

Project 505.0070

Ontwikkeling methoden voor het verrichten van identificatie c.q. confirmaties

Projectleider: W.A. Traag

Rapport 89.28

Juni 1989

Het gebruik van directe vloeistof
introdactie als interface bij vloeistofchromatografie - massaspectrometrie

ing. P.G.M. Kienhuis en W.A. Traag

Afdeling: Organische Contaminanten

Goedgekeurd door: ir L.G.M.Th. Tuinstra

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)

Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Telefoon 08370-19110

Telex 75180 RIKIL

Telefax 08370-17717

Copyright 1989, Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten.

Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:

directeur
sectorhoofden
produktcoördinator dierlijke produkten
afdelingshoofden
afdeling OCON (3x)
programmabeheer en informatieverzorging
circulatie
bibliotheek

EXTERN:

Rijks Instituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene, dr A. de Jong
Vrije Universiteit Amsterdam prof. U. Brinkman (analytische chemie)
Vrije Universiteit Amsterdam dr G.J. de Jong (analytische chemie)
Agralin, PUDOC

ABSTRACT

Het gebruik van directe vloeistof introductie als interface bij vloeistofchromatografie-massaspectrometrie

Direct liquid introduction interfacing for liquid chromatography-massspectrometry (in Dutch)

Report 89.28 January 1989

P.G.M. Kienhuis and W.A. Traag

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT)
PO Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands

5 figures, 2 annexes, 3 references

To improve the massspectrometric analysis of non-volatile compounds experiments with a Finnigan 4500 MS were performed using a direct liquid introduction (DLI) probe. Parameters influencing the performance of the DLI-MS analysis were studied. The maximal allowable eluent flow was about 10 μ l/min. A number of compounds were tested. The lowest detection limit (LDL), in full scan mode, is about 1 to 5 ng per compound.

Keywords: DLI; massspectrometry

INHOUD	blz
SAMENVATTING	3
1 INLEIDING	5
2 INTERFACES VOOR LC-MS	6
3 MATERIAAL EN METHODE	8
3.1 Apparatuur	8
3.2 Reagentia	9
3.3 Methode van onderzoek	9
4 RESULTATEN EN DISCUSSIE	10
4.1 Invloed variabelen	10
4.2 Testen diverse componenten	13
4.3 Reproduceerbaarheid	14
5 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	16
LITERATUUR	17
BIJLAGEN	
A OVERZICHT ONDERZOCHE COMPONENTEN	
B REPRODUCEERBAARHEID	

SAMENVATTING

Om de analysemogelijkheden met behulp van MS uit te breiden met de combinatie vloeistofchromatografie-massaspectrometrie (LCMS) is een DLI-probe (Direct Liquid Introduction) aangeschaft bij de VU te Amsterdam.

Hierdoor is het mogelijk niet-vluchtige verbindingen te analyseren, die via de GC niet te introduceren zijn.

Het betreft een recent ontwikkeld model, waarmee het mogelijk is de tip van de probe gecontroleerd te verwarmen tot een temperatuur van 400°C.

Aangezien dit model nog niet getest is in combinatie met een Finnigan 4500 MS, is onderzocht welke factoren van invloed zijn op de eigenschappen van de probe-MS combinatie. Tevens is gekeken naar de eigenschappen van 31 componenten qua piekvorm, gevoeligheid en fragmentatie. Om chromatografische invloeden te vermijden is pluginjectie toegepast.

De maximale eluensflow die het vacuumsysteem van de MS voor kortere tijd (minuten) aankan ligt tussen de 10 en 15 µl/min., afhankelijk van de samenstelling van het eluens. Voor het meten gedurende een langere periode moet de flow verlaagd worden naar 5 tot 8 µl/min.

De piekvorm blijkt sterk component en temperatuur afhankelijk te zijn, zelfs zodanig dat het bij enkele componenten nodig is tijdens de analyse de temperatuur van de probetip te verhogen.

De componenten zijn getest met een injectiehoeveelheid van 10 of 25ng. Vrijwel allen geven hierbij een respons. De spectrum informatie is echter beperkt. Vaak is alleen de molecuulpiek aanwezig.

De LDL (Lowest Detection Level) varieert van 1 tot 5ng in de "full spec" mode. Bij het toepassen van de MID mode (Multiple Ion Detection: alleen geselecteerde fragmenten) zal de LDL verder omlaag kunnen met een factor 10 tot 100.

De reproduceerbaarheid is voor één component gemeten door gedurende een analyseserie 10 injecties van 1 ng uit te voeren. Gemeten is in de MID mode met één positieve en twee negatieve massa's. De meetwaarden zijn verkregen door 50 scans over de piek te sommeren en er vervolgens 50 scans ruis van af te trekken (oppervlaktemeting). Het gebruiken van de meest intense scan (hoogtemeting) leidt door de hakkelige piekvorm

tot afwijkende resultaten. De absolute respons van de meest intense massa (basepeak) heeft een variatiecoëfficiënt van 10,6%.

Ten opzichte van de eigenschappen van de GC-MS combinatie blijkt deze techniek zowel qua piekvorm als qua fragmentatie inferieur te zijn.

Nadelen zijn verder de geringe eluensflow (hierdoor komt alleen microbore HPLC als voorscheiding in aanmerking) en de component afhankelijke optimale temperatuur van de probetip.

1 INLEIDING

Met de huidig binnen het RIKILT beschikbare massaspectrometische apparatuur is het alleen mogelijk om vluchtige verbindingen te analyseren. Bij een aantal applicaties worden van de niet-vluchtige verbindingen eerst vluchtige verbindingen gemaakt door te derivatiseren.

Een groot nadeel bij een dergelijke aanpak is dat structuur informatie wordt verkregen van het derivaat en niet van de oorspronkelijke verbinding.

In het kader van de eisen, die binnen de EEG gesteld zijn aan de aanwezigheid van residuen van hormonen en diergeneesmiddelen in vee- en teeltprodukten, dienen methoden ontwikkeld te worden voor de confirmatie van onder andere: tranquilizers, β -Blockers, sulfonamides, chlooramfenicol, dapson, nitrofuranen, quinoxalines, tetracyclines.

Verder dient nagegaan te worden of het mogelijk is om bijvoorbeeld anabolica, thyreostatica en β -agonisten te analyseren zonder derivatiseren. Ook zou het interessant zijn als er methoden beschikbaar waren om bovengenoemde componenten in die vorm te analyseren waarin ze voorkomen in matrices, bijvoorbeeld glucoroniden in urine en esters in spuitplaatsen. Gezien de fysische grootheden van bovengenoemde verbindingen is het ontwikkelen van een massaspectrometrische methode gebaseerd op gaschromatografische voorscheiding niet eenvoudig, soms zelfs onmogelijk en in elk geval tijdrovend.

Een aantal van bovengenoemde verbindingen zal waarschijnlijk in het geheel niet met GCMS onderzocht kunnen worden maar zal via vloeistofchromatografie in de massaspectrometer geïntroduceerd moeten worden. De laatste jaren is er door meerdere onderzoekers en fabrikanten, veel aandacht besteed aan het realiseren van een koppeling tussen vloeistofchromatografie en massaspectrometrie.

De koppelingsproblemen zijn erg groot. Dit wordt veroorzaakt doordat de flow van ongeveer 1 ml/min uit de standaard vloeistofchromatograaf een volume, bij verdampen, van ongeveer 1000 ml/min inneemt (o.a. temperatuur afhankelijk) waardoor vacuum problemen ontstaan. Bij gaschromatografie bedraagt de flow slechts enkele ml³/min.

2 INTERFACES VOOR VLOEISTOFCHROMATORGRAFIE - MASSASPECTROMETRIE

Een van de eerste interfaces is gebaseerd op "Direct Liquid Introduction" (DLI). Hierbij wordt het eluens (meestal een mengsel van acetonitril/water) in een verwarmde pijp tot in de bron gebracht en daar verneveld met helium. De acetonitrildamp in de bron wordt gebruikt als reactiegas waardoor chemische ionisatie (CI) spectra verkregen worden. Een nadeel van de techniek is dat het alleen geschikt is voor lage flows (maximaal 10 $\mu\text{l}/\text{min}$) dat slechts een beperkte eluentsamenstelling (met name de hoeveelheid water) toepasbaar is en dat de spectra weinig structuurinformatie bevatten.

Door Finnigan is de "Moving Belt" ontwikkeld. Het eluens van de vloeistofchromatograaf wordt op een continue bewegende belt(snaar) gebracht. Het eluens wordt verdampt door verwarming met infrarood in een vacuumsluiting waarna het monster in de ionisatiekamer zeer snel wordt verdampt. Het grote voordeel van de moving belt is dat zowel electron-impact als chemische-ionisatie mogelijk is.

Het systeem is beperkt in de eluens keuze en er is vrij veel monster nodig, terwijl er ook adsorbtie problemen (op de belt) kunnen voorkomen.

Eén van de tegenwoordig meest toegepaste interfaces is de thermospray (TSP). Bij thermospray wordt een nevel van fijne druppels met de te meten stof en een zoutoplossing gevormd.

Het oplosmiddel wordt gedeeltelijk verdampt waardoor geladen druppels ontstaan. Polaire verbindingen worden door dit proces geïoniseerd waarna ze voor een deel de MS bron binnen gezogen worden. Met thermospray is het daardoor mogelijk een normale HPLC opstelling met een flow van 1-2 ml/min van een waterig eluens te gebruiken. Er is wel een extra grote voorpomp noodzakelijk om het vacuüm te handhaven en een koude val.

De gevoeligheid bij thermospray is ongeveer gelijk aan die welke behaald wordt met gaschromatografie-massaspectrometrie dat wil zeggen in de fullscan mode 1-10 ng en in de MID mode een factor 10-100 lager. Een nadeel van het gebruik van thermospray is dat er weinig fragmentatie optreedt. Er wordt voornamelijk informatie verkregen over het molecuulgewicht. Om meer structuurinformatie te verkrijgen kan een thermospray probe uitgerust worden met zogenaamd "discharge ionisatie". Door de repeller spanning te verhogen kan aanzienlijk meer

structuurinformatie worden verkregen. Bij VG heeft men de "discharge kathode" ingebouwd in de thermospray probe. Men noemt deze techniek "plasma spray".

MAGIC (Monodispersed Aerosol Generation Interface Combining LC en MS) is onlangs commercieel geïntroduceerd door onder andere HP.

Bij MAGIC wordt gebruik gemaakt van een monodisperse aerosol om uniforme druppels te maken. Na een desolvatiekamer en een jetseparator (twee traps) worden de te onderzoeken verbindingen in de MS geleid. Een voordeel van deze techniek is dat er geen thermische degradatie optreedt, een ruime keuze gemaakt kan worden qua eluenssamenstelling en flow en zowel EI als CI spectra kunnen opgenomen worden.

Er zijn nog wel problemen met de gevoeligheid en bij hoge water concentraties.

Naast bovengenoemde technieken, die allen commercieel leverbaar en in de praktijk getoetst zijn, is er een aantal technieken welke nog in een ontwikkelingsstadium verkeren en slechts in een aantal universitaire laboratoria gebruikt worden. Het betreft hier onder andere ion spray en electrospray. Deze technieken verkeren nog in het experimentele stadium en zijn derhalve minder geschikt voor gebruik binnen het RIKILT.

Een nadeel van de meeste interfaces, met uitzondering van MAGIC, is dat de spectra weinig structuur informatie opleveren. De koppeling van vloeistofchromatografie en massaspectrometrie is dan ook slechts zinvol wanneer er gebruik gemaakt kan worden van tandem massaspectrometrie. Gezien de noodzaak voor het RIKILT om niet-vluchtige verbindingen te analyseren met behulp van LC-MS is besloten om toch de mogelijkheden in combinatie met de Finnigan 4500 na te gaan.

Gelet op de hoge aanschafprijs van zowel de moving belt, thermospray (en varianten) en MAGIC, kwamen deze interfaces niet in aanmerking om aangeschaft te worden om in combinatie met de "verouderde" Finnigan 4500 te gebruiken.

Voor de Finnigan 4000 is door de WU te Amsterdam een DLI-probe ontwikkeld welke uitvoerig is getest. (Apffel 1983, 1984; Maris 1985; Nissen 1985). Recentelijk is er een nieuw model ontworpen, dat voorzien is van een interne verwarming. Daarmee is het mogelijk de temperatuur van de probetip gecontroleerd te verwarmen tot een temperatuur van 400 °C. Dit model werkt goed in combinatie met een Finnigan 4000.

De 4500 wijkt op o.a. twee punten af van de 4000. Bij de 4500 kan ten eerste het ionvolume verwisseld worden, terwijl de MS op vacuum blijft en ten tweede kan de bron minder sterk verwarmd worden. Dit laatste moet als een nadeel gezien worden.

Na enkele besprekingen op de VU, is besloten om deze relatief goedkope DLI interface voor de Finnigan 4500 te laten maken. In dit rapport zijn de bevindingen met deze interface vastgelegd.

3 MATERIAAL EN METHODE

3.1 Apparatuur

3.1.1 Finnigan 4500 massaspectrometer met de volgende vaste meetomstandigheden:

Mode: PPINICI met CI-ionvolume.

Brontemperatuur: 190°C.

Scanbereik: 100 tot 400 of 500 m/z.

Scansnelheid: 0.93 sec./scan

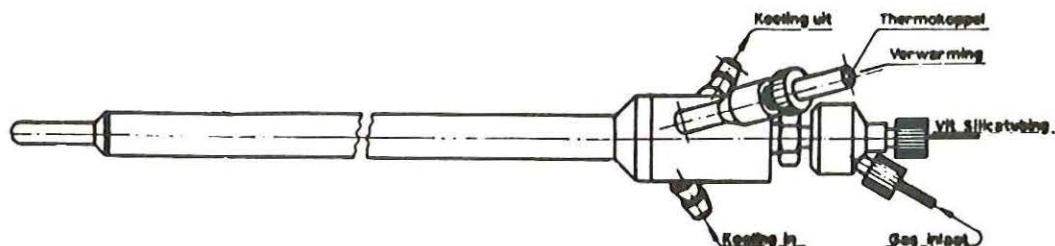
Multiplifier: 1250 Volt

Electronenergy: 70 eV

De overige instellingen zijn gevarieerd en worden elders besproken.

3.1.2 DLI-probe (fig 1).

De tip van de probe kan verwarmd worden tot 400C. Dit is nauwkeurig (+/- 5°C) te regelen en te controleren. De probe is verder voorzien van een He-inlaat en waterkoeling.



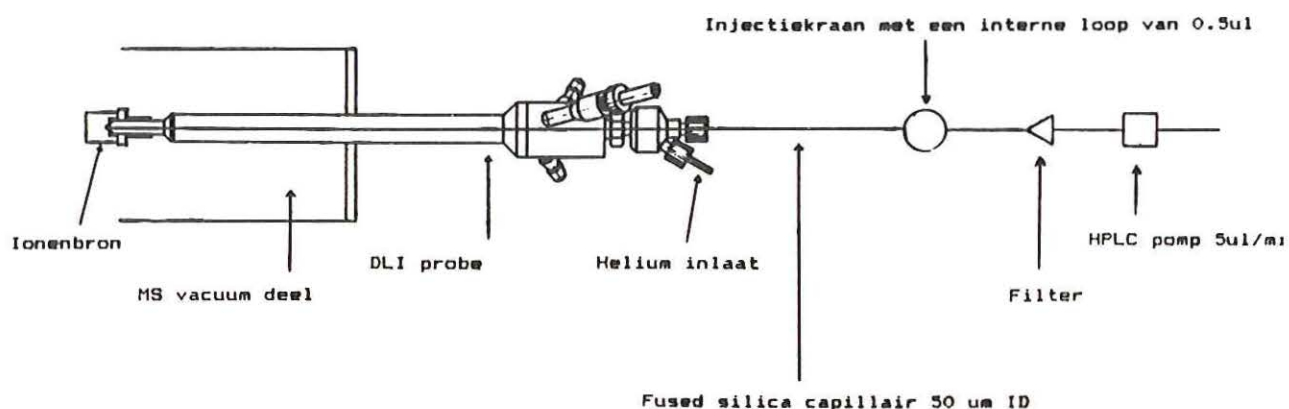
Figuur 1 : DLI-probe

3.1.3 LC-opstelling (fig 2).

Pomp: Gilson model 302, instelbaar vanaf 0.5 $\mu\text{l}/\text{min}$

Injectiekraan: Valco met een interne loop van 0.5 μl

Koppeling MS: Een niet gecoate fused silica capillair van ca. 1 meter lengte (ID resp 75 en 50 μm), die door de DLI-probe steekt tot in de ionenbron.



Figuur 2: Meetopstelling.

3.2 Reagentia

Van 31 componenten zijn oplossingen in acetonitril gemaakt, met een concentratie van 20 en/of 50 $\text{ng}/\mu\text{l}$.

Het eluens is een combinatie van acetonitril en gedeïoniseerd water met wisselende samenstelling.

3.3 Methode van onderzoek

Bij de overgang van vloeistof naar dampvorm en bij de ionisatie spelen een groot aantal factoren een rol. Het doel van het onderzoek was, om te komen tot een optimale keuze van de diverse parameters. De variabelen (zie 4) zijn daartoe in eerste instantie afzonderlijk en vervolgens in combinatie getest. Vervolgens werden een aantal componenten met sterk verschillende structuren getest.

Tenslotte werd voor één component de reproduceerbaarheid van het systeem bepaald.

4 RESULTATEN EN DISCUSSIE

4.1 Optimalisatie van de variabelen

De resultaten worden per variabele besproken. De experimenten zijn grotendeels uitgevoerd met de componenten ipronidazol en chlooramfenicol.

Eluensflow

De flow wordt beperkt door de verwerkingscapaciteit van de pompen in de MS. Het vacuum mag maximaal oplopen tot 1.0 E-4 Torr . Met 100% acetonitril als eluens kon het systeem een flow aan van 15 tot 20 $\mu\text{l}/\text{min}$. Na enkele uren nam de stabiliteit van het vacuum af resulterend in een regelmatig uitvallen van de massaspectrometer.

Bij een flow van 5 of 8 $\mu\text{l}/\text{min}$ bleek het vacuum voldoende stabiel te zijn. Een eluenssamenstelling van 70% acetonitril leidde tot een sterker variërend vacuum. Uit experimenten met flows van 5, 8 en 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ is gebleken, dat de respons bij het analyseren van componenten vrijwel identiek is. Het achtergrondsignaal, veroorzaakt door het eluens, neemt echter wel toe, waardoor gekozen werd voor een instelling van 5 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Capillairdiameter

Gewerkt is met capillairdiameters van 75 en 50 $\mu\text{m ID}$. In de praktijk blijkt de ID van 50 μm de beste te zijn, zowel qua stabiliteit van de verdamping als qua piekvorm van de componenten. Kleinere diameters zijn niet getest i.v.m. het risico van verstopping.

Heliumflow

In de probe is rekening gehouden met de mogelijkheid om helium langs de uitstroomopening van de capillair te leiden om op die manier de verneveling te bevorderen en te stabiliseren. Bij experimenten met een vergelijkbare probe zonder interne verwarming (Apffel, 1983, 1984) kwamen de positieve effecten ervan duidelijk naar voren. Uit experimenten met de nieuwe probe in combinatie met de Finnigan 4500 is echter gebleken, dat de heliumflow helemaal geen invloed heeft op het niveau en de stabiliteit van de ruis en evenmin op de piekvorm van de componenten. Op grond daarvan werd bij verdere experimenten geen helium toegepast.

Capillairtip

De plaats van de uitstroomopening van de capillair t.o.v. de probetip en de bron bleek bij een vergelijkbaar concept (Apffel, 1983) van belang te zijn. Een afstand van 0.5 mm t.o.v. de tip van de probe (en daarmee de uitstroomopening van de helium) was daarbij het optimum. Uit experimenten met de nieuwe probe komt deze invloed niet naar voren. Gewerkt werd met enkele afstanden variërend tussen ongeveer 0.5 en 2.5 mm, zowel met als zonder heliumflow. Een grotere afstand is niet zinvol, omdat de uitstroomopening dan te dicht bij de electronenbundel komt die de ionisatie teweeg brengt. Momenteel wordt de afstand ingesteld op 0.5 tot 1 mm.

Waterkoeling

Op de tip na wordt de probe gekoeld met water, met als doel de verdamping van het eluens zo dicht mogelijk bij de uitstroomopening te doen plaatsvinden. In de praktijk wordt een debiet van 300 ml/min gehandhaafd. Een zeer laag debiet koelt te weinig en een grote (> 1 liter/-min.) vergt te veel van de verwarming. Kleine veranderingen in het debiet hebben geen effect.

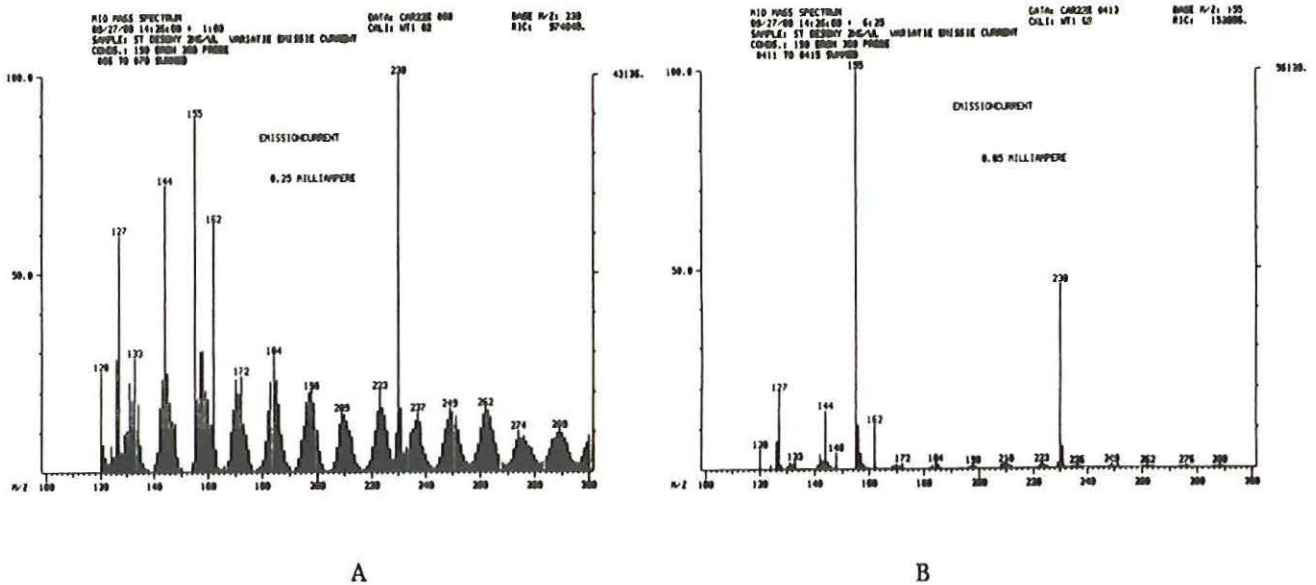
Eluenssamenstelling

Getest werden oplossingen van 100% acetonitril en van 50% en 70% acetonitril in water. 50% blijkt de ondergrens te zijn. Daaronder verdampt het water in het eluens niet meer gelijkmatig, waardoor problemen met het vacuüm ontstaan. Indien de verwarming van de probe te laag staat (<250°C bij 50% acetonitril) bevriest het eluens zelfs bij de uitstroomopening en raakt de capillair geblokkeerd. Uit experimenten met meerdere componenten is gebleken, dat de spectra niet of nauwelijks veranderen bij toepassing van 70% of 100% acetonitril.

Emissiestroom

Bij Electron Impact (EI) en Chemische Ionizatie (CI) wordt standaard een emissiestroom toegepast van 0.25 mA. Deze waarde werd in eerste instantie gehandhaafd. Uit experimenten bleek echter, dat deze waarde te hoog was. Vermindering ervan leidde tot een duidelijke vermindering van het achtergrondsignaal veroorzaakt door het eluens, terwijl de respons van de componenten gelijk bleef. Dit resulteerde in een verbe-

tering van de LDL met een faktor 2 tot 5 afhankelijk van de gemeten massa. Dit effect werd gehandhaafd tot een waarde van 0.05mA. Daaronder verminderde ook de respons van de componenten. Na deze optimalisatie werd de stroom ingesteld op 0.05 mA.



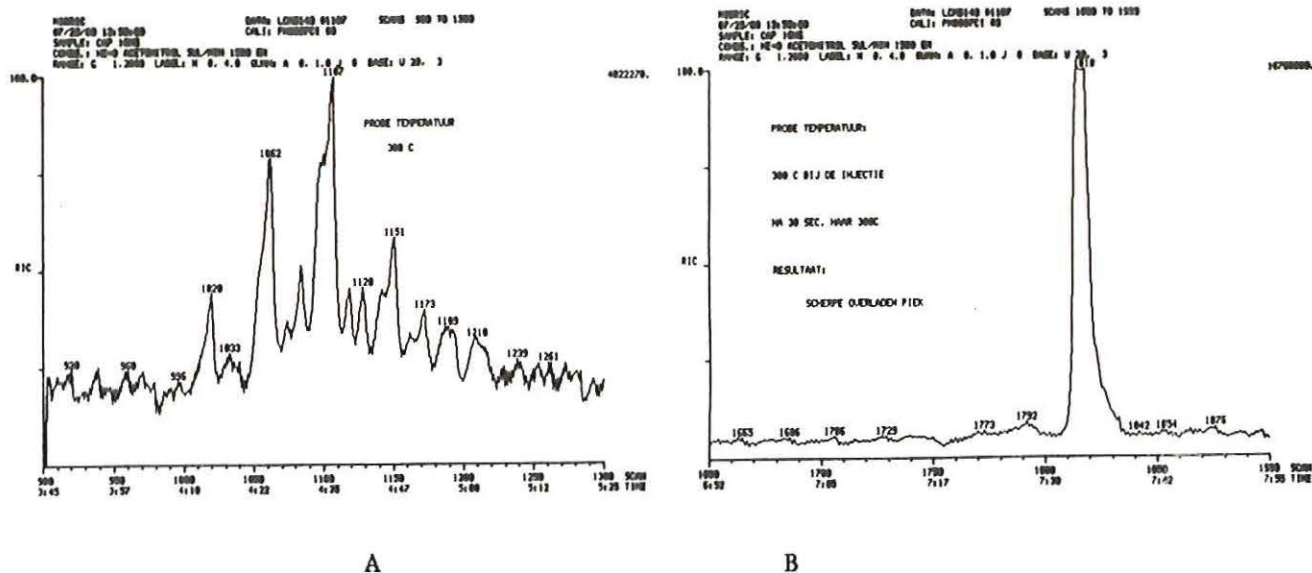
Figuur 3: Spectrum Desoxycarbadox met resp. 0.25 (A) en 0.05 mA (B)
Opeenvolgende analyses binnen een meetserie

Temperatuur probetip

De optimale temperatuur verschilt van component tot component zowel bij 70 als 100% acetonitril. Een groot aantal stoffen gaven tailende pieken bij een constante temperatuur tussen de 280 tot 380°C. Een beperkt aantal gaven echter alleen een duidelijke piek wanneer tijdens de analyse de temperatuur met 40 tot 60°C verhoogd werd (fig.4). Over het algemeen betrof het componenten die bij een lagere temperatuur (280-300°C) helemaal geen en bij een temperatuur van 380-400°C schoksgewijs een respons gaven.

De gegevens zijn per component in bijlage A vermeld. Een variatie van 10°C in deze waarden veroorzaakt weinig tot geen verandering van de piekvorm.

Als ondergrens geldt een temperatuur van de probetip van ong. 240°C bij 100% acetonitril. Daaronder gaat het vacuum te sterk fluctueren. Bij nog lagere temperaturen bevriest de vloeistof bij de uitstroomopening. De ondergrens loopt op bij eluentia die meer water bevatten.



Figuur 4: Elutie chlooramfenicol bij constante (A: 380°C) en verhoogde (B: 300->380°C) temperatuur op het moment dat het begin van de piek zichtbaar wordt. Injectie bij resp. scan 900 en 1700.

4.2 Testen diverse componenten.

Onder de hieronder beschreven omstandigheden zijn 31 componenten getest op piekvorm en in relatie tot de probetemperatuur en het fragmentatiepatroon:

- Eluensflow : 5 µl/min.
- Eluens : Acetonitril 100%.
- Kolomdiameter: 50 µm ID.
- Helium : Geen flow. Toevoerpunt is afgedopt.
- Capillairtip : Afstand t.o.v. uitstroomopening is ca. 0.5 mm.
- Waterkoeling : ca. 300 ml/min.
- Emissiestroom: Grotendeels 0.25mA. De laatste componenten zijn gemeten bij 0.05mA (is vermeld in de tabel).

De overige waarden zijn conform 3.1.1

De verkregen resultaten zijn weergegeven in bijlage A.

Over het algemeen is de spectruminformatie per component beperkt.

In het positieve spectrum komt meestal alleen het M+H ion voor,

terwijl in de negatieve mode voornamelijk het M⁺ ion aanwezig is.

De meeste stoffen leveren zowel negatieve als positieve ionen op,

althoewel de onderlinge verhouding per component sterk varieert.

Eventuele andere fragmenten zijn, procentueel gezien, vaak laag ten

opzichte van de basepeak. Uitzonderingen hierop zijn bij de resultaten vermeld.

In de tabel (bijlage A) zijn twee probetip temperaturen weergegeven. Temp1 is de temperatuur op het moment van de injectie. Als Temp2 gelijk is aan Temp1, dan vertoont de component goede piekvorm bij een constante temperatuur. Als Temp2 hoger is, dan wordt de piekvorm (sterk) verbeterd als aan het begin van de piek de tip van de probe verwarmd wordt tot Temp2.

De gangbare injectiehoeveelheden waren 10 of 25 ng. Vrijwel alle componenten gaven bij deze hoeveelheid een respons. Vanuit deze hoeveelheid is een LDL geschat (uitgaande van de "full spec." mode), die weergegeven is in de bijlage. Bij detectie met geselecteerde ionen (MID-mode) komt het detectieniveau een faktor 10-100 lager te liggen.

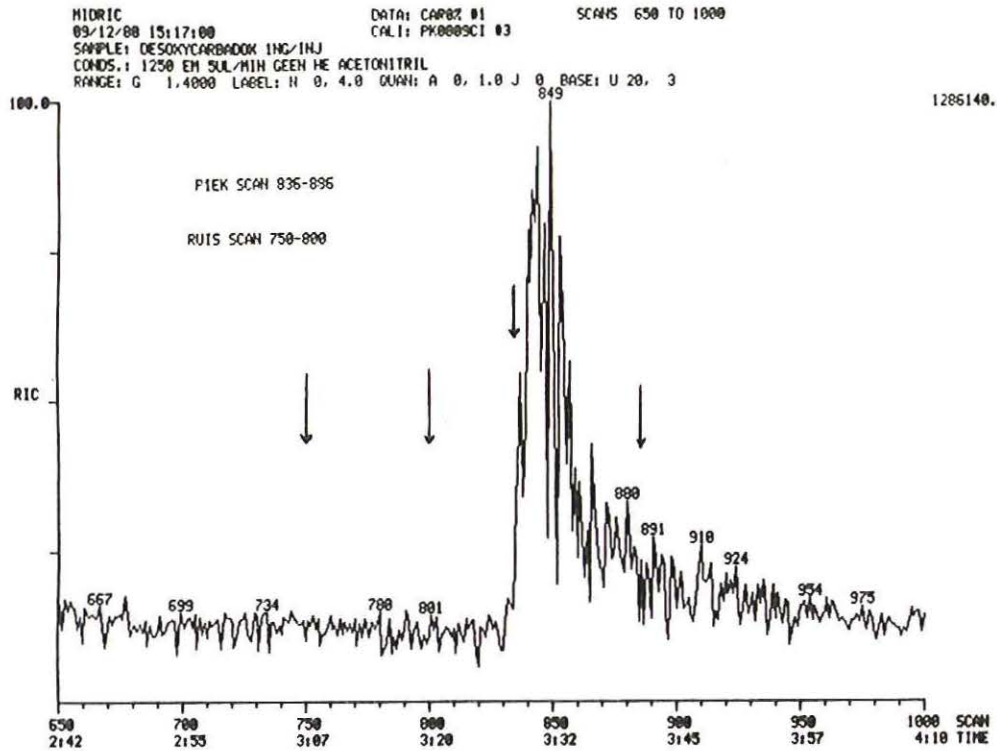
4.3 Reproduceerbaarheid

M.b.v. de component desoxycarbadox zijn een aantal metingen verricht om de reproduceerbaarheid van het geheel te bepalen.

De component levert een goede piekvorm op bij een probetemperatuur van 360°C en genereert een positieve (m/z 231) en twee negatieve massa's (m/z 230 en 155). Het experiment is twee keer uitgevoerd. Eenmaal met een emissiestroom van 0.25mA (10 metingen) en eenmaal met 0.05mA (9 metingen).

De resultaten zijn weergegeven in bijlage B.

Door de hakkelige piekvorm varieert de intensiteit en ook de onderlinge massaverhouding sterk van scan tot scan. Om toch een redelijk stabiele respons te krijgen, zijn 50 scans over de piek gesommeerd waarna van het totaal 50 scans aan ruis (gebied vlak voor de piek) zijn afgetrokken (fig 5).



Figuur 5: Desoxycarbadox. Meetgedeelte - ruisgedeelte.

Van de drie massa's zijn het aantal counts weergegeven.

De respons bij 0.25 c.q. 0.05 mA is vergelijkbaar. Ook met de spreiding van de respons is dit het geval, behalve voor m/z 155 waarvoor de respons bij 0.05 mA de helft is van de waarde bij 0.25 mA.

De stabiliteit van de onderlinge verhouding tussen de massa's in een spectrum geeft aan in hoeverre een MS techniek voor een specifieke component geschikt is als confirmatiemethode.

Op grond daarvan is de respons voor m/z 230 relatief weergegeven t.o.v. de respons voor m/z 155. Uit bijlage B blijkt, dat de stabiliteit beperkt is, en dat de sterkte van de emissiestroom hierop weinig invloed heeft.

Om een indruk te krijgen van de stabiliteit van de verhouding tussen de positieve en negatieve respons is de respons voor positieve massa 231 relatief weergegeven t.o.v. massa 155 (basepeak negatief spectrum).

De variatiecoëfficiënt in de verhouding positief/negatief is gelijk bij beide meetseries. De waarde ervan is beduidend hoger dan de onderlinge verhouding tussen de 2 negatieve massa's.

De signaal-ruis verhouding (S/N) blijkt per massa sterk te variëren (zie tabel 1).

Tabel 1: Signaal/ruis verhouding per massa bij twee verschillende waarden van de emissiestroom.

Massa	0.25 mA	0.05 mA
m/z 231	55	90
m/z 155	20	97
m/z 230	96	210

Vooraf de laagste massa (m/z 155) blijkt veel last te hebben van de ruis. Dit hangt samen met de intensiteit van het signaal veroorzaakt door het eluens (zie fig 3 bij 0.25mA). Vandaar ook dat de invloed van het verlagen van de emissiestroom bij die massa het sterkst merkbaar is.

5 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Het doel van dit onderzoek was om na te gaan in hoeverre het met de DLI-probe - Finnigan 4500 combinatie mogelijk is om niet vluchtige monsters te analyseren.

Uit het onderzoek is gebleken, dat vrijwel alle componenten die getest zijn een respons geven op een acceptabel niveau. De absolute detectiegrens varieert van 1-5 ng in de "Full scan" mode. Bij de MID mode zal dat een factor 10-100 lager zijn. Door het lage injectievolume van 0,5 µl wordt de toepasbaarheid bij residuanalyses echter beperkt.

Het eindextract bevat meestal maar 5-10 ng per component, zodat het eindvolume niet groter mag zijn dan enkele µl's, hetgeen in de praktijk grote problemen oplevert.

De fragmentatie blijkt bijzonder beperkt te zijn. Dit gebrek komt bij de meeste LC interfaces (m.u.v. MAGIC) voor. De spectra leveren daardoor weinig structuurinformatie op. Meestal komt alleen de molecuulpiek voor. Een mogelijkheid ter verbetering zou de toepassing van tandem massaspectrometrie kunnen zijn.

Vergeleken met de eigenschappen van de GCMS is de DLI-MS een zwakke optie. Zowel qua piekvorm als qua fragmentatie (vooral t.o.v. EI) is de techniek duidelijk inferieur. De toepassing ervan is dus alleen zinvol indien de GC ingang niet te gebruiken is door componenteigenschappen.

Gezien de geringe resultaten van dit onderzoek en tevens door het feit dat door het RIKILT een Finnigan TSQ (voorzien van thermospray) is aangeschaft, is besloten niet verder te gaan met dit onderzoek.

LITERATUUR

Apffel, J.A., Brinkman U.A.Th., Frei W. en Evers E.A.I.M.
Gas-Nebulized Direct Liquid Introduction Interface for Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. Analytical Chemistry, 1983, vol 55, blz 2280.

Apffel, J.A., Brinkman U.A.Th. en Frei R.W. Micro Post-column Extraction System for Interfacing Reversed-Phase Micro Liquid Chromatography and Mass Spectrometry. Journal of Chromatography, 312(1984) 153-164.

Arpino, P.J. et al. Design and Construction of LC/MS Interfaces Utilizing Fused-silica Capillary Tubes as Vacuum Nebulizers. International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes, vol 64(1985), blz 275-298.

Overzicht onderzochte componenten
DLI MS

Bijlage A

Component	MW	Pos base	p m/z1	p m/z2	p m/z3	Neg base	n m/z1	n m/z2	n m/z3	Temp1	Temp2	LDL pos	LDL neg	nA
Aflatoxine B1	312	313	299	352	0	297	312	0	0	300	390	5	1	0.25
Azaperon	327	328	0	0	0	0	0	0	0	280	280	3	0	0.25
Azepronazine	326	327	282	256	0	0	0	0	0	240	240	5	0	0.25
Carazolol	298	299	311	0	0	0	0	0	0	300	300	3	0	0.25
Carbadox	262	231	263	247	0	230	155	246	262	300	300	3	1	0.25
Chlooramfenicol	322	0	0	0	0	151	250	286	322	300	380	0	1	0.25
Chloorpronazine	318	319	0	0	0	0	0	0	0	280	280	3	0	0.25
Dapson	248	249	0	0	0	0	0	0	0	300	300	1	0	0.25
DES	268	269	0	0	0	267	0	0	0	360	360	1	3	0.05
Desoxycarbadox	230	231	0	0	0	155	230	0	0	360	360	1	1	0.25
Diazepam	284	285	0	0	0	226	0	0	0	280	280	1	3	0.25
Dienestrol	266	267	0	0	0	265	0	0	0	360	360	3	5	0.05
Dimetridazol	141	142	0	0	0	141	0	0	0	280	280	3	1	0.25
Estradiol 17b	272	273	255	0	0	0	0	0	0	280	280	3	0	0.25
Etinacetaat	409	0	0	0	0	309	351	383	0	240	240	0	1	0.05
Hexestrol	270	177	0	0	0	269	0	0	0	380	380	1	5	0.05
Ipronidazol	169	170	0	0	0	169	0	0	0	300	300	1	10	0.25
Medroxyprogesteron	344	345	0	0	0	0	0	0	0	300	300	3	0	0.25
Med prog acetaat	386	387	327	378	0	0	0	0	0	300	380	5	0	0.25
Methyltestosteron	302	303	285	0	0	0	0	0	0	240	320	1	0	0.25
Propionylpronazine	340	341	0	0	0	0	0	0	0	300	300	3	0	0.25
Ronidazol	200	201	0	0	0	157	0	0	0	280	280	3	3	0.25
Saxitoxine diaceta	419	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.05
Sulfacetamide	214	215	0	0	0	155	0	0	0	280	320	3	1	0.25
Sulfadimethoxine	310	156	311	0	0	155	0	0	0	280	280	1	1	0.25
Sulfadimidine	278	279	0	0	0	155	0	0	0	300	390	1	1	0.25
Sulfadoxine	310	311	156	0	0	155	309	0	0	240	300	1	1	0.25
Sulfaguanidine	214	215	173	0	0	194	213	0	0	280	280	3	3	0.25
Sulfamethoxazol	253	254	266	199	158	225	252	139	0	300	390	1	1	0.25
Sulfanilamide	172	173	155	0	0	0	0	0	0	280	340	3	0	0.25
Trenbolon	270	271	0	0	0	270	0	0	0	300	300	3	3	0.25

Waarbij:

Pos base: Basepeak in het positieve spectrum.

Neg base: Basepeak in het negatieve spectrum.

p m/z1 enz.: Overige interessante massa's in het pos. spectrum.

n m/z1 enz.: Overige interessante massa's in het neg. spectrum.

Temp1 Temp2: Temperatuur van de probetip tijdens de meting.

Indien Temp2 > Temp1 dan is de temperatuur verhoogd tot Temp2 op het moment dat de component begint te elueren.

LDL : "Lowest detectable level" voor zowel de pos. als neg. meting uitgaande van de "Full spec" mode

nA : Emissiestroom waarbij gemeten is.

Reproduceerbaarheid desoxycarbadox meting
 acetonitril 100% 360C probetip lng per injectie

Gesommeerde piek met ruis aftrek(50 scans piek - 50 scans ruis)

Filament 0.25 mA

pos m/z 231 counts	neg m/z 155 counts	neg m/z 230 counts	neg % m/z 230 t.o.v. 155	pos % m/z 231 t.o.v. 155	
485376	11091900	8097087	73.0	4.4	
395264	10600400	8618125	81.3	3.7	
356352	7380990	6229556	84.4	4.8	
402944	8650750	7327185	84.7	4.7	
366080	8200190	6478150	79.0	4.5	
322560	6692860	5360981	80.1	4.8	
405504	5488630	4786085	87.2	7.4	
409600	7634940	7436432	97.4	5.4	
333312	6676470	5728411	85.8	5.0	
388608	7438330	5489488	73.8	5.2	
Gemiddeld.	386560	7985546	6555150	82.7	5.0
St. Dev.	46267	1744280	1268982	7.1	1.0
Var. Coef. %	12.0	21.8	19.4	8.5	19.3

Filament 0.05 mA

pos m/z 231 counts	neg m/z 155 counts	neg m/z 230 counts	neg % m/z 230 t.o.v. 155	pos % m/z 231 t.o.v. 155	
369664	9043960	7488399	82.8	4.1	
320000	9289700	5137204	55.3	3.4	
387584	9879600	5749927	58.2	3.9	
289300	12795900	9110681	71.2	2.3	
471040	10403800	7126603	68.5	4.5	
356864	10797000	8745570	81.0	3.3	
323584	11272100	8995136	79.8	2.9	
377856	10633200	8251363	77.6	3.6	
432128	10321900	7916897	76.7	4.2	
Gemiddeld.	369780	10493018	7613531	72.3	3.6
St. Dev.	56766	1117114	1404841	10.0	.7
Var. Coef. %	15.4	10.6	18.5	13.8	19.7