



Matrixeffecten bij LC-MS analyses

René Vos, Abdel Chahbouni

VU medisch centrum

Laboratorium Klinische Farmacologie en Apotheek

De Boelelaan 1117

1081 HV Amsterdam

Inleiding

Certificering volgens CCKL en GMPz hebben tot gevolg dat validatie van analysemethoden van essentieel belang is binnen onze beroepsgroep. Bij LC-MS-analyses is er naast de gebruikelijke validatieparameters nog een extra grootte waar naar gekeken moet worden, namelijk het matrix-effect. De respons van sommige geneesmiddelen kan worden beïnvloed door de aanwezigheid van andere in het monster aanwezige (lichaams)-stoffen of door additieven aan de mobiele fase. Deze matrixeffecten kunnen worden waargenomen als een stijging (ion-enhancement) of als een daling (ionsuppressie) van de respons in vergelijking tot oplossingen van uitsluitend het analyt. Effecten op de MS-respons kunnen worden veroorzaakt door de co-elutie van matrixbestanddelen, niet vluchtige componenten en

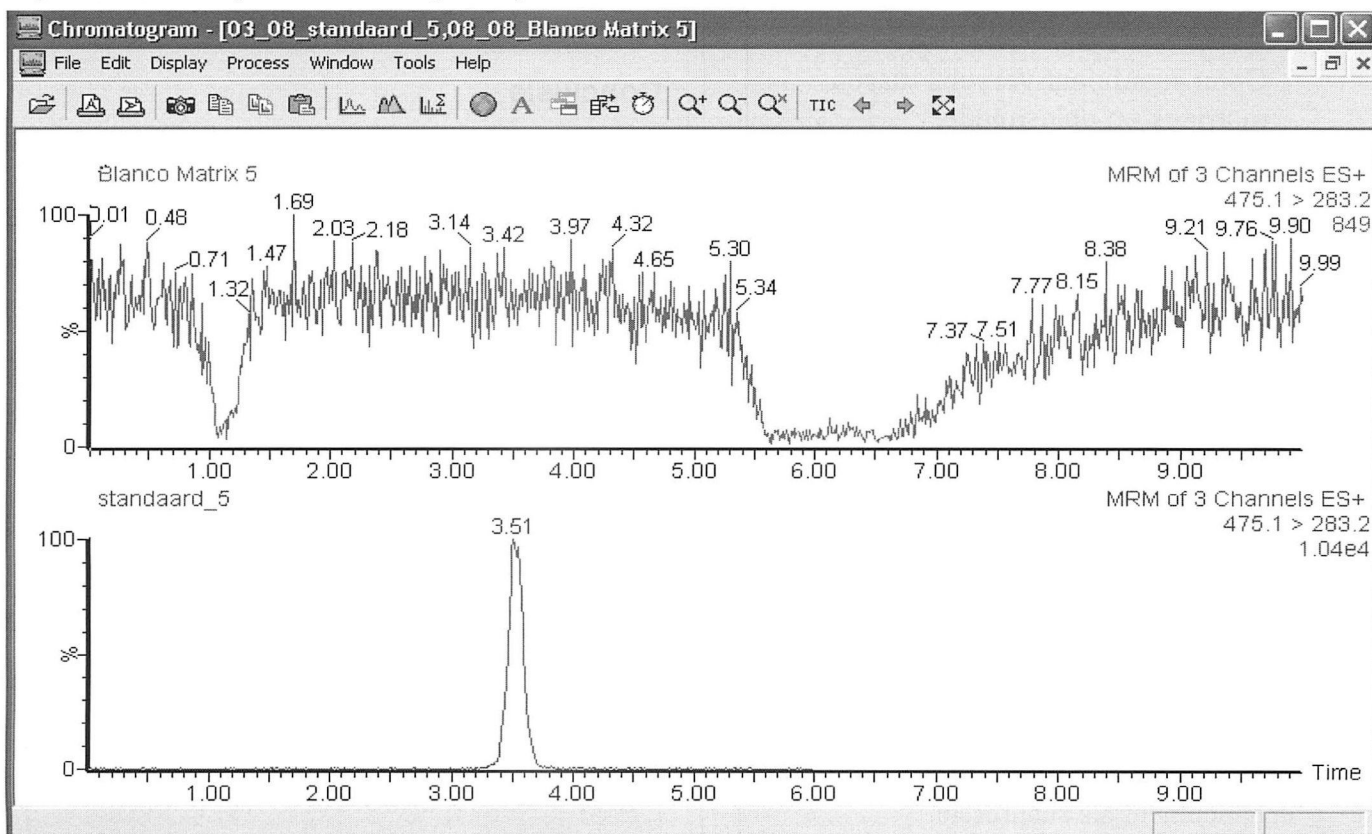
componenten met een hoge protonaffiniteit die de efficiëntie van de ionisatie beïnvloeden. Matrixeffecten kunnen sterk variëren en zijn onvoorspelbaar. Wanneer aanvankelijk een meetbaar of geen effect wordt aangetoond, betekent dit niet dat deze situatie later niet kan veranderen. Er zijn verschillende manieren om deze effecten te meten en te kwantificeren. In dit artikel worden 3 verschillende manieren beschreven.

Bepaling van Matrixeffecten

Bepaling 1: Infusie van de analyt in blanco matrix.

Infuseer de analyt in de massaspectrometer en injecteer tegelijkertijd de opgewerkte blanco matrix m.b.v. de LC. Start de LC en infuseer continue m.b.v. de Tee-in (T-stuk) de te bepalen analyt met flow van 10 µL/min met een concentratie van halverwege de kalibratielij. Injecteer ondertussen de 6 blanco's. Er dient geen toe- of afname te zijn van de respons bij de retentietijd van de te bepalen analyten. Dit is een kwalitatieve manier voor het vaststellen van matrixeffecten. In het chromatogram is dan te zien of er sprake is van suppressie of enhancement (zie fig.1).

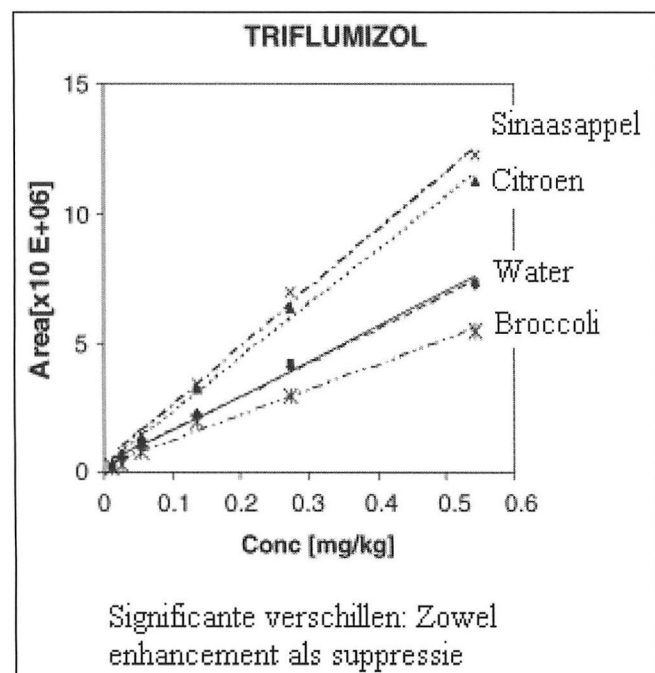
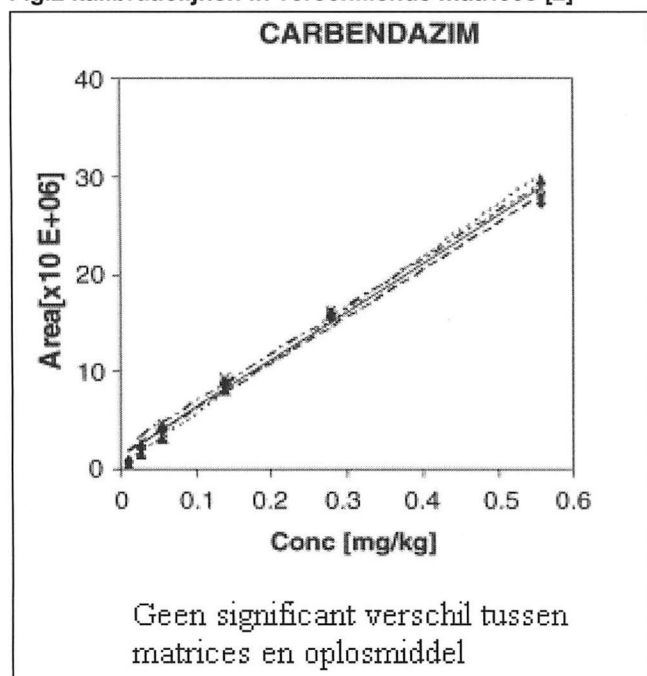
Fig.1 Matrixeffect bij infusie van analyt en injectie van blanco monster.



Bepaling 2: Vergelijking van kalibratiecurves in verschillende matrices. Vergelijk twee kalibratiecurves, één van academische standaarden (de analyt in waterige milieu oplossen) en één in de blanco matrix. Werk deze twee kalibratiecurves op volgens de gekozen voorbereiding. Door de hellingen te vergelijken van deze twee kalibratielijnen kan het matrixeffect in de bepaling worden vastgesteld. De hellingen van de kalibratiecurves mogen niet meer dan 10% van elkaar afwijken. Is de gevonden waarde groter dan 10%, dan is er mogelijk sprake van een matrixeffect.

Voorbeeld: Geneesmiddelen in fruit/groente.

Fig.2 kalibratielijnen in verschillende matrices [2]

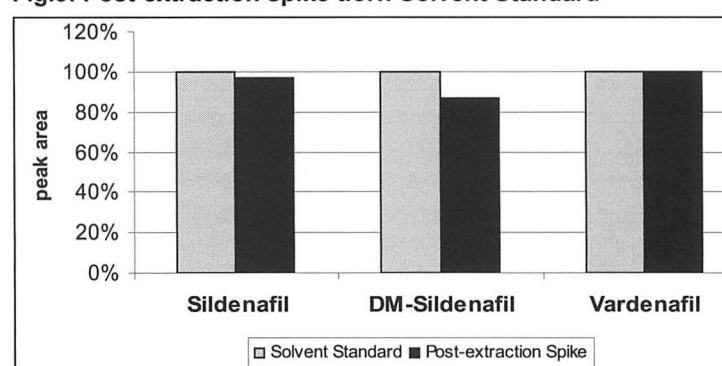


Uit figuur 2 blijkt dat matrixeffecten analyt en matrix afhankelijk zijn.

Bepaling 3: Post-extraction spike methode.

Hiervoor worden standaarden in het oplosmiddel gemaakt (Solvent Standard). Daarnaast werk je 6 blanco's op volgens de gekozen voorbereiding. Voeg na de voorbereiding de te bepalen stoffen toe in dezelfde concentratie als de oplosmiddel standaarden (post-extraction spike). Vergelijk dan de respons van de post-extraction spiked standaarden ten opzichte van de oplosmiddel standaarden.

Fig.3: Post-extraction spike t.o.v. Solvent Standard



Bepaling 3 is een kwantitatieve manier om het matrixeffect te bepalen. In dit voorbeeld ondervindt DM-sildanifil een matrixeffect (suppressie) van 13%.

Conclusie

Er zijn verschillende manieren om het matrixeffect te bepalen. Matrixeffecten zijn afhankelijk van de te bepalen stof en de matrix zelf. Om matrixeffecten te reduceren is een degelijke monster voorbereiding en chromatografische scheiding erg belangrijk. Ook het toepassen van isotoop gelabelde Interne Standaarden kan helpen matrixeffecten te minimaliseren.

Literatuur

1. Cursusmap "Vervolgcurcus LC-MS, niveau 2", Avans+, oktober 2007
2. Ferrer et al., J. Chromatogr. A, 1082 (2005), 81