dat de markt daar wél behoefte aan heeft."

Vincent Hentzepeter
Fotografie: Foodnote