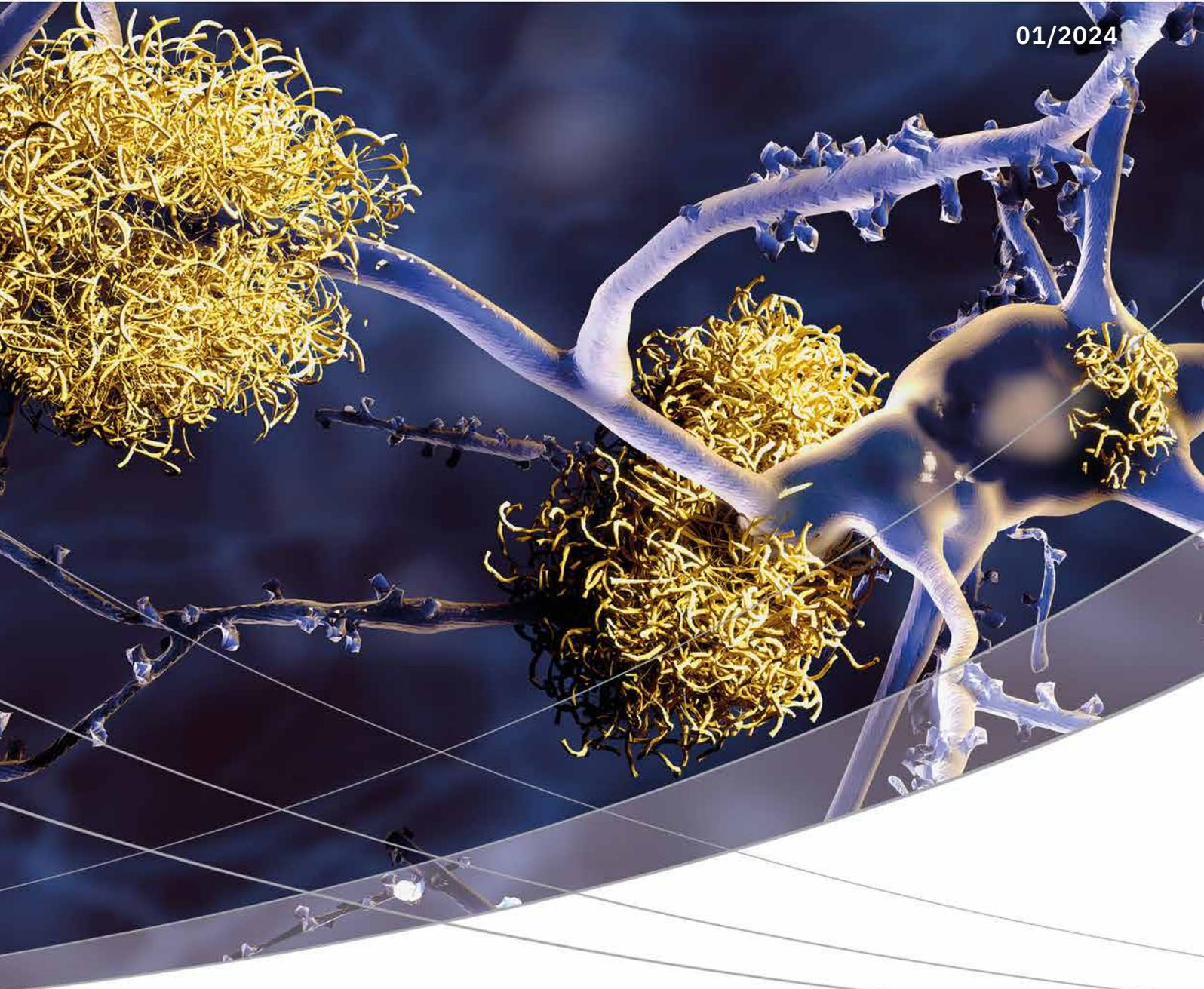


secrets of science

magazine

01/2024



Massenspektrometrischer Nachweis von Alzheimer-Biomarkern im Blut

Mit nur wenigen Tropfen Blut – der erste erfolgreiche Nachweis von Plasma-A β mittels MS

Wenig Kohlenstoff, große Wirkung: Bioabfälle optimal nutzen

Herstellung nützlicher Materialien aus Bioabfällen mittels Pyrolyse

Blut spricht Bände

Eine neue Methode zur Blutentnahme und -analyse



Massenspektrometrischer Nachweis von Alzheimer-Biomarkern im Blut
 Mit nur wenigen Tropfen Blut – der erste erfolgreiche Nachweis von Plasma-A β mittels MS **Seite 22**

Die fünf Kategorien in der „Secrets of Science“

SWITCH ON

Erfahren Sie mehr über unsere Produkte und Applikationen sowie aktuelle Themen.

MOVE ON

Wir begeben uns auf Neuland: neue Anwendungen und Einsatzgebiete unserer Systeme und neue Konfigurationen für Applikationen.

ON SHOW

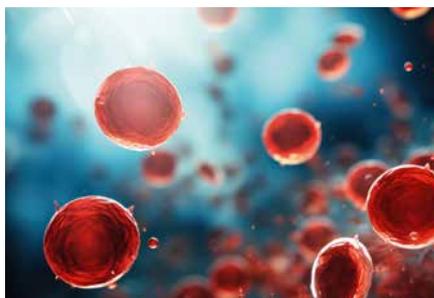
Shimadzu vor Ort: Berichte zu Events, Ausstellungen und Seminaren.

VOICES

Hier kommen unsere Kunden zu Wort in Interviews, Gastbeiträgen und Kommentaren.

HANDS-ON

Service Themen sowie Tipps und Tricks zu unseren Geräten (Funktionen, Wartung etc.).



Blut spricht Bände

Eine neue Methode zur Blutentnahme und -analyse

19



Wenig Kohlenstoff, große Wirkung: Bioabfälle optimal nutzen

Herstellung nützlicher Materialien aus Bioabfällen mittels Pyrolyse

28



Sie machen den Unterschied – probieren Sie es aus.
Setzen Sie Ihre wissenschaftlichen Fähigkeiten dort ein, wo es darauf ankommt.

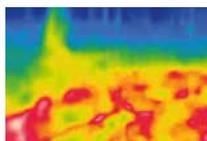
www.shimadzu.eu/career

Newsletter

Aktuelle Nachrichten von Shimadzu direkt in Ihr Postfach mit den Shimadzu Europa Updates.



Jetzt registrieren!



Der Hitze auf der Spur

Ein neuartiges Experiment zur Messung der Wärmestrahlung

04



Neuer ACCUTRACE™ Plus Kraftstoffmarker BPE (Butylphenylether) im Einsatz gegen Kriminalität

Solide und zuverlässige GC-MS/MS-Methode mithilfe der MDGC-Umschalttechnik von Shimadzu

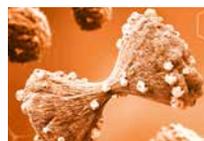
10



Bisquaternäres Ammoniumaddukt mit Trifluoracetat

MSⁿ-Fragmentierungsanalyse eines bisquaternären Ammonium-Trifluoracetat-Addukts

14



DOSIURA™ – eine neue Lösung für das Screening auf DPD-Mangel

Messung von Uracilämie mittels LC-MS/MS als präziser Ansatz

34



Rein in die grüne Energie

Die Rolle der Wasserqualität in Power-to-Gas-Anwendungen

38



Veranstaltungen

44

Der Hitze auf der Spur

Ein neuartiges Experiment zur Messung der Wärmestrahlung

Dr. Benjamin Thomas, Shimadzu Europa GmbH

Die Wärmeübertragung per Infrarotstrahlung begegnet uns oft im Alltag. Infrarotheizungen spenden Wärme im Wohnzimmer, Terrarium oder in der Auslage in der Kantine. Auch in industriellen Prozessen spielt diese Art der Wärmeübertragung zwischen Partikeln eine wichtige Rolle, beispielsweise in der Eisenverarbeitung oder beim Kalkbrennen, wo jeweils Schüttgut in riesigen Öfen erhitzt wird.

Ein Forschungsgebiet des Lehrstuhls für Energieanlagen und Energieprozesstechnik der Ruhr-Universität Bochum um Martin Schiemann ist die Untersuchung dieser Wärmeübertragung zwischen Partikeln in Schüttungen. Als Modellsystem dient ein Arrangement von Metall- oder Mineralstäben. Für die Emissionsmessung wurde ein bislang einzigartiges Experiment rund um ein modifiziertes IRTracer-100 entwickelt.



Wärmeübertragung von einem wärmeren auf einen kälteren Körper kann grundsätzlich auf drei verschiedene Weisen erfolgen, wie in Abbildung 1 am Beispiel eines Kochtopfs mit Wasser dargestellt:

- (A) Über Konvektion mit Stofftransport in einem mobilen Medium
- (B) Über Wärmeleitung durch ein Medium ohne Stofftransport
- (C) Wärmestrahlung auch im Vakuum möglich

Bei der Konvektion (A) gehen mit Temperaturunterschieden auch Dichteunterschiede einher, durch die sich Moleküle von Hochdruckzonen (wärmer) in Tiefdruckzonen (kälter) bewegen. Heißes Wasser steigt beispielsweise im Topf nach oben. Durch die Durchmischung gleichen sich die Temperaturen in beiden Schichten an.

Bei der Wärmeleitung (B) erfolgt die Übertragung von Wärme je nach Beschaffenheit des Mediums durch Schwingungen (nicht metallische Festkörper), Stöße (Fluide) oder mobile Elektronen (Metalle). Das „wärmere“ Molekül gibt dabei Energie an das „kältere“ Molekül ab.

In diesem Artikel soll die Wärmestrahlung (C) näher betrachtet werden, bei der ein heißer Körper breitbandig Strahlung im infraroten Spektralbereich emittiert. Wenn ein Material diese Infrarotstrahlung absorbiert, werden dort wieder Schwingungen und Rotationen angeregt und das absorbierende Material so erwärmt.

Die Wärmestrahlung ist die einzige Art der Wärmeübertragung, die kein Medium erfordert. Allerdings wird die Wärme nur dann übertragen, wenn das Material diese Infrarotstrahlung absorbiert und nicht reflektiert. Daher wird zur Isolation z. B. bei Thermoskannen eine evakuierte Kammer mit verspiegelten Oberflächen eingesetzt, um alle Arten der Wärmeübertragung zu unterbinden. Wärmelampen hingegen erzeugen gezielt Infrarotstrahlung, um Wärme zu übertragen. →

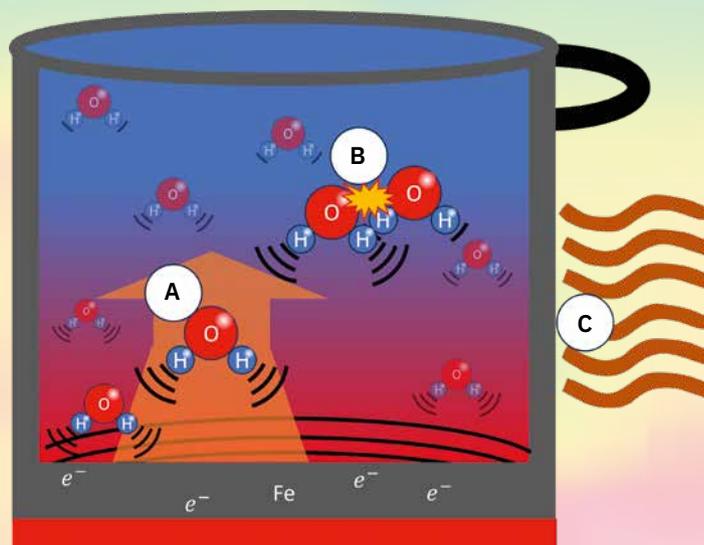


Abbildung 1: Arten der Wärmeübertragung in einem Kochtopf mit heißem Wasser:

- (A) Heißes Wasser steigt in Schichten mit kälterem Wasser auf.
- (B) Die in Schwingungen und Rotationen gespeicherte Energie wird durch Stöße auf andere Wassermoleküle übertragen.
- (C) Die heiße Oberfläche des Topfs gibt Wärmestrahlung in die Umgebung ab.



Wärmeübertragung in Schüttungen

In Schüttungen erfolgt Wärmeübertragung durch Partikelkontakte, durch das in den Zwischenräumen befindliche Gas und über freie Sichtlinien hinweg über Strahlung. Die Effektivität der Wärmeübertragung hängt dabei von einer Vielzahl von Parametern ab, wie der Leitfähigkeit und Oberflächenbeschaffenheit der Partikel im Fall von Wärmeleitung und der Emissions- und Absorptions-Charakteristik im Fall von Wärmestrahlung. Ein im Infrarotbereich gut reflektierender Körper erwärmt sich langsamer als ein Körper, der die meiste Strahlung absorbiert.

Ein zweidimensionales Modell für sich nicht berührende Partikel einer Schüttung kann wie in Abbildung 2 gezeigt durch ein Arrangement von Stäben realisiert werden, von denen der mittlere erhitzt wird und dementsprechend Infrarotstrahlung in seine unmittelbare Umgebung abgibt.

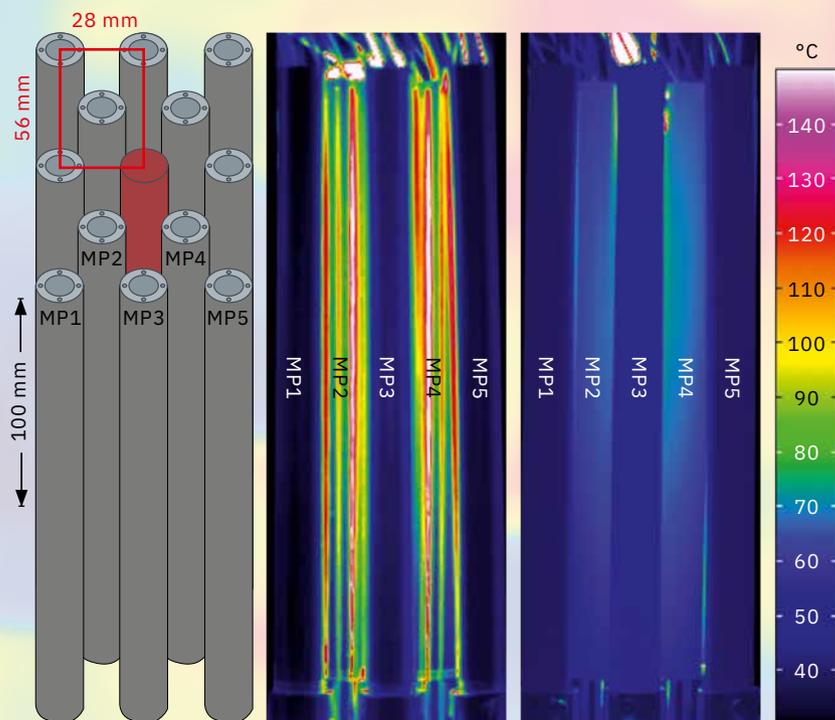


Abbildung 2: Modell zur Untersuchung der Wärmeübertragung in Schüttungen (links) und Blick auf die indirekt erwärmten Stäbe aus rostfreiem Stahl (Mitte) und Magnesiumoxid (rechts) nach 60 Minuten. Der rot markierte Stab ist 600 °C heiß. Modifiziert aus [1] und [2].

Ein beheizbarer Stab (MP0) ist von 12 nicht temperierten Stäben aus dem gleichen Material umgeben. Das Ziel ist es, den beheizbaren Stab auf 600 °C zu erwärmen und über Temperatur- und FTIR-Messungen zu ermitteln, wie schnell und wie stark die umliegenden Stäbe durch die abgestrahlte Wärme indirekt erhitzt werden. Dieser Vorgang wurde mit der Diskrete-Ordinaten-Methode (englisch discrete ordinates method, DOM) und Monte-Carlo Ray-Tracing (MCRT) simuliert.[1]

Versuchsaufbau

Die bildgebende Messung von Wärmestrahlung ist mit Infrarotkameras möglich, die Untersuchung des Emissionsspektrums mittels FTIR-Spektroskopie. Zur Überprüfung der durchgeführten Simulationen zur Wärmeübertragung mit realen Daten wurde von Tyslik *et al.* der in Abbildung 3 gezeigte, bislang einzigartige Versuchsaufbau konzipiert, der hier näher vorgestellt werden soll.

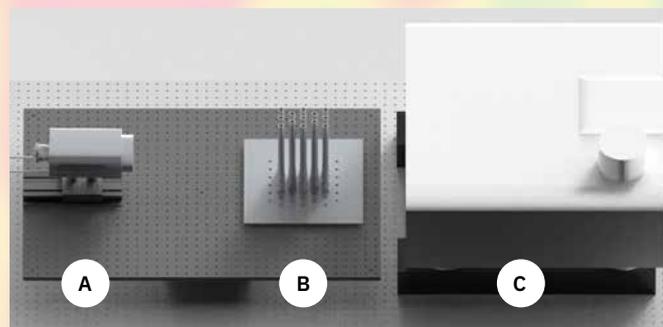


Abbildung 3: Experiment zur Validierung des theoretischen Modells:

- (A) Wärmebildkamera.
- (B) Metallstäbe aus Abbildung 2.
- (C) FTIR-Spektrometer. Modifiziert aus [2].

Das Herzstück ist das oben beschriebene Arrangement von Stäben (B). Die Temperatur der indirekt erwärmten Stäbe wird mit einer Wärmebildkamera (A) untersucht. Die abgegebene Infrarotstrahlung wird in ein modifiziertes Shimadzu IRTracer-100 eingekoppelt und ersetzt so die ab Werk verbaute Lichtquelle. Die Strahlung durchläuft das Michelson-Interferometer und den leeren Probenraum und wird mit einem MCT-Detektor gemessen. →

Ergebnisse

Die Messergebnisse sind im Detail in den Literaturstellen [1] und [2] beschrieben (siehe QR-Code am Ende dieses Artikels). Für die experimentelle Untersuchung wurden als Stabmaterialien Edelstahl und Magnesiumoxid verwendet. Eine Reihe von Testparametern, wie der Emissionsgrad und die benötigte Zeit zum Erreichen der Gleichgewichtstemperatur, wurden bestimmt und im Detail diskutiert. Der zentrale, direkt erhitzte Stab strahlt Wärme in Form von Infrarotstrahlung an die umgebenden Stäbe ab. Diese werden so indirekt erwärmt und geben dann ihrerseits Wärme in Form von Infrarotstrahlung ab, reflektieren aber auch einen Teil der Infrarotstrahlung.

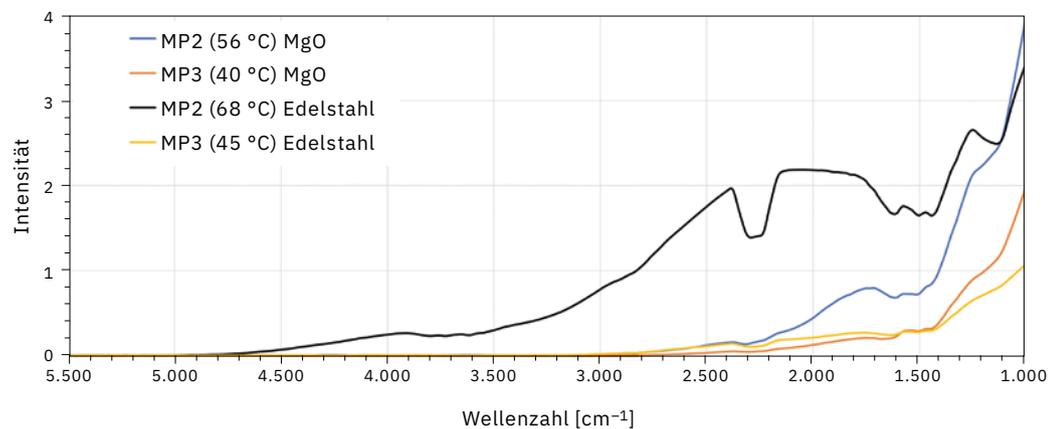
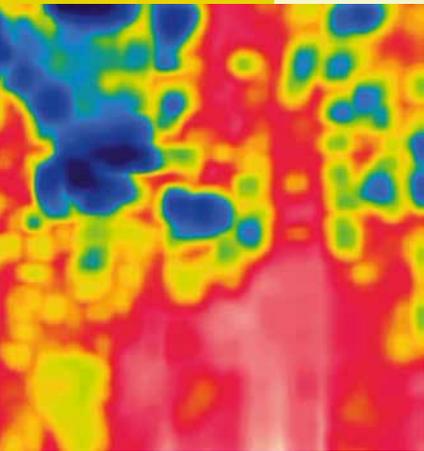


Abbildung 4: Emissionsspektren der Stäbe MP2 und MP3 aus rostfreiem Stahl und Magnesiumoxid im Vergleich

Die Emissionsspektren von MP2 und MP3 nach 60 Minuten bei einer Zieltemperatur von 600 °C sind für beide getesteten Materialien in Abbildung 4 im Vergleich gezeigt. MP2 hat hier eine Temperatur von 68 °C (Stahl) bzw. 56 °C (MgO). MP3 hat hier eine Temperatur von 45 °C (Stahl) bzw. 40 °C (MgO).

Beim wärmeren Stab MP2 ist die Emissionsintensität wie erwartet deutlich größer als bei dem kälteren Stab MP3. Von 1.000 bis 4.500 cm^{-1} ist sie außerdem deutlich größer für Edelstahl als für Magnesiumoxid. Das Emissionsspektrum des Edelstahlstabs zeigt darüber hinaus eine Bande von 1.600 bis 2.500 cm^{-1} , die in dieser Form weder bei den Magnesiumoxidstäben noch bei MP3 beobachtet wurde.

Die Messergebnisse wurden allerdings durch Reflexion an den Staboberflächen beeinflusst, insbesondere beim weit innen positionierten Stab MP2.

Um die Einflüsse der Reflexion zu untersuchen, wurde das Emissionsspektrum des heizbaren Stabs bei 67 °C in einem Aufbau ohne die umgebenden

Stäbe gemessen. In diesem Experiment ist die in Abbildung 4 beobachtete Bande nicht sichtbar, wie in Abbildung 5 gezeigt. Dies zeigt den großen Anteil, den an der Oberfläche reflektierte Wärmestrahlung am gemessenen Emissionsspektrum hat. Die Ergebnisse in [1] zeigen, dass MCRT die Messergebnisse exakter in Simulationen abbilden kann. Die Autoren gehen aber davon aus, dass in Simulationen großer realer Schüttungen Adaption der DOM als rechenzeiteffizienter Kompromiss mit adäquater Genauigkeit zu bevorzugen ist.[3] Dieser Ansatz wird gegen Messergebnisse des beschriebenen Aufbaus validiert werden.

Die Wärmeleitung zwischen den Stäben ist in dem hier beschriebenen Aufbau soweit technisch möglich unterbunden, da die Stäbe sich nicht berühren. Um auch die Wärmeübertragung durch Konvektion auszuschließen, wird der Aufbau in Zukunft durch eine Vakuumkammer ergänzt.

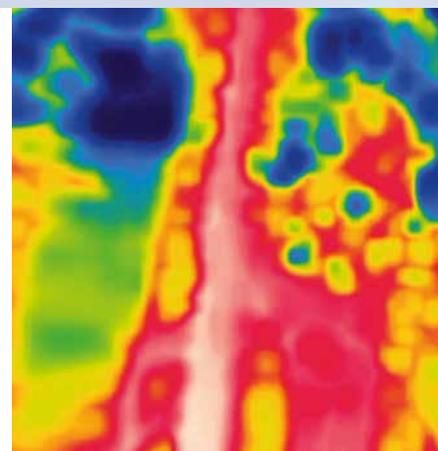
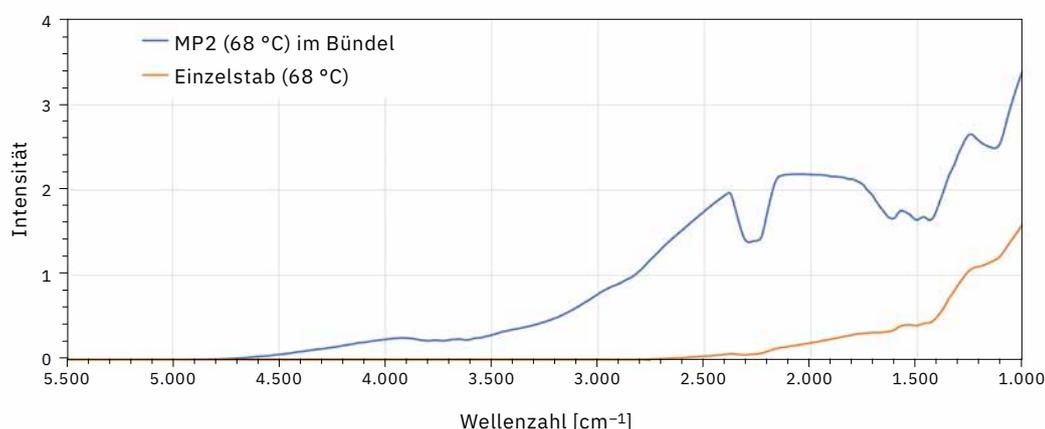


Abbildung 5: Vergleich zwischen den Emissionsspektren von MP2 (Edelstahl) im Verbund gemessen (blau) und einem isolierten Stab bei gleicher Temperatur gemessen (orange)

Auf die Reflexion kommt es an

Der beschriebene Versuchsaufbau mit einem Arrangement von Metallstäben und einem modifizierten FTIR-Spektrometer ermöglicht die Untersuchung von Wärmetransport durch Infrarotstrahlung. In einem ersten Versuch wurden rostfreier Stahl und Magnesiumoxid verglichen und die Relevanz der Reflexionseigenschaften des Materials gezeigt. Durch die deutlich höhere Reflektivität der Stahlstäbe durchdringt die Wärmestrahlung ein Stahlbündel besser als ein Magnesiumoxidbündel. Diese ersten Ergebnisse und der Vergleich mit Computersimulationen geben wichtige Impulse für die weitere Erforschung und Modellierung der Wärmeübertragung in Schüttungen. Eine genaue Kenntnis der Mechanismen dieser Wärmeübertragung ermöglicht es, verschiedenste Prozessparameter in großtechnischen Anlagen zu optimieren und somit viel Energie einzusparen. Anwendungsbereiche könnten das Kalkbrennen oder auch die Eisenverarbeitung sein.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.



Neuer ACCUTRACE™ Plus Kraftstoffmarker BPE (Butylphenylether) im Einsatz gegen Kriminalität

Solide und zuverlässige GC-MS/MS-Methode
mithilfe der MDGC-Umschaltechnik von Shimadzu

Waldemar Weber, Nerea Lorenzo Parodi, Ute Potyka, Xaver Mönnighoff, Shimadzu Europa GmbH

Seit Januar 2024 ersetzt der neue ACCUTRACE™ Plus Kraftstoffmarker BPE (Butylphenylether) in der Europäischen Union den bisherigen Standard „Solvent Yellow 124“. Der neue Marker besteht aus naphthenischen Kohlenwasserstoffen als Lösungsmittel und BPE, ist sicher vor „Kraftstoffwäsche“, frei von schädlichen Zusatzstoffen und einfach in der Handhabung. Außerdem kann er mittels GC-MS schnell und sogar in sehr geringen Mengen nachgewiesen werden. Shimadzu hat dazu eine nachweisstarke, genaue und praktische GC-MS-Methode entsprechend den europäischen Vorschriften entwickelt.



Der neue Euromarker und sein Vorgänger

Seit 2001 wird in der Europäischen Union (EU) eine einheitliche steuerliche Kennzeichnung für Kraftstoffe verwendet, um die Verwechslung von unterschiedlich besteuerten Kraftstoffen und Diesel zu vermeiden. Hauptsächlich aber geht es darum, Betrug, Verdünnung, Verfälschung und Diebstahl von Kraftstoffen aufzudecken, die zu einem Verlust von Steuereinnahmen für Regierungen und Ölgesellschaften in der EU von mehreren Milliarden Euro pro Jahr führen. In vielen europäischen Ländern werden Kraftstoffe wie Agrardiesel, Biodiesel und Heizöl subventioniert. Zur Bekämpfung des Missbrauchs niedrig besteuert Kraftstoffe wurden diese früher mit verschiedenen Azofarbstoffen namens „Solvent Red“ gekennzeichnet. Der gelbe Marker „Solvent Yellow 124“ wurde ab 2002 EU-weit für Heizöl eingeführt, da er leichter zu analysieren ist. Unter dem Namen „Euromarker“ wird er Brennstoffen, die nicht für Kraftfahrzeuge bestimmt sind, in Mengen von 6 mg/l zugesetzt. Solvent Yellow 124 selbst färbt das Heizöl kaum, daher wird zur leichteren Unterscheidung zusätzlich ein roter Farbstoff hinzugefügt. Er lässt sich selbst in stark verdünnter Form äußerst schnell und zuverlässig mit einem Indikatorreagenz nachweisen. Alternativ kann er auch mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) quantifiziert werden. Allerdings ergab die jüngste Untersuchung der Europäischen Kommission, dass Solvent Yellow 124 nicht sonderlich widerstandsfähig gegen gängige Beseitigungsmethoden ist. Gerissene Betrüger fanden sogar einen Weg zur „Kraftstoffwäsche“.

Sicher vor „Kraftstoffwäsche“ – frei von schädlichen Zusatzstoffen – einfach in der Handhabung

Einige europäische Länder äußerten zudem Bedenken hinsichtlich der Toxizität von Azofarbstoffen. Daher beschloss die Europäische Kommission, ACCUTRACE™ Plus als neuen, sichereren und widerstandsfähigeren Euromarker einzuführen. Der neue Marker BPE (Butylphenylether) ist sicher vor „Kraftstoffwäsche“, frei von schädlichen Zusatzstoffen und einfach in der Handhabung. Außerdem kann er mittels GC-MS schnell und in sehr geringen Mengen nachgewiesen werden. Der Beschluss über den ACCUTRACE™ Plus Kraftstoffmarker wurde im Januar 2024 wirksam.

Probenvorbereitung und -kalibrierung

Anhand einer Stammlösung von BPE in Xylol wurde eine 7-Punkt-Kalibrierung zwischen 0,1 und 12 mg/l in Diesel hergestellt. Die Proben wurden direkt und ohne jegliche Probenvorbereitung analysiert. Dank der sogenannten Heart-Cut-Technik wurde der größte Teil der Kraftstoffmatrix in den FID geleitet und nur ein sehr kleiner Teil der Probe, der das BPE enthielt, wurde in eine zweite, polare Säule und schließlich in das Massenspektrometer eingebracht.

Ergebnisse

Ein repräsentatives Chromatogramm der zweiten Dimension von BPE in Diesel, das die Trennung der Basislinie des BPE von Diesel zeigt, ist in Abbildung 1 dargestellt. Innerhalb des untersuchten Konzentrationsbereichs zwischen 0,1 und 12 mg/l wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen eine ausgezeichnete Linearität beobachtet, mit einem Korrelationskoeffizienten von $R^2 > 0,9999$, wie in Abbildung 2 dargestellt. Es wurden eine Nachweisgrenze von 2,8 µg/l und eine Quantifizierungsgrenze von 9,2 µg/l erzielt, was einen Nachweis von manipuliertem Diesel weit unterhalb der geforderten Quantifizierungsgrenze ermöglicht. Die Ergebnisse für alle Konzentrationsstufen sind in Tabelle 1 aufgeführt. Wie in Tabelle 2 dargestellt, wurden für gespikete Diesel- und Benzinproben Wiederfindungsraten zwischen 93 % und 117 % berechnet. →

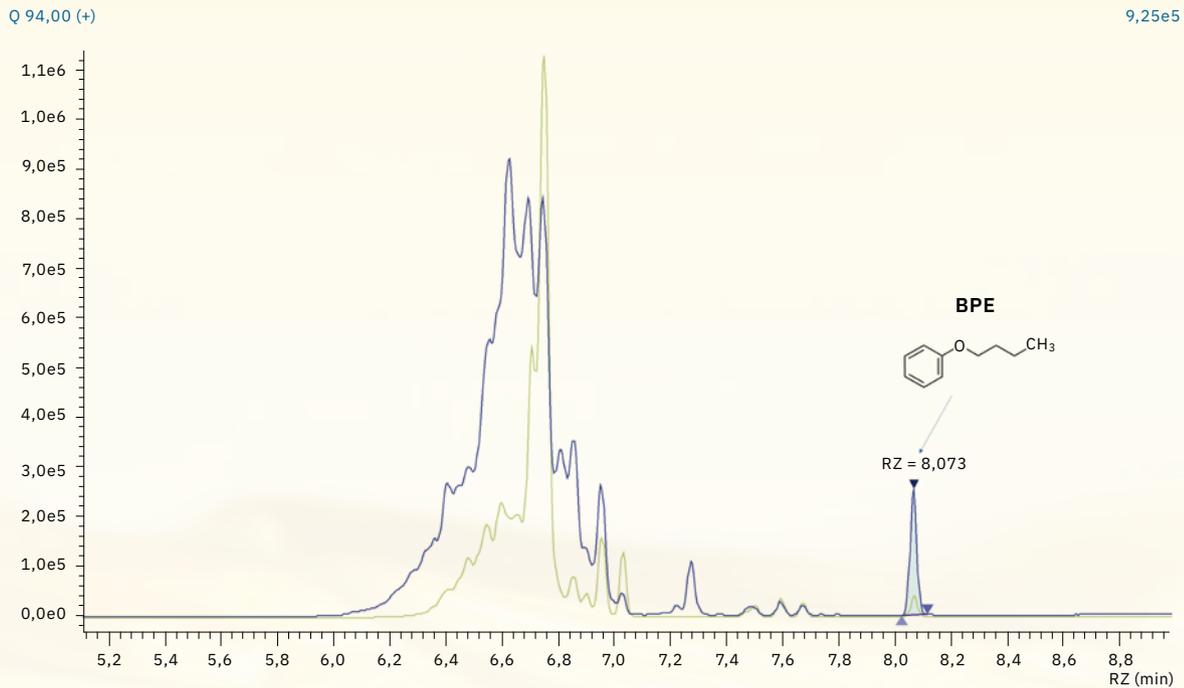


Abbildung 1: Chromatogramm der zweiten Dimension von 2 mg/l BPE in Diesel,
blau = Ziel m/z 94, grün = Referenz m/z 150

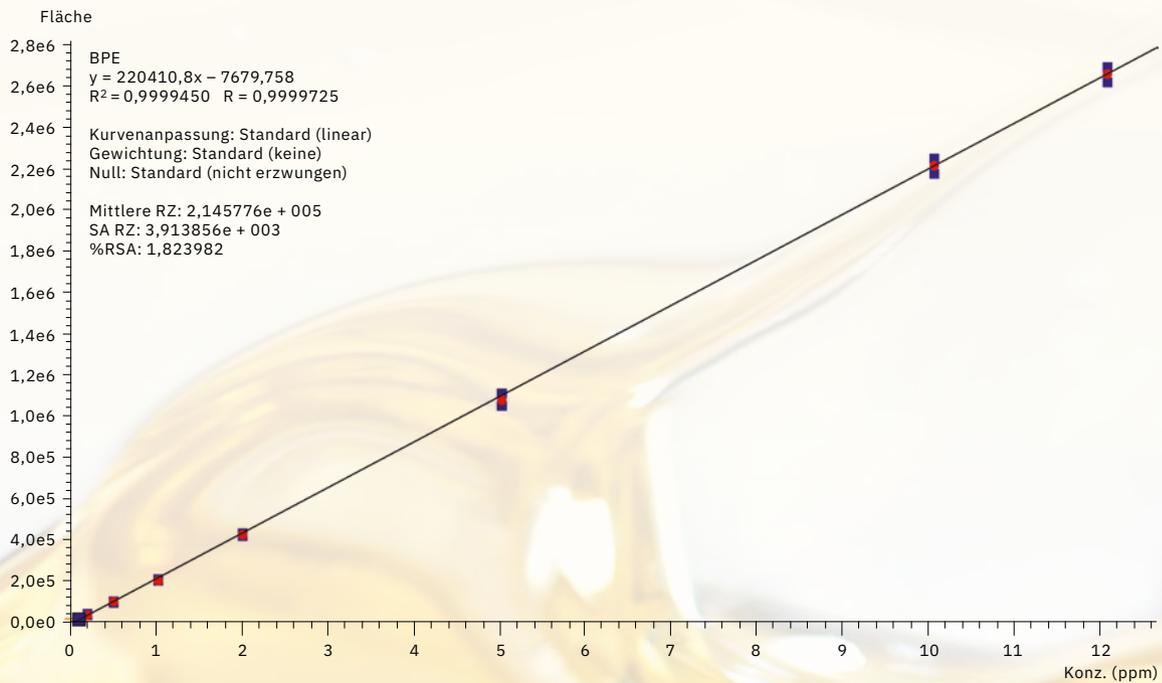


Abbildung 2: Linearität von BPE innerhalb eines Tages, Konzentrationsbereich von 0,1 bis 12 mg/l

Konzentration [mg/l]	Wiederholgenauigkeit in %		
	Tag 1	Tag 2	Innerhalb mehrerer Tage
10	1,0	1,1	2,4
2	0,7	0,8	2,3
0,2	0,9	1,5	1,5
0,1	0,8	1,8	1,4

Tabelle 1: Wiederholgenauigkeit der Peakfläche von BPE in Diesel bei verschiedenen Konzentrationen innerhalb eines Tages und innerhalb mehrerer Tage

	Zielkonz. [mg/l]	Durchschn. Konz. [mg/l]	RSA in %	Gewinnung in %
Diesel	0,2	0,21	1,9	106
	1,0	0,93	0,3	93
	7,46	6,92	0,2	93
Benzin	0,2	0,23	0,8	117
	1,0	0,94	1,1	94
	7,46	7,23	0,7	97

Tabelle 2: Quantifizierung von angereicherten Diesel- und Benzinproben

Hauptgerät	GCMS-QP2020 NX mit FID
Zubehör	AOC-30i Autosampler
Wichtigste Verbrauchsmaterialien und Säulen	DB-17HT, 15 m × 0,25 mm × 0,15 µm; Teilnr. 980-30834
	VF-WAXms, 30 m × 0,25 mm × 1,0 µm; Teilnr. 980-30835
	Retentionsabstand, 2 m × 0,15 mm; Teilnr. 980-10599
Software	GCMSsolution und LabSolutions Insight

Tabelle 3: Empfohlene Gerätekonfiguration

Bei beiden gespikten Proben lässt sich feststellen, dass der BPE deutlich von der Matrix getrennt ist. Die empfohlene Hardware- und Softwarekonfiguration für die Analyse ist unten in Tabelle 3 aufgeführt.

Minimierte Gesamtanalysezeit – weniger Ausfallzeiten – erhöhter Gesamtdurchsatz

Durch die Verwendung der zweidimensionalen Gaschromatographie in Kombination mit einem GC-2030 (FID) und einem QP2020 NX ist eine erfolgreiche Bestimmung von BPE in Diesel und Benzin möglich. Dank dieses Heart-Cut-Systems wird nicht nur die Trennung des polaren BPE von dem unpolaren Brennstoff erreicht, sondern die Methode kann auch erfolgreich validiert werden. Darüber hinaus führt die Anwendung dieses Systems zu einem geringeren Matrixanteil mit Erreichen der zweiten Dimension im MS und somit zu einer drastisch reduzierten Kontamination der Ionenquelle. Auch die Gesamtanalysezeit wird minimiert, da die Rückspülung gleichzeitig mit der Auftrennung in der zweiten Dimension erfolgt. Da das System widerstandsfähiger ist und die Ionenquelle seltener gereinigt werden muss, wird die Ausfallzeit des Systems erheblich reduziert, was den Gesamtdurchsatz erhöht.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.



Abbildung 3: GCMS-QP2020 NX ausgestattet mit einem FID-Detektor und einem AOC-30i Autosampler

Bisquaternäres Ammoniumaddukt mit Trifluoracetat

MSⁿ-Fragmentierungsanalyse eines bisquaternären
Ammonium-Trifluoracetat-Addukts

Marta Kowalska, Dr. Remigiusz Bąchor,
Faculty of Chemistry, University of Wrocław



Trifluoracetat (TFA) ist ein mobiler und langlebiger Stoff, der vor allem durch den Abbau verschiedener Fluorchemikalien in den Wasserkreislauf gelangt und langfristig in der Umwelt verbleibt. Es ist auch als Ionenpaarungsmittel bekannt und verringert die Signalintensität im ESI-MS-Spektrum. Nichtsdestotrotz könnte die Untersuchung seiner Bindung durch Massenspektrometrie einen bedeutenden Einfluss auf die Forschung zur Entwicklung entsprechender Sensoren haben.

Im Rahmen dieser Studie wird gezeigt, dass es möglich ist, ein stabiles bisquaternäres Addukt mit Trifluoracetat zu identifizieren, das zur Bildung von charakteristischen Fragmentationen im MS^n -Modus führt, die ein kovalent gebundenes Anion enthalten. Für dieses Phänomen ist eine Reorganisation der Bindungen erforderlich, die zu einer Ladungsretention am Stickstoffatom führt. →

Die Bildung von Addukten ist ein häufiges Phänomen bei der Analyse mit der Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie (ESI-MS).[1] Häufig treten Kalium-, Natrium-, Ammonium- oder Lithiumaddukte im positiven Ionenmodus [2] und Chloraddukte im negativen Ionenmodus auf.[3, 4] Trifluoressigsäure kann im positiven Ionenmodus der ESI-MS-Addukte mit positiv geladenen Analytionen bilden, wodurch die Signalintensität im Massenspektrum verringert wird. Dieses Phänomen ist auf die weit verbreitete Verwendung von TFA als Zusatzstoff in der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) zurückzuführen. Die Verwendung von TFA führt zu einer Verbesserung der chromatographischen Peak-Form aufgrund der Verringerung des Silanolgruppeneffekts von Säulen.[5] Bei der massenspektrometrischen Analyse ist das Verständnis der Wechselwirkung zwischen zwei assoziierten Molekülen aus einer mechanistischen und biologischen Perspektive von großer Bedeutung. Bestimmte Verbindungen weisen bei der ESI-MS-Analyse eine geringe Ionisierungseffizienz auf, die ihre zuverlässige Erkennung einschränkt. Wie bereits erwähnt, kann die Anwesenheit von Anionen (z. B. dem TFA-Anion) zu einer Verringerung der Signalintensität im MS-Spektrum führen, was bei der Analyse bestimmter schwer ionisier-

barer Verbindungen eine Herausforderung bedeuten kann. Die Verwendung von festen Ladungsträgern (z. B. quaternären Ammoniumsalzen) stellt einen der Ansätze dar, mit denen sich die Effektivität der Ionisierung und die Nachweisempfindlichkeit verbessern lassen.[6] Quaternäre Ammoniumkationen sind stickstoffhaltige Ionen mit vier an den Stickstoff gebundenen Aryl- oder Alkylketten (NR^{4+} -Struktur). Folglich besitzen quaternäre Ammoniumkationen eine konstant positive Ladung.[7] Durch die Anwendung von quaternären Ammoniumsalzen können die Einschränkungen der ESI-MS/MS-Analyse aufgrund der Einführung einer positiven Ladung verringert werden, was die Analyse von Verbindungen mit geringer Ionisierungseffizienz ermöglicht.[6]

Höhere Ionisierungseffizienz durch Pyridiniumgruppe

Pyryliumsalze sind ein Beispiel für eine Verbindung, die aufgrund des Vorhandenseins eines positiv geladenen Sauerstoffatoms eine konstant positive Ladung aufweist. Infolge der hohen Reaktivität dieses Atoms gegenüber Nucleophilen werden Pyryliumsalze zur Herstellung von Pyridiniumderivaten verwendet, d. h. von Verbindungen, die das quaternäre

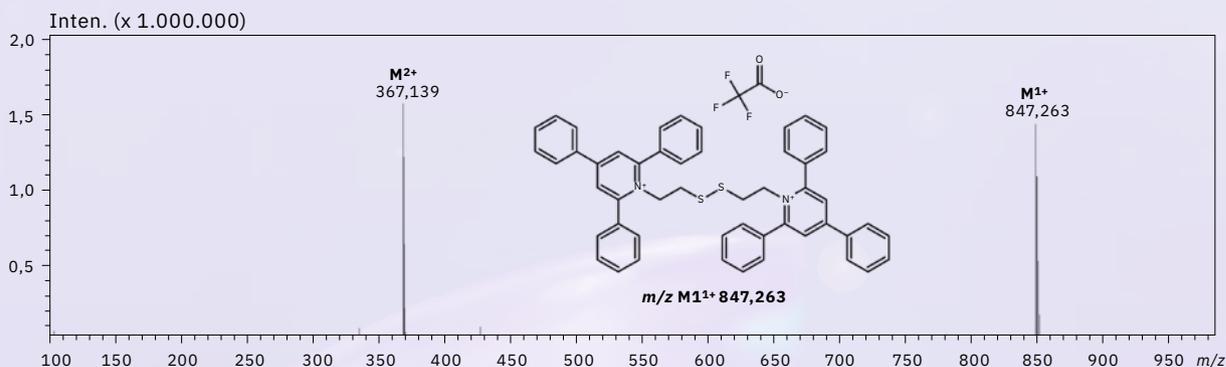


Abbildung 1: ESI-MS-Spektrum des (TPP)2-CYSTAM-TFA-Addukts im positiven Modus. m/z -Bereich von 100 bis 1.000.

Ammoniumatom enthalten. Das Vorhandensein der Pyridiniumgruppe mit ihrer konstant positiven Ladung erhöht die Effizienz der Ionisierung, was wiederum eine erhöhte Empfindlichkeit zur Folge hat, z. B. beim Nachweis von Peptiden.[8]

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bildung eines nicht kovalenten bisquaternären Ammonium-Trifluoracetat-Addukts in der Gasphase beschrieben, auch während eines MS/MS-Versuchs mit Überwachung durch den Shimadzu LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Das Modell der bisquaternären Ammoniumverbindung in Form von 2,2'-Disulfanediylobis(2,4,6-Triphenylpyridinium) ((TPP)2-CYSTAM) wurde durch die Reaktion zwischen 2,4,6-Triphenylpyryliumtetrafluorborat und Cystamin in Gegenwart von *N,N,N*-Triethylamin synthetisiert. Die synthetisierte Verbindung wurde mittels Umkehrphasen-HPLC aufgereinigt, wobei Trifluoressigsäure als Zusatz für die mobile Phase verwendet wurde. Die aufgereinigte Verbindung wurde dann mittels ESI-MS analysiert (Abbildung 1). Die Analyse mittels (TPP)2-CYSTAM-Massenspektrometrie im positiven Ionenmodus ergab das Vorhandensein des Signals bei m/z

367,139, was dem M^{2+} -Ion entspricht. Die Analyse mittels ESI-MS und ESI-MS/MS bestätigte den Erfolg der Synthese.

Außerdem offenbarte das ESI-MS-Spektrum (Abbildung 1) das Vorhandensein des Signals bei m/z 847,263 (M^{1+}). Das Isotopenmuster des Signals bei m/z 847,263 (M^{1+}) war nahezu identisch mit dem des Signals bei m/z 367,139 (M^{2+}). Eine detaillierte Analyse ergab, dass das Signal bei m/z 847,263 dem einfach positiv geladenen Ion entspricht, das zwei Schwefelatome enthält. Die Masse des gebildeten Ions war um 113 Da höher als die Masse der bisquaternären Ammoniumverbindung (M^{2+} -Ion), was charakteristisch für Trifluoracetat ist (112,986 Da). Wie bereits erwähnt, kann in der mobilen Phase verwendetes TFA zu Suppressionseffekten führen und die Signalintensität verringern.[5] Das (TPP)2-CYSTAM weist jedoch zwei positive Ladungen auf, wobei bei der Bildung des (TPP)2-CYSTAM-TFA-Addukts nur eine positive Ladung neutralisiert wird. Dies führt zur Bildung eines einfach geladenen nicht kovalenten Addukts, das in der Gasphase stabil ist. Zur Kontrolle der Stabilität des (TPP)2-CYSTAM-TFA-Addukts wurde eine ESI-MS/MS-Analyse durchgeführt (Abbildung 2). →

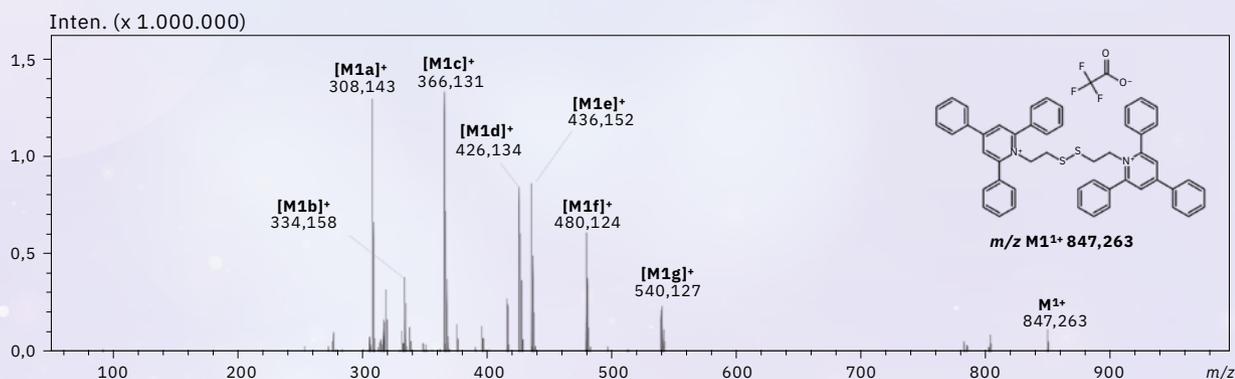


Abbildung 2 : ESI-MS/MS-Spektrum des (TPP)2-CYSTAM-TFA-Addukts im positiven Modus. Vorläuferion m/z 847,263, Kollisionsenergie 50 %, m/z -Bereich von 50 bis 1.000.

Fragmentierung des Vorläuferions

Generell weist das in der ESI-MS gebildete Addukt bei ESI-MSⁿ-Versuchen keine andere Fragmentierung als den Verlust von Kationen oder Anionen auf. Aus diesem Grund wurde eine Fragmentierung des Vorläuferions bei m/z 847,263 (M^{1+}) durchgeführt. Eines der charakteristischsten Fragmentionen war das $[M1a]^+$ -Ion bei m/z 308,143, was der protonierten Form von 2,4,6-Triphenylpyridin (TPP) entspricht. TPP ist ein allgemein bekanntes Reporterion, das bei der Fragmentierung TPP-modifizierter Peptide gebildet wird.[8] Neben dem $[M1a]^+$ -Ion wurden bei der Fragmentierung die Fragmentionen $[M1b]^+$, $[M1c]^+$, $[M1d]^+$ bei m/z 334,158, 366,131 und 426,134 gebildet, was für die Dissoziation der Fragmente der bisquaternären Ammoniumverbindung charakteristisch ist (Abbildungen 2).

Wenn das gebildete Addukt in der Gasphase stabil ist, sollte der Teil des Moleküls, der nach der Dissoziation mit einem positiv geladenen quaternären Stickstoffatom verbleibt, durch das Vorhandensein des Trifluoracetatanions neutralisiert werden. Das gewonnene Massenspektrum zeigt jedoch auch andere den Fragmentionen entsprechende Signale, deren Masse nicht auf den Verlust des TFA-Anteils hinweist. Eine detaillierte Analyse ergab, dass die Signale, die die Ionen bei m/z 436,152 $[M1e]^+$, 480,124 $[M1f]^+$ und 540,127 $[M1g]^+$ charakterisieren, von den TFA-Addukten mit einem einfach geladenen Stickstoffatom stammen.

Die Identifizierung von Signalen, die positiv geladene Ionen in Form von Trifluoracetataddukten charakterisieren, ist nicht einfach, da dafür entweder eine zusätzliche Ladungsbildung oder eine Reorganisation der chemischen Bindungen erforderlich wäre. Darüber hinaus sind die m/z -Werte der im gewonnenen ESI-MS/MS-Spektrum dargestellten Signale für die Fragmentionen, die den TFA-Addukten entsprechen, im Vergleich zur nicht kovalenten Form des TFA-Addukts um 1 Da verschoben, was auf das Auftreten einer Bindungsreorganisation hinweisen kann.

Grundlage für einen zukünftigen Anionensensor für Umweltproben

Die MS/MS-Analyse zeigte, dass elektrostatische Wechselwirkungen zwischen der bisquaternären Ammoniumverbindung und dem Trifluoracetatanteil in Gegenwart von Kollisionsenergie in kovalente Bindungen umgewandelt werden können. Das TFA-Anion bildet eine stabile N-O-Bindung mit dem bisquaternären Ammoniumkation (bestätigt durch Berechnungsmethoden auf der Grundlage von DFT), was die Stabilität des so entstehenden Addukts erhöht. Für die Umwandlung in ein kovalentes System sind eine Reorganisation der Bindungen und eine Ladungsretention am Stickstoffatom erforderlich. Dieses Phänomen ermöglicht die Beobachtung der Fragmentionen, die den TFA-Anteil enthalten. Die erwähnten Wechselwirkungen und das Potenzial für ihre Analyse in der Zukunft könnten zur Entwicklung eines Anionensensors führen, der zur Erkennung bestimmter anionischer Verbindungen in Umweltproben eingesetzt werden kann.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.



Das Forschungsprojekt wird (teilweise) durch das Programm „Exzellenzinitiative – Forschungsuniversität“ unterstützt, das von 2020 bis 2026 andauert.

Der Autor möchte Andrzej Reszka (Shim-Pol, Polen) für die Bereitstellung des Shimadzu LCMS-IT-TOF danken.

Blut spricht Bände

Eine neue Methode zur Blutentnahme und -analyse

Dr. Martin Meyer, Shimadzu Europa GmbH

Heutzutage kann eine Vielzahl von Krankheiten über die Analyse von Blutproben diagnostiziert werden. Diese oft sehr anspruchsvollen Methoden stellen hohe Anforderungen an die Probenvorbereitung. Gerade in ländlichen oder strukturschwachen Gebieten können diese hohen Anforderungen oft nicht erfüllt werden. Dann ist es wichtig, auch unter einfachsten Bedingungen Blutproben zu gewinnen, die im Labor zu aussagekräftigen und zuverlässigen Ergebnissen führen. Die Blutplasma-Entnahmekarten von Telimmune erfüllen diese Anforderungen.

Blutuntersuchungen werden durchgeführt, um ein breites Spektrum von gesundheitlichen Bedingungen zu diagnostizieren. Diese können wertvolle Informationen über die Funktion von Organen liefern, Infektionen nachweisen, genetische Störungen aufdecken, Hormonspiegel bestimmen und den allgemeinen Gesundheitszustand einer Person beurteilen helfen. →



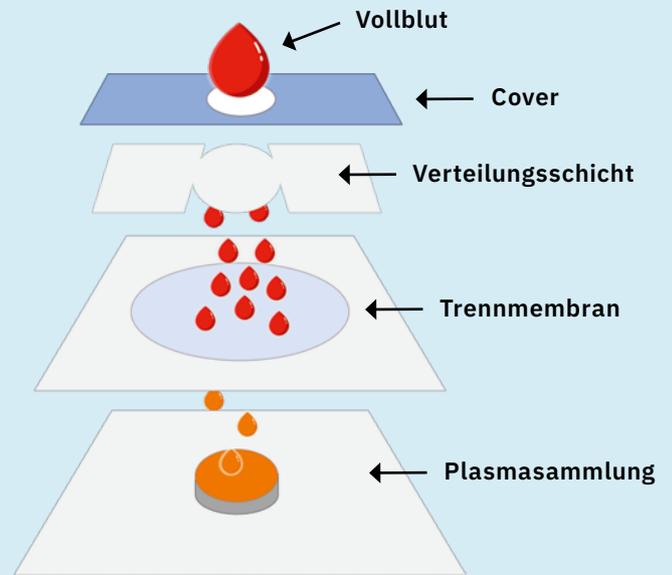


Abbildung 1: Trennung von Blutserum und Blutplasma mit Telimmune-Karten

Methoden zur Blutentnahme

Die Venenpunktion ist die am weitesten verbreitete Methode der Blutabnahme. Dabei wird eine Nadel in eine Vene, normalerweise am Arm, gestochen, um Blut zu entnehmen. Diese Technik wird bevorzugt für größere Blutmengen verwendet und ermöglicht die Durchführung einer Vielzahl von Tests mit einer einzigen Probe.

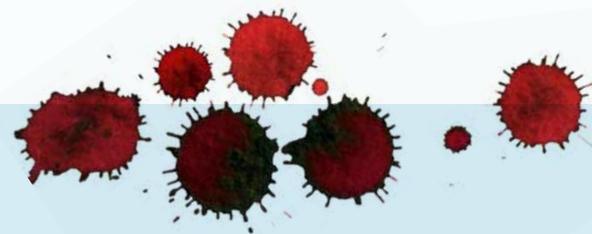
Die Fingerstichmethode, auch Kapillarblutentnahme genannt, ist eine weniger invasive Methode, die häufig für Untersuchungen am Behandlungsort verwendet wird. Mit einer Lanzette wird in die Fingerkuppe gestochen und ein kleiner Tropfen Blut entnommen. Diese Technik wird häufig zur Überwachung des Blutzuckerspiegels bei Diabetikern eingesetzt. Die Stechmethode ist schnell, bequem und benötigt nur eine geringe Menge Blut.

Im Gegensatz zu den oben genannten Methoden ist die Mikroblutentnahme eine relativ neue Technik, mit der sehr kleine Blutmengen, in der Regel weniger als 100 Mikroliter, entnommen werden können. Das Blut wird in Mikroröhrchen oder Mikrosammelkarten, auch Dried Blood Spot Cards oder kurz DBS-Karten genannt, gesammelt. Insbesondere die Trockenblutkarten bieten viele Vorteile, darunter mehr Komfort für den Patienten, weniger Schmerzen und die Möglichkeit, Blut auch an abgelegenen Orten zu entnehmen und zu

lagern. Dies ist möglich, da die Blutstropfen getrocknet werden und daher nicht bei niedrigen Temperaturen gelagert und transportiert werden müssen.

Dried Plasma Spot Cards

Die meisten klinischen Untersuchungen beginnen mit der Blutentnahme, für die eine ausgebildete Person (Phlebotomist) und in der Folge ein Labor zur Verarbeitung von Serum und Plasma erforderlich sind. Die Verwendung von getrockneten Blutstropfen vereinfacht das Verfahren, da diese beiden Anforderungen entfallen, aber auch diese Technik ist nicht frei von Mängeln (Tabelle 1). Zum Beispiel können die Zellen in getrockneten Blutstropfen metabolisieren und auf Gerinnungsfaktoren reagieren. Die von Telimmune entwickelten Dried Plasma Separation Cards (oder auch Dried Plasma Spot Cards, kurz: DPS-Karten) trennen das Plasma von abgebauten und ganzen Zellen, wodurch viele Probleme eliminiert werden (Abbildung 1). Außerdem sammeln sie nur eine bestimmte Menge an Plasma, unabhängig von Hämokrit und Viskosität. Das macht die Karten wertvoll für die Gewinnung von Blutproben unter einfachsten Bedingungen, die im Labor dennoch aussagekräftige Ergebnisse liefern. In Europa werden die Telimmune-Karten exklusiv von Shimadzu angeboten. Die Karten wurden bis zur Namensänderung im Jahr 2021 unter dem Namen Noviplex verkauft.



	Telimmune (DPS)	DBS-Karten	Vollblut-Mikroröhrchen	Intravenöses Blutröhrchen
Sammelmethode	Fingerstich oder Lanzette	Fingerstich oder Lanzette	Fingerstich oder Lanzette	Nadel
Blutvolumen	25–60 µl	Typisch ≥ 100 µl	≥ 5 µl	≈ 20.000 µl
Assay	Plasma	Getrocknetes Blut	Plasma oder Serum	Plasma oder Serum
Volumetrische Plasmasammlung	Ja, ≈ 3 µl pro Scheibe	X	X	Ja, aber variable Mengen
Lagerung und Transport	Raumtemp. trocken	Raumtemp. trocken	≤ 6 °C, flüssig	≤ 6 °C, flüssig
Proben vor Ort	✓	✓	Gering	X
Geringe Proben-vorbereitung	✓	X	X	X
Keine Biogefährdung	✓	✓	X	X
Hämatokrit unabhängig	✓	X	X	✓
Keine RBC-Interferenz	✓	X	✓	✓

grün = Produktvorteil rot = Produktnachteil gelb = neutral

Tabelle 1: Vergleich der DPS-Methode mit anderen Blutentnahmemethoden

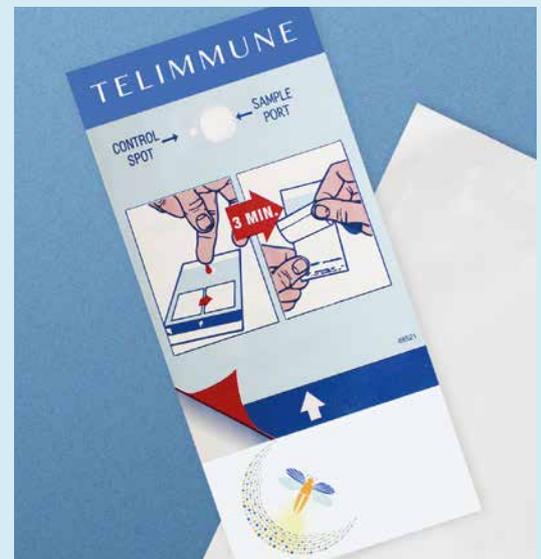


Abbildung 2: Telimmune-Karte Uno für das Sammeln eines Plasmaplättchens

Anwendungen

Der Anwendungsbereich der Proben, die aus den Telimmune-Karten gewonnen werden können, ist sehr breit: Sie wurden unter anderem für Tests bezüglich Ferritin, Helicobacter pylori (Gastritis), Vitamin D, HIV, genetischen Störungen, COVID-19, Homocystein, Sichelzellenanämie, Warfarin und IgG-Antikörpern verwendet.[2] Mit bereits veröffentlichten Methoden können mehr als 250 verschiedene Komponenten aus den Plasmakarten analysiert werden. Das Potenzial der detektierbaren Komponenten liegt jedoch bei über 2.000 Analyten.[1]

Durchführung

Die zuvor mit einem Alkoholtupfer gereinigte Stelle wird mit einer Stechhilfe punktiert. Zwei Tropfen Blut werden hängend auf die auf der Karte markierte Stelle aufgetragen (Abbildung 2). Nach 3 Minuten wird die oberste Schicht der Karte abgezogen. Die darunter liegende Entnahmescheibe wird 15 Minuten bei Raumtemperatur an der Luft getrocknet. Anschließend oder nach der Lagerung kann der Plasma-Spot von der Karte abgenommen und zur Extraktion in ein Vial überführt werden.

Analytik

Für die Analyse des Plasmas stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Zu den zugelassenen Techniken gehören ELISA, PCR, QPCR, Enzymatik, Chromatographie, Massenspektrometrie und Kolorimetrie. Es gibt bereits eine Vielzahl von Methoden, bei denen die Telimmune-Karten mit der Analyse auf Shimadzu Flüssigchromatographen und Massenspektrometern (LC-MS) kombiniert werden. Unter anderem gibt es Anwendungen für die Analyse von Pestiziden, Protein-Biomarkern, Warfarin, Immunglobulinen, Steroiden sowie für die Kontrolle und Überwachung von therapeutischen Drogen. Weiterhin haben die Plasmasammelplatten einen Durchmesser von 6,4 mm. Dies erlaubt eine optimale Passform für die Verwendung von 96-Well-Platten mit flachem Boden, wodurch eine automatisierte Probenvorbereitung mit einem Autosampler erleichtert wird.

Bequeme Methode mit Vorteilen

Insgesamt bietet die Blutentnahme mit Plasma-Sammelkarten von Telimmune eine bequeme und minimalinvasive Methode der Blutentnahme, -lagerung und -analyse, die in verschiedenen klinischen und Forschungsbereichen von Vorteil ist.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.



Massenspektrome- trischer Nachweis von Alzheimer- Biomarkern im Blut

Mit nur wenigen Tropfen Blut –
der erste erfolgreiche Nachweis
von Plasma-A β mittels
Massenspektrometrie

Dr. Naoki Kaneko, Shimadzu Corporation



Eine Akkumulation von Amyloid β ($A\beta$) im Gehirn gilt als erstes Anzeichen für die Pathologie der Alzheimer-Krankheit. Neu entwickelte krankheitsmodifizierende Therapien richten sich an Patienten im Frühstadium der Alzheimer-Krankheit. Daher werden Biomarker im Blut für den Nachweis der $A\beta$ -Akkumulation benötigt. Durch die Kombination von Immunpräzipitation (IP) und Massenspektrometrie (MS) haben wir eine IP-MS-Methode entwickelt, die erstmals den erfolgreichen Nachweis von Plasma- $A\beta$ mittels Massenspektrometrie ermöglichte. Die Anwendung dieser Methode ergab eine hohe Konkordanz zwischen einem zusammengesetzten Biomarker aus zwei Plasma- $A\beta$ -Verhältnissen und dem Amyloid-PET-Status. Angesichts der zunehmenden Fortschritte im Bereich der krankheitsmodifizierenden Therapien gewinnen blutbasierte Biomarker zunehmend an Bedeutung, da sie eine Schlüsselrolle bei der Voruntersuchung von Patienten, der Überwachung der Arzneimittelwirkungen und der Diagnose spielen.

Plasma-Amyloid- β -Biomarker-Assay – ein Frühwarnsystem für die Diagnose von Alzheimer

Eine Akkumulation von Amyloid β ($A\beta$) im Gehirn gilt als erstes Anzeichen im Kontinuum der pathologischen Veränderungen der Alzheimer-Krankheit und setzt 20 bis 30 Jahre vor dem Auftreten der Symptome ein (Abbildung 1).[1] Daher spielt ein Biomarker, der die Pathologie der Erkrankung widerspiegelt, eine Schlüsselrolle bei der Frühdiagnose der Alzheimer-Krankheit. Bisher wurden als Nachweismethoden für $A\beta$ -Biomarker die Amyloid-Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und der Immunoassay für $A\beta_{1-42}$ und $A\beta_{1-42/1-40}$ im Liquor eingesetzt.

Allerdings sind für die Amyloid-PET eine umfangreiche PET-Ausrüstung und ein hoher Kostenaufwand erforderlich, wobei die Entnahme von Liquor- $A\beta$ durchaus invasiv ist. Daher bestand ein Bedarf an einem blutbasierten Biomarker, der sich leicht messen lässt. Im Laufe der vergangenen Jahre zeigte sich der klinische Nutzen von Plasmabiomarkern mit den bedeutenden technologischen Fortschritten bei der Messung von Plasmabiomarkern. Zu den wichtigsten Technologien zur Messung von Plasma- $A\beta$ gehören die Immunpräzipitation in Kombination mit Massenspektrometrie (IP-MS) und einem Sandwich-Immunoassay mit zwei Arten von Antikörpern. In einer direkten Vergleichsstudie von Plasma- $A\beta$ -Tests wurde eine höhere Genauigkeit der IP-MS als des Immunoassays festgestellt.[2, 3, 4]

Im folgenden Abschnitt werden die Amyloid-MS-Technik unter Verwendung der IP-MS-Methode mit matrix-assistierter Laser-Desorption-Ionisierungs-Flugzeitmassenspektrometrie (MALDI-TOF-MS) und die hohe Leistungsfähigkeit von Plasma- $A\beta$ -Biomarkern in klinischen Studien beleuchtet.



Klinisches Stadium der Erkrankung

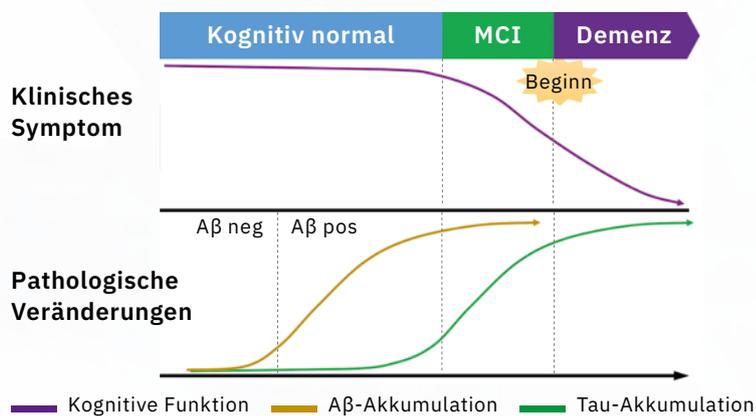


Abbildung 1: Modell der Alzheimer-Progression (engl. MCI, leichte kognitive Beeinträchtigung)

Amyloid-Massenspektrometrie: IP-MS-Methode unter Verwendung eines MALDI-TOF-Massenspektrometers

Immunassays werden seit 1996 in der Forschung zu A β -Biomarkern im Plasma eingesetzt. Zahlreiche Studien zu Plasma-A β als Biomarker lieferten jedoch widersprüchliche Ergebnisse über den Status von Plasma-A β aufgrund seiner analytischen Komplexität, weshalb sein Nutzen viele Jahre lang mit Skepsis betrachtet wurde.[5] Mittels Massenspektrometrie lassen sich verschiedene Peptide nachweisen, die mit hoher Empfindlichkeit ihrer Masse entsprechend getrennt werden. Auf diese Weise können mit der Massenspektrometrie sogar ähnliche Peptide wie A β 1-38, A β 1-40, A β 1-42 usw. genau und gleichzeitig nachgewiesen werden.

Durch die Einführung eines auf Antikörpern basierenden Schrittes der Immunpräzipitation (IP) in die Probenvorbereitung gelang ein entscheidender Durchbruch: die selektive Abtrennung und Aufkonzentrierung von A β . Eine IP-MS-Methode zum Nachweis von A β wurde bereits 1996 beschrieben, mit der A β in Proben von Zellkulturüberständen und Liquor leicht nachgewiesen werden konnte.[6] Allerdings weist Blut viel mehr Verunreinigungen und niedrigere A β -Konzentrationen auf als Zellkulturüberstände und Liquor, sodass der Nachweis von A β in Blut mit IP-MS nicht möglich war.

Erster Nachweis von A β 1-42 und A β 1-40 in menschlichem Plasma durch Optimierung der Bedingungen für die IP

Dank der bei der IP eingesetzten optimierten Bedingungen konnten diese Probleme überwunden werden. Nach der Analyse der Vorbereitung der antikörperbeschichteten Beads, der Tenside und der Eluatzusammensetzungen während der IP wurde eine Zusammensetzung für die Matrixlösung ausgewählt, die sich für die Proben nach der IP eignete, um eine IP-MS-Methode für die Analyse von Plasma-A β mittels MALDI-TOF-MS (AXIMA Performance) zu entwickeln (Abbildung 2).

Dieses Verfahren führte zum ersten erfolgreichen Nachweis von endogenem A β 1-42 und A β 1-40 in menschlichem Plasma mittels Massenspektrometrie und gleichzeitig zu weiteren

Erkenntnissen, die nur mithilfe der Massenspektrometrie gewonnen werden konnten.[7, 8] Insbesondere enthüllte die Massenspektrometrie das Vorhandensein vieler anderer A β -Spezies als A β 1-42 und A β 1-40 im menschlichen Plasma, einschließlich APP669-711 mit einem über A β 1-x hinaus verlängerten N-Terminus (Abbildung 3). Bei diesem IP-MS-Ver-

fahren unter Verwendung von MALDI-TOF-MS wird die A β -Spezies nach der IP ohne Proteaseverdau direkt auf das MALDI-TOF-MS aufgetragen. So lässt sich die Zeit für die Probenvorbereitung einsparen und die im Plasma vorhandenen intakten A β -Spezies können gemessen werden. →

Amyloid- β -Sequenz (A β)

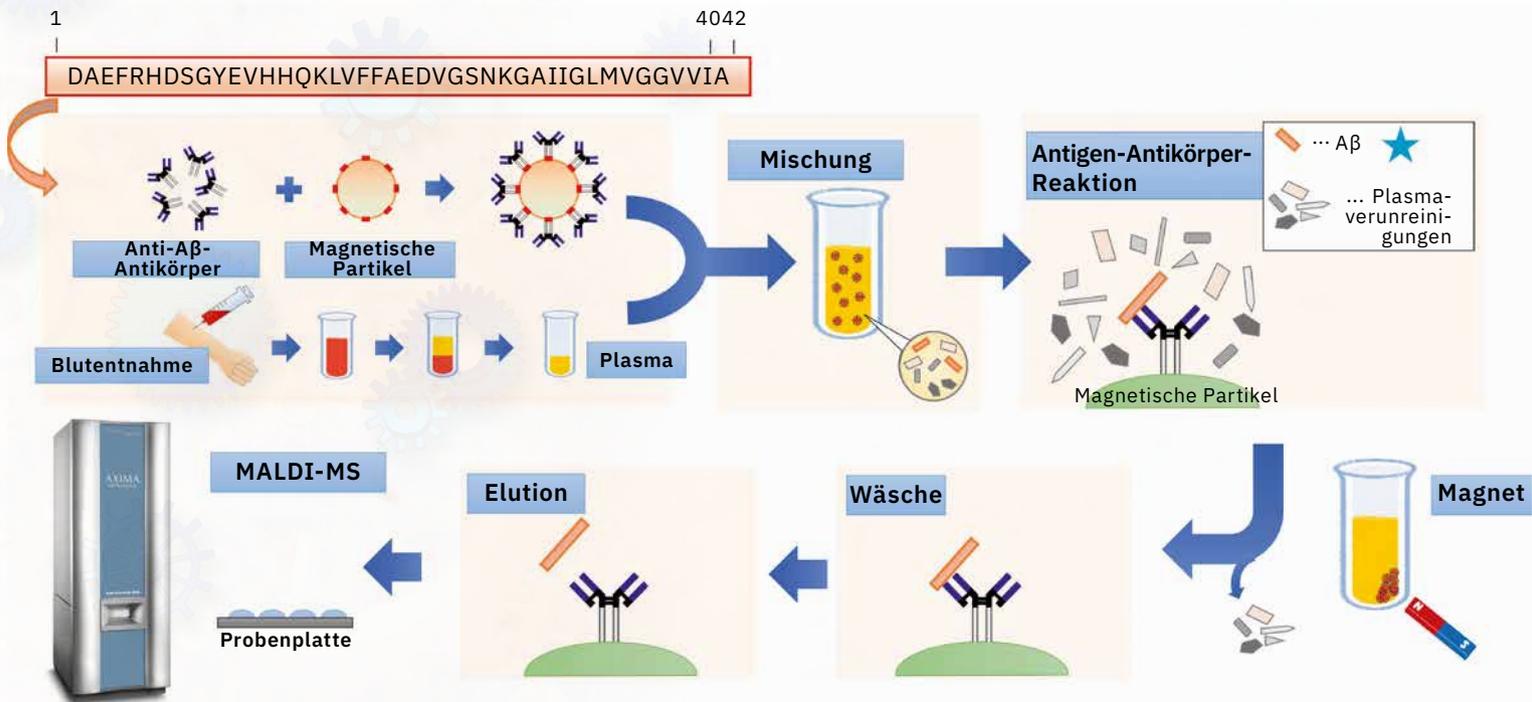


Abbildung 2: Amyloid-Massenspektrometrie: IP-MS-Methode für A β -Peptide aus Plasma

Amyloid-Precursor-Protein (APP)

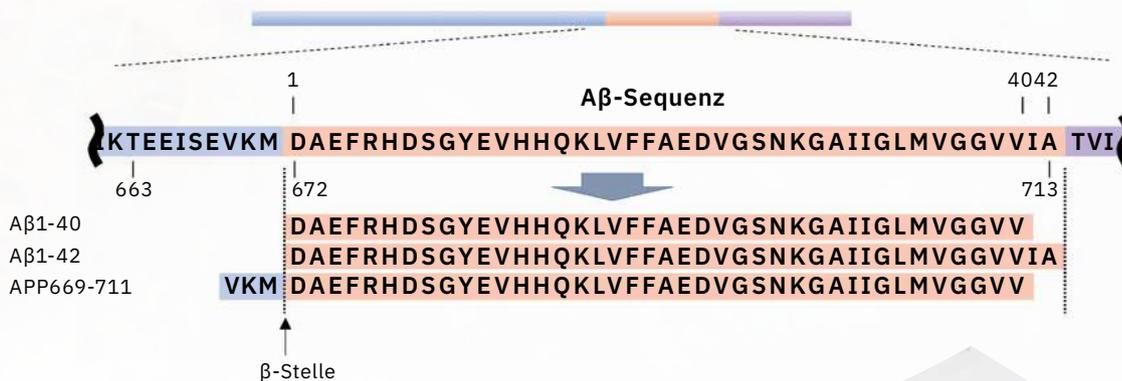
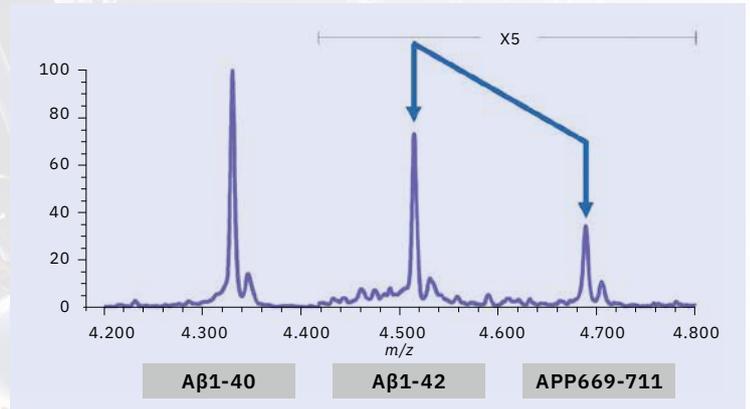


Abbildung 3: Mittels IP-MS nachgewiesene A β -Peptide im Plasma

Amyloid-PET-negativ (kognitiv normal)



Amyloid-PET-positiv

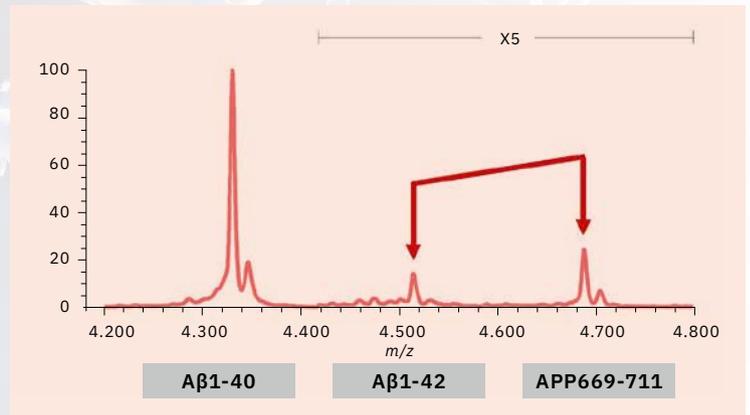


Abbildung 4: Unterschiedliche Aβ-Peaks im Plasma bei MALDI-TOF-Massenspektren zwischen Amyloid-PET-positiven und Amyloid-PET-negativen Fällen

Biomarker	Bewertung	NCGG (n = 121)	AIBL (n = 111)
Aβ1-42	AUC	87,2 %	75,7 %
	Empfindlichkeit	74,0 %	78,3 %
	Spezifität	88,7 %	66,7 %
	Genauigkeit	82,6 %	73,0 %
APP669-711/Aβ1-42	AUC	92,3 %	89,5 %
	Empfindlichkeit	68,0 %	86,7 %
	Spezifität	91,5 %	74,5 %
	Genauigkeit	81,8 %	81,8 %
Aβ1-40/Aβ1-42	AUC	96,7 %	88,9 %
	Empfindlichkeit	96,0 %	90,0 %
	Spezifität	87,3 %	70,6 %
	Genauigkeit	90,9 %	81,1 %
Zusammengesetzter Biomarker	AUC	96,7 %	94,1 %
	Empfindlichkeit	86,0 %	91,7 %
	Spezifität	88,7 %	82,4 %
	Genauigkeit	87,6 %	87,4 %

Tabelle 1: Leistung von Aβ-Biomarkern im Plasma

Umfassende blutbasierte Biomarkerstudien

Die Forschung nach einem A β -Biomarker mittels IP-MS begann 2013 in Zusammenarbeit mit dem japanischen National Center for Geriatrics and Gerontology. Im Rahmen dieser Biomarkerfindungsstudie unter Einsatz von IP-MS und Amyloid-PET-Bildgebung mit PIB (62 Fälle) wurde ein höheres Verhältnis von APP669-711 zu A β 1-42 (APP669-711/A β 1-42) im Plasma von Amyloid-PET-positiven Patienten nachgewiesen (Abbildung 4).[9] Die ROC-Analyse des APP669-711-/A β 1-42-Verhältnisses für Amyloid-PET-positive Patienten ergab zudem einen hohen Wert der Fläche unter der Kurve (AUC) von 96,9 %. Das APP669-711-/A β 1-42-Verhältnis war außerdem signifikant mit dem SUVR der Amyloid-PET korreliert, mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,687 ($p < 0,001$). Ausgehend von diesen Daten wurde 2014 erstmals über eine hohe Übereinstimmung zwischen dem APP669-711-/A β 1-42-Verhältnis im Plasma und der Amyloid-PET berichtet.

Unter Verwendung von zwei Datensätzen des japanischen National Center for Geriatrics and Gerontology und der Australian Imaging, Biomarker & Lifestyle Flagship Study of Aging (AIBL) wurde eine Validierungsstudie durchgeführt. Die ROC-Analyse des APP669-711-/A β 1-42-Verhältnisses für Amyloid-PET-positive Fälle (unter Verwendung des PIB-Tracers) ergab einen hohen AUC-Wert von 92,3 % im japanischen Datensatz (121 Fälle) und von 89,5 % im australischen Datensatz (111 Fälle) (Tabelle 1).[10] Ein zusammengesetzter Biomarker, der durch die Kombination des APP669-711-/A β 1-42-Verhältnisses und des A β 1-40-/A β 1-42-Verhältnisses (eines bekannten Biomarkers) gebildet wurde, verbesserte die AUC-Werte außerdem auf 96,7 % im japanischen Datensatz und auf 94,1 % im australischen Datensatz. Die Konzentration von A β 1-42 im Liquor nimmt bekanntermaßen ab, wenn sich A β im Gehirn ansammelt, ein Phänomen, das auch anhand der Daten zu erkennen war, mit reduzierten Plasmaspiegeln von A β 1-42 bei Amyloid-PET-positiven Fällen. Diese Veränderung von A β 1-42 kann dadurch verursacht werden, dass A β 1-42 im Gehirn zurückgehalten wird, wodurch die Menge an A β 1-42, die in die Körperflüssigkeiten gelangen kann, sinkt.

Dieser 2018 veröffentlichte Bericht belegte eine hohe Übereinstimmung zwischen dem mittels IP-MS gemessenen Plasma-A β und der Amyloid-PET und diente als Impulsgeber für die Anerkennung von Blut-A β als nützlichem Biomarker durch Forscher weltweit.

Entdeckung von Alzheimer-Medikamenten durch weniger invasive Biomarker, die die Pathologie von Alzheimer widerspiegeln

Mit der Amyloid-MS-Technik können sowohl das einzigartige APP669-711-/A β 1-42-Verhältnis als auch das A β 1-40-/A β 1-42-Verhältnis im Plasma gemessen werden. Der zusammengesetzte A β -Biomarker, der durch die Kombination der beiden A β -Verhältnisse geschaffen wurde, wies eine hohe Genauigkeit bei der Unterscheidung von Amyloid-PET-positiven Fällen von Amyloid-PET-negativen Fällen auf. Biomarker, die die Pathologie der Alzheimer-Krankheit widerspiegeln, sind für die Entdeckung von Medikamenten, die Diagnose und die Stadieneinteilung bei Alzheimer entscheidend. Blutbasierte Biomarker, die eine weniger invasive Methode zur Messung einer großen Anzahl von Proben bieten, gewinnen zunehmend an Bedeutung.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.





Wenig Kohlenstoff, große Wirkung: Bioabfälle optimal nutzen

Herstellung nützlicher Materialien aus
Bioabfällen mittels Pyrolyse

Dr. Daniel Nowakowski, Aston University, Energy and Bioproducts Research Institute

Die Pyrolyse von Bioabfällen könnte eine kohlenstoffärmere und nachhaltigere Methode zur Herstellung von Chemikalien bieten, die gegenwärtig aus Petrochemikalien hergestellt werden. Doch wie lässt sich angesichts der Vielfalt der Bioabfälle die bestmögliche Nutzung einer bestimmten Ressource bestimmen? Wir haben mit Dr. Daniel Nowakowski vom Energy and Bioproducts Research Institute (EBRI) der Aston University über die Herausforderungen bei der thermischen Verarbeitung von Bioabfällen gesprochen – und darüber, wie er und sein Team durch die Zusammenarbeit mit Shimadzu das Potenzial verschiedener Ausgangsstoffe optimal ausschöpfen können.



Die vielfältige Zusammensetzung von Bioabfällen

Bioabfälle werden schon lange in Form von Kompost zur Aufbereitung oder Düngung von Böden oder zur Wärmegewinnung durch Verbrennung verwendet. Es setzte sich jedoch zunehmend die Erkenntnis durch, dass aus Bioabfällen auch nützliche Chemikalien gewonnen werden können, wenn sie bei der sogenannten Pyrolyse unter Luftausschluss hohen Temperaturen ausgesetzt werden.

Diese Erzeugnisse können sehr vielfältig sein, so Dr. Daniel Nowakowski, ein Experte für Pyrolyse an der Aston University in Großbritannien: „Durch die kontrollierte Erhitzung von Bioabfällen können wir feste, flüssige und gasförmige Stoffe mit vielen nützlichen Anwendungsmöglichkeiten erzeugen.“ →



Abbildung 1: Adam Elaradi (Studentischer wissenschaftlicher Mitarbeiter) und Dr. Sarah Asplin (Postdoktorale wissenschaftliche Mitarbeiterin) betreiben das Zwischenpyrolysesystem für den Laborbereich am EBRI. Das System fasst bis zu 300 g/h Biomasse und weist eine maximale Verarbeitungstemperatur von 600 °C auf.

Analyse der Ausgangsmaterialien zur Erzielung des größtmöglichen Nutzens

Als Dozent für Chemieingenieurwesen und Angewandte Chemie am Aston Energy and Bioproducts Research Institute (EBRI) kennt Dr. Nowakowski die Arten von Bioabfallquellen und die Verwendungsmöglichkeiten der daraus entstehenden Erzeugnisse ganz genau – von der Kohlenstoffspeicherung im Boden bis hin zu umweltfreundlichen Kraftstoffen.

Dieses Wissen kommt jeden Tag zum Einsatz, nicht nur in der Grundlagenforschung des Teams, sondern auch in der Projektarbeit für Behörden, Organisationen und Unternehmen, die mehr aus ihren Bioabfällen herausholen möchten. Wenn dem Team eine Bioabfallprobe zur Analyse übergeben wird, stellt es sich eine Frage: „Wie lässt sich das Pyrolyseverfahren anpassen, um Erzeugnisse mit größtmöglichem Wert oder Nutzen zu gewinnen?“

Pyrolyse – Verfahren und Erzeugnisse

Bevor man tiefer in die Thematik eintaucht, muss man zunächst verstehen, worum es sich bei der Pyrolyse handelt. Bei der Pyrolyse, auch bekannt als „Wärmebehandlung“, wird die Temperatur eines Materials in einem Reaktor unter Ausschluss von Sauerstoff auf 400–600 °C erhöht. Das Material muss verhältnismäßig trocken sein, in der Regel mit einem Wasseranteil von weniger als 20 %, um die Energieeffizienz nicht zu beeinträchtigen und keine Phasentrennung der Pyrolyseflüssigkeiten zu verursachen.

„Dies kommt dem traditionellen Verfahren zur Herstellung von Holzkohle sehr nahe“, so Dr. Nowakowski. „Allerdings mit einer viel besseren Kontrolle über die Bedingungen.“ Er fügt hinzu, dass außerdem nichts verschwendet wird: „Anders als bei der herkömmlichen Holzkohleherstellung sind wir nicht nur an den festen Stoffen interessiert, die zurückbleiben. Wir fangen auch alle Dämpfe und Gase auf, die entstehen, um sie ebenfalls zu verwerten“, erklärt er.

Aus dem Pyrolyseprozess entstehen drei Kategorien von Materialien:

- **Pflanzenkohle** ist eine hochgradig poröse Form von Kohlenstoff und liegt in der Regel als schwarzes Pulver vor. Sie ist in erster Linie als Bodenaufbereitungsmittel von Interesse, das Kohlenstoff über einen längeren Zeitraum im Boden speichern kann, ein Prozess, der als Kohlenstoffabscheidung und -bindung (Carbon Sequestration and Storage, CCS) bekannt ist.
- **Bioflüssigkeiten** enthalten eine komplexe Mischung aus Karbonsäuren, Phenolen, Estern, Ketonen, Anhydriden, Ethern und sauerstoffhaltigen Heterozyklen. Bei der Pyrolyse werden sie verdampft, kondensieren dann aber zu Flüssigkeiten. Die mit Wasser mischbaren Fraktionen werden aufgrund ihres Säuregehalts auch als „Holzessig“ bezeichnet, der als Fungizid und Pflanzenwachsmittel gefragt ist.
- **Pyrolysegas** enthält Methan, Ethan und andere Kohlenwasserstoffe bis zu C5, Wasserstoff, Kohlenmonoxid und Spuren von Kohlendioxid. Gasförmige Kohlenwasserstoffe können als Brennstoff für den Pyrolysereaktor verwendet werden, während aus Wasserstoff und Kohlenmonoxid („Synthesegas“) durch weitere Syntheseprozesse Ammoniak oder Methanol hergestellt werden.

Anpassung des Pyrolyseverfahrens

Die produzierten Mengen an Pflanzenkohle, Bioflüssigkeiten und Biogasen variieren stark, je nach Gehalt an flüchtigen Bestandteilen des Ausgangsmaterials und den Verarbeitungsbedingungen, erklärt **Dr. Sarah Asplin**, eine wissenschaftliche Mitarbeiterin am EBRI, die auf ihr Wissen und ihre Fähigkeiten aus ihrer Promotion auf dem Gebiet der Pyrolyse von Biomasse zurückgreift. Sie erläutert, dass durch die langsame Pyrolyse von Biomasse bei relativ niedriger Temperatur in einem Chargenreaktor bis zu 50 % Pflanzenkohle und jeweils 25 % Bioflüssigkeit und Biogas gewonnen werden können. Im Gegensatz dazu könnten durch eine schnelle Hochtemperaturpyrolyse von hochwertigen Holzspänen in einem Wirbelschichtreaktor bis zu 75 % Bioflüssigkeit produziert werden, während der Rest größtenteils aus Gasen und sehr wenig Pflanzenkohle besteht.

Gemeinsam mit der Qualität der Ausgangsmaterialien fließen all diese Faktoren in die Entscheidung ein, was mit einem bestimmten Material zu tun ist, so Dr. Asplin: „Beispielsweise eignen sich reine Ausgangsmaterialien, insbesondere ligninreiche Stoffe, in der Regel am besten für die Herstellung von Pflanzenkohle, da die Verunreinigungen in den Endprodukten gering sind, wohingegen minderwertige Ausgangsmaterialien besser für die Herstellung von Bioflüssigkeit oder Biogas geeignet sind, da die Aufbereitung durch Flüssig-Flüssig-Extraktion, Destillation oder anschließende Weiterverarbeitung ein notwendiger Bestandteil der Produktion ist.“

Schnelle Erstanalyse – Kombination der richtigen Methoden

Um das Potenzial von Biomasse und anderen organischen Abfällen richtig beurteilen zu können, sei eine gründliche Analyse ihrer chemischen Zusammensetzung erforderlich, so Dr. Nowakowski: „Mit der Anwendung nur einer einzigen Analyse-methode ist es nicht getan!“

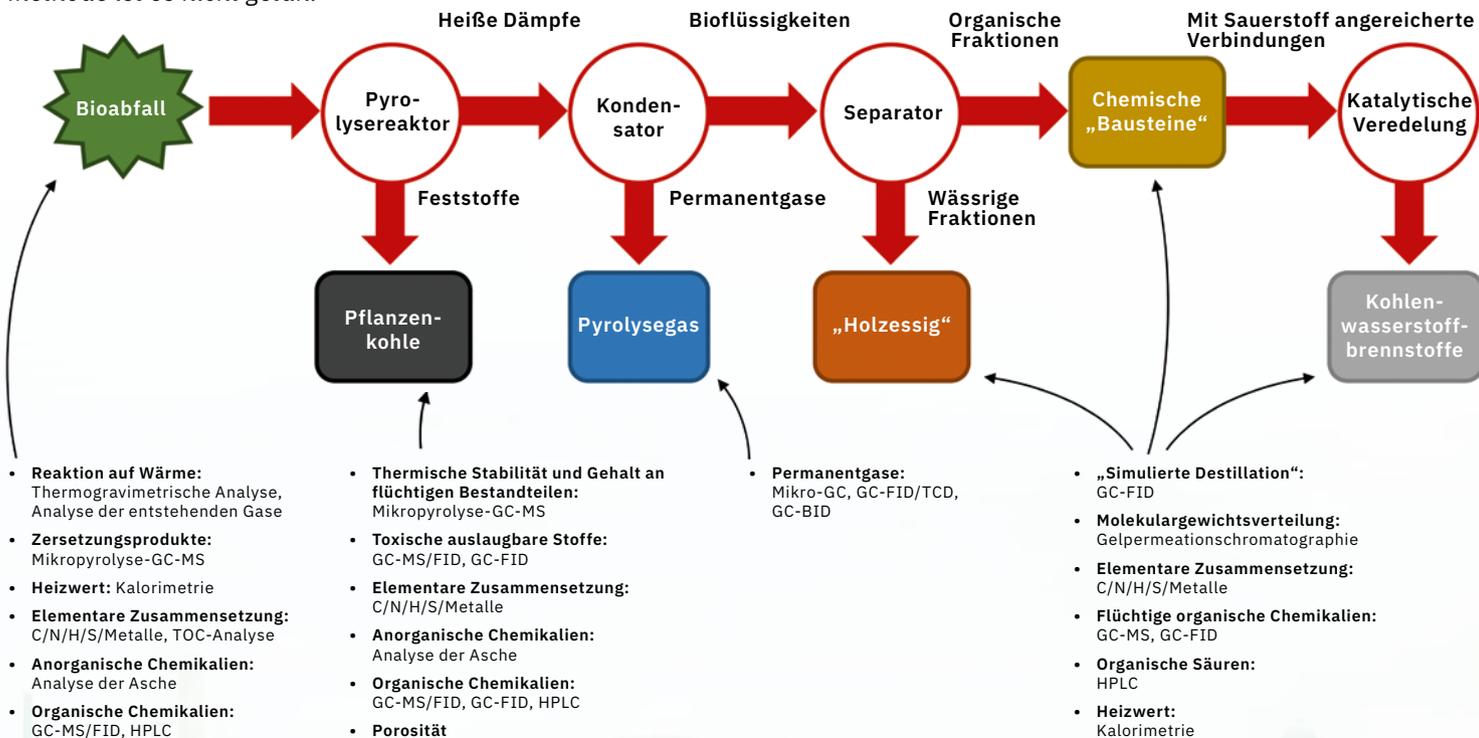


Abbildung 2: Im Schaubild des analytischen Ablaufs der Pyrolyse von Bioabfall am EBRI sind die wichtigsten Phasen (Kreise) und Erzeugnisse (Rechtecke) sowie die in jeder Phase verwendeten analytischen Verfahren dargestellt

Einer der ersten Schritte bei der Erforschung des Potenzials eines neuen Materials, erklärt er, sei die Durchführung einer Analyse zur **thermischen Zersetzung**. Dabei wird eine kleine Menge (etwa 10 mg) in einem thermogravimetrischen Analysengerät auf etwa 750 °C erhitzt und beobachtet, wie sich die Masse bei steigender Temperatur verändert. So erhalten die Forscher einen ersten Eindruck vom Gehalt an flüchtigen Bestandteilen und festen Rückständen.

Weitere Informationen über die Erzeugnisse aus der thermischen Zersetzung werden dann mittels **Mikropyrolyse-GC-MS** gewonnen. Dabei handelt es sich im Wesentlichen um eine Miniaturausführung der vollwertigen Pyrolyseaus-rüstung mit einem GCMS am Auslass, der für die Analyse der Dampfphasenerzeugnisse konfiguriert ist.

Der Vorteil dieses Systems liegt laut Dr. Nowakowski in seiner Schnelligkeit. „In nur einer Stunde können wir die Vorbereitung und Analyse einer Testprobe abschließen und →



Abbildung 3: Anitta Xavier (Studentin im Forschungspraktikum) injiziert eine Biomasseprobe in ein Mikropyrolysegerät von Frontier Lab zur direkten Übertragung an das GCMS-QP2010 SE System

eine Vorstellung von den Dämpfen erhalten, die aus dem Ausgangsmaterial gewonnen werden können“, erklärt er. Unter Verwendung eines internen Standards können die Mengen bestimmter Produkte quantifiziert und eine vorläufige Bewertung der Ausbeute an Erzeugnissen vorgenommen werden, fügt er hinzu.

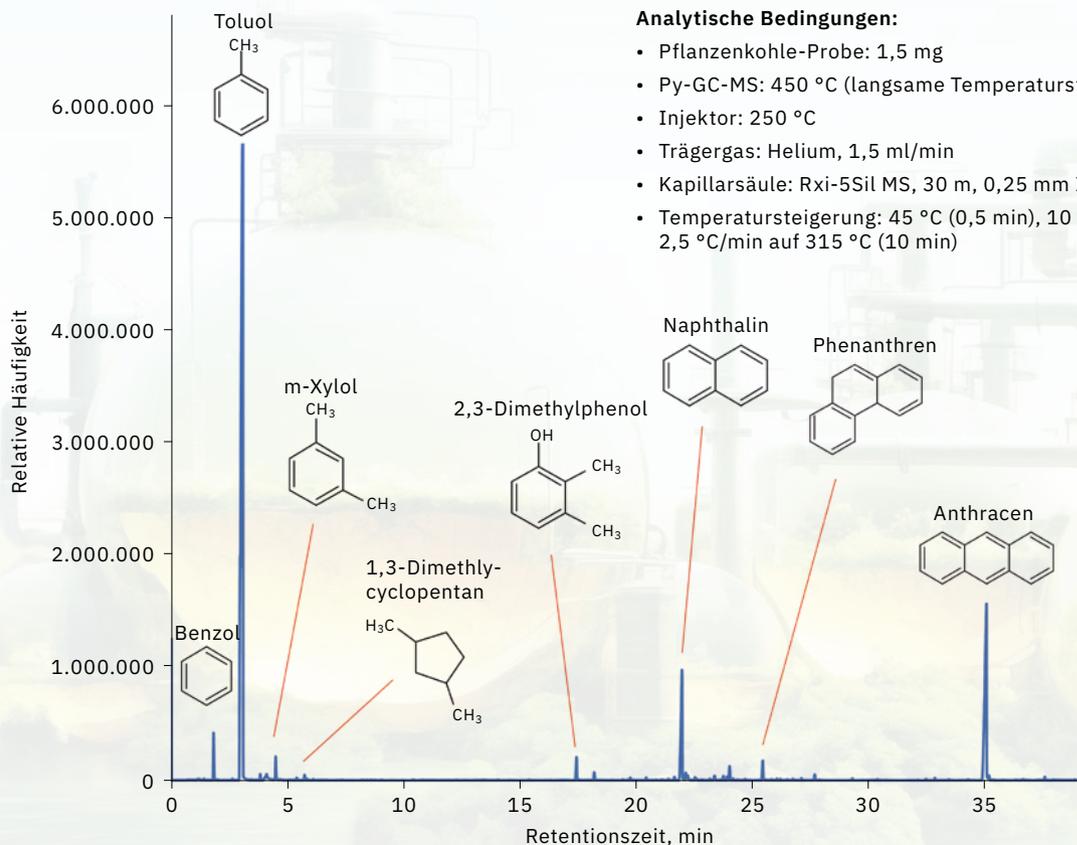
Die nächsten Schritte hängen vom Ergebnis dieser ersten Erprobung ab, so Dr. Nowakowski, wobei häufig eine **Elementaranalyse** oder eine **TOC-Analyse** durchgeführt wird, um den in der Probe vorhandenen „gesamten organischen Kohlenstoff“ zu ermitteln. Eine an dieser Stelle ebenfalls nützliche Methode ist die **Kalorimetrie** zur Bestimmung des Heizwerts.

Pflanzkohle zur Aufbereitung von Böden und als Polymerzusatz

Ein Projekt mit eindeutigen praktischen Auswirkungen ist eine Zusammenarbeit mit dem Stadtrat von Birmingham. Dabei geht es um die Herstellung eines Mittels zur Bodenaufbereitung auf Basis von Pflanzkohle aus der großen Menge an Baum- und Strauchschnitt, die die Stadtverwaltung aus den

von ihr unterhaltenen Parks und Gärten gewinnt. Im Rahmen des Projekts „Urban Biochar and Sustainable Materials Demonstrator“ (Vorzeigeprojekt für städtische Pflanzenkohle und nachhaltige Materialien) wird das Schnittgut zur städtischen Baumschule Cofton Nursery in Longbridge (Birmingham, Großbritannien) gebracht und zunächst gesiebt, um Blätter und anderes kompostierbares Material zu entfernen. Größeres, holziges Material wird zerkleinert und vor Ort in einer in einem Frachtcontainer installierten Anlage pyrolysiert, wodurch Pflanzenkohle entsteht. Diese wird in verschiedenen regionalen Projekten eingesetzt, um die Bodenstruktur zu verbessern und das Pflanzenwachstum zu fördern. Gleichzeitig wird der Kohlenstoff in einer Form gebunden, die nicht leicht biologisch abbaubar ist und somit als Kohlenstoffspeicher fungiert.

Ein weiterer Einsatzbereich von Pflanzkohle, den das Team von Dr. Nowakowski erforscht, ist die Verwendung als **Füllstoff in kunststoffbasierten Verbundwerkstoffen**, die (zum Beispiel) beim 3D-Druck verwendet werden. Das ist deshalb wichtig, weil Pflanzkohle, wie er erklärt, nicht immer zu 100 % aus Kohlenstoff besteht: „Je nach Ausgangsmaterial



Analytische Bedingungen:

- Pflanzkohle-Probe: 1,5 mg
- Py-GC-MS: 450 °C (langsame Temperatursteigerung)
- Injektor: 250 °C
- Trägergas: Helium, 1,5 ml/min
- Kapillarsäule: Rxi-5Sil MS, 30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm
- Temperatursteigerung: 45 °C (0,5 min), 10 °C/min auf 265 °C, 2,5 °C/min auf 315 °C (10 min)

Abbildung 4: Ein charakteristisches Beispiel für die Ergebnisse der GC-MS-Analyse einer Pflanzkohleprobe zur Beurteilung ihrer Reinheit. In diesem Fall wären die hervorgehobenen Verbindungen aufgrund ihrer bekannten Toxizität im Enderzeugnis unerwünscht. Am EBRI wird daran geforscht, welche Pyrolysebedingungen zu diesen Verunreinigungen führen und wie sie minimiert werden können. Für die Analyse wurde ein Frontier Lab EGA/PY-3030 Multi-Shot-Pyrolyzer in Verbindung mit einem GCMS-QP2010 SE System verwendet.



und Verfahrensbedingungen können sich in der Pflanzenkohle kalte Stellen bilden, an denen kleine Mengen schwerflüchtiger Verbindungen wie polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, die giftig sind, eingeschlossen werden können. Im Normalfall würden diese in der Pflanzenkohle gebunden bleiben. Beim Einsatz als Füllstoff in Kunststoffen, die dann bei der Verarbeitung erhitzt werden, könnten diese Chemikalien jedoch freigesetzt werden und ein Sicherheitsrisiko darstellen.“

Zur Untersuchung dieses Effekts verwenden die Forscher eine „Pyroprobe“, um die thermische Stabilität kleiner Proben von mit Pflanzenkohle modifizierten Kunststoffpellets zu beurteilen und sicherzugehen, dass das Produkt zu diesem Zweck gefahrlos eingesetzt werden kann.

Ein charakteristisches Beispiel für die Ergebnisse der GC-MS-Analyse einer Pflanzenkohleprobe zur Beurteilung ihrer Reinheit. In diesem Fall wären die hervorgehobenen Verbindungen aufgrund ihrer bekannten Toxizität im Enderzeugnis unerwünscht. Am EBRI wird daran geforscht, welche Pyrolysebedingungen zu diesen Verunreinigungen führen und wie sie minimiert werden können. Für die Analyse wurde ein Frontier Lab EGA/PY-3030 Multi-Shot-Pyrolyzer in Verbindung mit einem GCMS-QP2010 SE System verwendet.

Bioflüssigkeiten als Kraftstoffzusätze und Pilzbekämpfungsmittel

Auch Bioflüssigkeiten seien ein vielversprechendes Forschungsgebiet, sagt Dr. Chris Thomas, Knowledge Exchange Associate am EBRI und ebenfalls ehemaliger Doktorand unter Dr. Nowakowski. „Von besonderem Interesse ist derzeit die sogenannte ‚katalytische Veredelung‘ von Pyrolyseflüssigkeiten. Dabei wird das nicht mit Wasser mischbare Rohpyrolyseöl unter hohem Druck und bei hoher Temperatur mit Wasserstoff und einem Katalysator behandelt. Dabei wird den sauerstoffhaltigen Verbindungen der Sauerstoff entzogen, wodurch eine aufgewertete Pyrolyseflüssigkeit entsteht, die dann destilliert und mit herkömmlichen Bioraffinerieströmen zur Herstellung von **Biokraftstoffen** kombiniert werden kann.“

Dr. Thomas betont ausdrücklich die Vorteile dieses Ansatzes: „Wir können diese Methode der ‚simulierten Destillation‘ direkt anhand der oft sehr komplexen Chromatogramme anwenden, um herauszufinden, bei welcher Temperatur die verschiedenen Komponenten in einer Mischung verdampfen. Die dabei entstehende Destillationskurve zeigt uns den Anteil jeder Komponente, der bei verschiedenen Temperaturen verdampft, was für die Qualitätskontrolle von Biokraftstoffen und anderen aus Bioflüssigkeiten gewonnenen Chemikalien entscheidend ist.“

Ein weiteres Anwendungsgebiet für Bioflüssigkeiten, das Dr. Nowakowski und Kollegen erforschen, ist der sogenannte „Holzessig“.

Dr. Nowakowski erklärt: „Diese Flüssigkeiten gelten als hervorragende ‚natürliche‘ Antimykotika und antibakterielle Mittel, allerdings gibt es kaum Informationen darüber, was sie genau enthalten, geschweige denn Studien über ihre Auswirkungen auf die Umwelt und die Gesundheit. Wir am EBRI konzentrieren uns daher in den nächsten Jahren darauf, diese Flüssigkeiten mithilfe unserer HPLC- und GC-MS-Geräte genauer zu erforschen.“

Diese Forschungsarbeit sei äußerst wichtig, fügt er hinzu. „Holzessig hat durchaus Potenzial für die Behandlung von Schimmel und Bakterienbefall, doch es gibt ein großes Problem bei der Prozess- und Qualitätskontrolle. Wenn beispielsweise die Pyrolysetemperaturen zu hoch sind, kann das Erzeugnis giftige Aromaten, Dioxine und chlorhaltige Chemikalien enthalten. Bei der Anwendung von Holzessig auf Nutzpflanzen gelangt dieser dann in die Umwelt, was natürlich nicht wünschenswert ist.“

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das EBRI offenbar für jede Herausforderung eine Lösung hat: „Unabhängig von der Art des Ausgangsmaterials können wir das Verfahren so auswählen und anpassen, dass wir einen größtmöglichen Nutzen erzielen“, sagt er.

Ausweitung der Erforschung von Bioabfällen – mit Unterstützung von Shimadzu

Während seiner gesamten Tätigkeit als Forscher und Laborleiter am EBRI sei Shimadzu stets für ihn da gewesen, erklärt Dr. Nowakowski. „Schon seit 2013, als wir die neuen Labore für die Bioenergieforschung hier am EBRI einrichteten, kann ich auf das Fachwissen des Unternehmens in der analytischen Chemie zurückgreifen“, erklärt er.

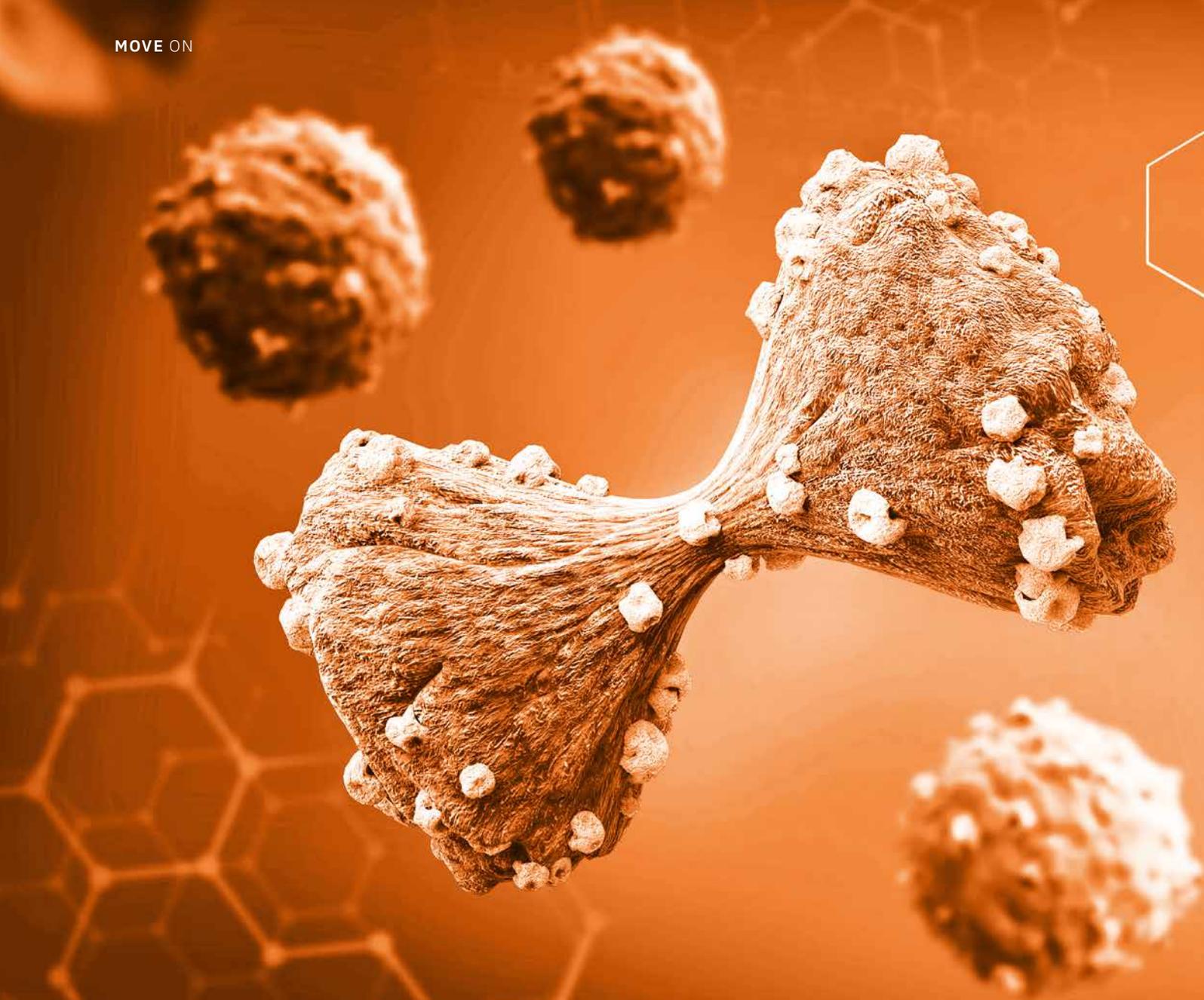
„Das Team war immer bereit, unsere Bedürfnisse zu erörtern, und in vielen Fällen hat es wesentlich zu unserem Entscheidungsprozess beigetragen. Bei einem Projekt mussten wir zum Beispiel Permanentgase aus unserer Anlage zur hydrothermalen Verflüssigung analysieren. Das Team half uns dabei, ein GC-BID-System einzurichten, das unsere Forschungsergebnisse im Vergleich zu dem ursprünglich vorgesehenen GC-FID-System erheblich verbesserte.“

Diese Zusammenarbeit dauert bis heute an, mit Ratschlägen zur optimalen Nutzung der Geräte sowie mit routinemäßiger Wartung und zeitnahe Support. „Da unsere Geräte oft reserviert werden, ist Geschäftskontinuität für uns besonders wichtig. Daher ist es großartig, dass wir von Shimadzu immer eine schnelle Antwort erhalten!“, sagt er.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.





Die europäischen Gesundheitsbehörden empfehlen dringend, Patienten, die eine Chemotherapie auf Fluoropyrimidin-Basis benötigen, auf einen Mangel an Dihydropyrimidin-Dehydrogenase (DPD) zu screenen. In einigen Fällen ist dies sogar vorgeschrieben, um das Risiko schwerer Arzneimitteltoxizitäten zu reduzieren, die diese Behandlungen verursachen können. Eine indirekte Bestimmung des DPD-Mangels erfolgt durch die Messung der Uracil- und Dihydrouracilspiegel im Plasma. Zum leichteren Nachweis von DPD-Mangel bietet das DOSIURA™-Reagenzien-Kit eine gebrauchsfertige Analyselösung mit allen erforderlichen Reagenzien für die präzise Quantifizierung dieser Verbindungen mittels LC-MS/MS.

Fluoropyrimidine, eine Gruppe von Krebsmedikamenten, zu denen auch 5-Fluorouracil (5-FU) gehört, werden häufig zur Behandlung solider Tumore wie kolorektaler, Magen-, HNO- und Mammakarzinome eingesetzt. Allerdings können fluoropyrimidinbasierte Chemotherapien zu schweren Nebenwirkungen führen. Diese treten in einem von fünf Fällen auf und können schwere Toxizitäten (Grad 3–4 nach der WHO-Klassifikation der Chemotherapie-Toxizitäten) und selten, aber dennoch gelegentlich Todesfälle (Inzidenz zwischen 0,1 und 1 %) zur Folge haben.[1] Diese Toxizitäten könnten mit



DOSIURA™ – eine neue Lösung für das Screening auf DPD-Mangel

Messung von Uracilämie mittels
LC-MS/MS als präziser Ansatz

Sibylle Collard, Julia Petit, Mikael Levi, Alsachim



einem Aktivitätsmangel des wichtigsten am Abbau von 5-FU beteiligten Enzyms, der Dihydropyrimidin-Dehydrogenase (DPD), zusammenhängen (Abbildung 1).

Das Enzym DPD unterstützt den Körper beim Abbau von körpereigenen Pyrimidinen (Uracil und Thymin) und fluorierten Pyrimidinen wie 5-FU. Bei geringer Aktivität oder einem Mangel an DPD-Enzymen reichern sich diese Chemotherapeutika im Körper an und verursachen schwerwiegendere Nebenwirkungen als erwartet. Die 5-FU-Behandlung von Patienten mit einem ausgeprägten DPD-Mangel ist mit einem erhöhten Toxizitätsrisiko verbunden. Die DPD-Aktivität ist von Patient zu Patient unterschiedlich, weshalb es wichtig ist, vor Beginn der Behandlung abzuklären, ob ein Mangel vorliegt.

Mittlerweile empfehlen oder fordern viele Gesundheitsbehörden in Europa sowie weltweit eine systematische Untersuchung auf DPD-Mangel bei Patienten, die eine Chemotherapie mit Fluoropyrimidinen erhalten. →

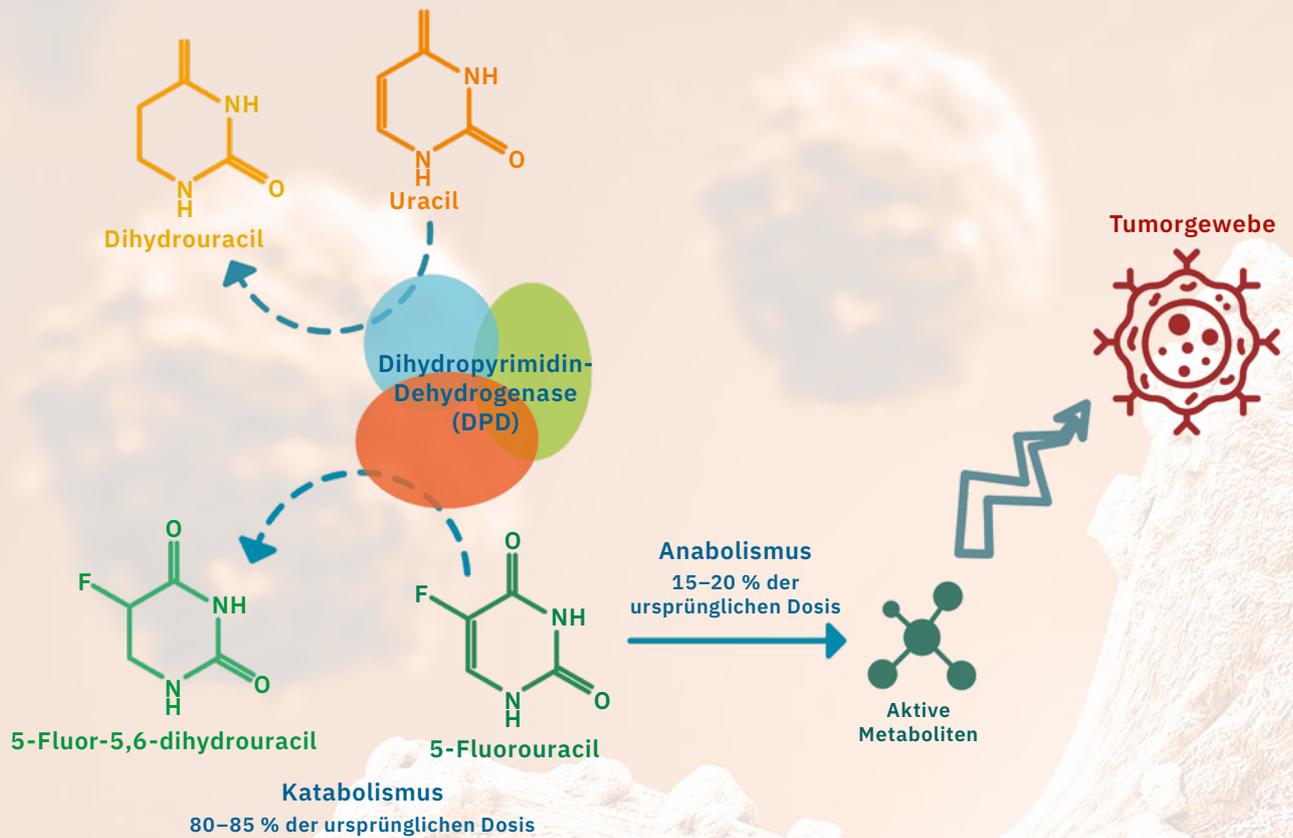


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Rolle von DPD im Pyrimidin- und 5-Fluorouracil-Stoffwechsel

Test auf DPD-Mangel durch Genotypisierung oder Phänotypisierung

Bei der Genotypisierung handelt es sich um die Suche nach Varianten des DPYD-Gens, das das DPD-Enzym kodiert, während die Phänotypisierung die direkte oder indirekte Messung der Aktivität des Enzyms bedeutet.

Die Genotypisierung basiert derzeit auf der Suche nach vier Varianten: DPYD*2A, DPYD*13, c.2846A>T und HapB3. Damit lassen sich zwar Mängel feststellen, es werden jedoch nicht alle Populationen erfasst.[1] Außerdem wurden im Rahmen von Studien zahlreiche Toxizitäten festgestellt, die sich nicht durch Mutationen dieser vier Varianten erklären lassen.

Die alternative Methode der Phänotypisierung beruht auf der direkten Messung der DPD-Aktivität in PBMCs (mononukleären Zellen des peripheren Blutes) oder der indirekten Messung durch Quantifizierung der Uracil- und Dihydrouracilspiegel im Plasma. Die direkte Messung der Enzymaktivität ist jedoch äußerst komplex und zeitaufwendig, weshalb die indirekte Phänotypisierung bevorzugt wird. Die Plasmakonzentrationen dieser beiden Verbindungen werden

durch Flüssigchromatographie in Kombination mit Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) bestimmt.

DOSIURA™ – eine gebrauchsfertige Lösung für die schnelle Quantifizierung von Uracil und Dihydrouracil

Alsachim, ein Unternehmen der Shimadzu Gruppe, hat DOSIURA™ entwickelt, eine gebrauchsfertige Lösung für die Quantifizierung von Uracil und Dihydrouracil im Plasma zur schnellen Bestimmung eines DPD-Mangels. Dieses innovative Reagenzien-Kit und seine Analyseverfahren bieten eine Lösung für viele der Probleme, mit denen Labors und Krankenhäuser bei der Phänotypisierung von DPD-Mangel konfrontiert sind.

Die Empfehlungen für ein präventives Screening auf DPD durch Gesundheitsbehörden wie der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) ab 2020,[2] der ANSM in Frankreich und der MHRA in Großbritannien stellen Krankenhäuser und biomedizinische Labors vor eine doppelte Herausforderung:



eine erhöhte Nachfrage nach Analysen auf DPD-Mangel [3] und die Notwendigkeit, langwierige und hochkomplexe Probenvorbereitungs- und Analysemethoden zur Durchführung dieser Analysen zu entwickeln.

DOSIURA™, die einzige auf dem Markt erhältliche Lösung dieser Art

Das Kit ermöglicht die schnelle Messung von Uracil und Dihydrouracil basierend auf dem zuverlässigeren und reproduzierbaren Ansatz der indirekten Phänotypisierung und der LC-MS/MS-Methode für die gleichzeitige Quantifizierung mehrerer Verbindungen.

DOSIURA™ enthält die Qualitätsreagenzien, die für diese Analysen benötigt werden: Kalibriermittel, interne Standards (synthetisiert von den Chemikern von Alsachim) und Kontrollen zur Vermeidung von Komplexität und analytischer Instabilität, die mit der Reagenzienvorbereitung für Labors verbunden ist. *„Die Kontrollen werden in echtem Humanplasma hergestellt und in Konzentrationen formuliert, die als Entscheidungsgrundlage für die Beurteilung des DPD-Mangels dienen. Dies erleichtert dem Kliniker die Entscheidungsfindung nach der Analyse der Ergebnisse“*, erklärt Julia Petit, Projektleiterin im Bereich Forschung und Entwicklung bei Alsachim.

Uracil und Dihydrouracil sind polare endogene Verbindungen mit niedrigem Molekulargewicht, weshalb sich die Methodenentwicklung für das F&E-Team als große Herausforderung erwies, insbesondere die Abtrennung der Zielverbindungen

von allen in der Matrix vorhandenen interferierenden Molekülen. *„Unser Ziel war es, unseren Kunden eine schnelle, genaue und zuverlässige Lösung zu bieten“*, so Julia Petit.

Die DOSIURA™-Lösung gewährleistet die messtechnische Rückverfolgbarkeit dieser Verbindungen und eine besonders zügige Probenvorbereitung: Das Protokoll und die mitgelieferten Reagenzien ermöglichen eine schnellere Probenvorbereitung im Vergleich zu bereits verfügbaren Methoden.[4, 5] *„Wir wollten eine schnelle Komplettlösung für die Probleme anbieten, die sich in Krankenhäusern und Labors ergeben. Das Screening auf DPD-Mangel ist ein wichtiges Thema. Mit DOSIURA™ können wir die Forschung zur Behandlung von Krebspatienten unterstützen und unseren Kunden ein wichtiger Partner bei ihrer täglichen Arbeit sein.“*

Gewährleistung einer sicheren Krebsbehandlung

Angesichts der zunehmenden Verbreitung des Screenings auf DPD-Mangel in Ländern weltweit und des Inkrafttretens der IVDR und ihrer Anforderungen an Medizinprodukte und die Standardisierung von Methoden kann DOSIURA™ einen wichtigen Beitrag zur routinemäßigen und schnellen Analyse von Uracil- und Dihydrouracilkonzentrationen leisten.

DOSIURA™ ist nur für Forschungszwecke und nicht zur diagnostischen Verwendung vorgesehen.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.



Abbildung 2: Gebrauchsfertige DOSIURA™-Lösung für die Bestimmung von DPD-Mangel im Plasma mittels LC-MS

Rein in die grüne Energie

Die Rolle der Wasserqualität in Power-to-Gas-Anwendungen

Markus Janssen, Shimadzu Europa GmbH





Eine nachhaltige Energie- und Rohstoffversorgung könnte durch grünen Wasserstoff Wirklichkeit werden. Doch wie entsteht eigentlich aus erneuerbarer Energie dieses Gas? Und welche Rolle spielt dabei die Wasserqualität? Die Antworten liefert der folgende Beitrag. Er geht dabei auf Schlüsseltechnologien und innovative Geräte ein, die nicht nur die Wasserqualität sichern, sondern auch maßgeblich zur Effizienz und Lebensdauer von Elektrolyseanlagen beitragen, welche für die Wasserstoffproduktion unerlässlich sind.

„Ich bin davon überzeugt, meine Freunde, dass das Wasser dereinst als Brennstoff Verwendung findet, dass Wasserstoff und Sauerstoff, seine Bestandteile, zur unerschöpflichen und bezüglich ihrer Intensität ganz ungeahnten Quelle der Wärme und des Lichts werden. [...] Das Wasser ist die Kohle der Zukunft.“ So schrieb Jules Verne in seinem berühmten Roman „Die geheimnisvolle Insel“. Worte, die 1874 den Grundstein der Science-Fiction-Literatur legten und heute Realität werden. Und es klingt fast zu gut, um wahr zu sein: Wasserstoff ist weder giftig noch radioaktiv, verbrennt schadstofffrei und ist zudem das häufigste Element im Universum. Prinzipiell ist sein Einsatz in vielen Bereichen, wie Industrie, Verkehr und zum Heizen, technisch möglich. Aus Sicht der Energieeffizienz ist dies jedoch nicht immer sinnvoll, da die direkte Nutzung von erneuerbarem Strom in vielen Fällen größere Einsparungen an Treibhausgasemissionen ermöglicht.[1] Doch in Fällen, in denen eine Elektrifizierung technisch nicht möglich oder unwirtschaftlich ist, stellt die Nutzung von Wasserstoff eine nachhaltige Alternative dar.

Von Energie zu Gas

Ganz so einfach ist es jedoch nicht, denn molekularer Wasserstoff (H_2) kommt auf der Erde praktisch nicht in reiner Form als Gas vor, sondern überwiegend in gebundener Form und als Bestandteil von Wasser. Er kann daher nicht einfach wie z. B. Erdgas als Primärenergieträger gewonnen werden, sondern muss unter Einsatz anderer Energien erzeugt werden. Die dafür genutzte Energiequelle bestimmt dann erst, wie nachhaltig die Wasserstoffwirtschaft selbst wird. Derzeit wird H_2 überwiegend durch Dampfreformierung aus dem in Erdgas und Biogas enthaltenen Methan hergestellt; man spricht dann von grauem Wasserstoff. Dabei werden jedoch pro Tonne erzeugtem Wasserstoff auch durchschnittlich 10 Tonnen CO_2 in die Atmosphäre abgegeben.[2] Wird er dagegen ausschließlich mit erneuerbaren Energien im sogenannten „Power-to-Gas-Verfahren“ (P2G) hergestellt, spricht man von grünem Wasserstoff. Doch wie wird Energie in Gas umgewandelt?

Der erste Schritt des Power-to-Gas-Prozesses ist die Erzeugung von elektrischem Strom auf der Basis erneuerbarer Energien als Primärenergieträger. Diese elektrische Energie wird dann mittels Elektrolyse in chemische Energie umgewandelt. Im Falle von Wasserstoff ist die Technologie seit Langem erprobt und wird häufig sogar als praktisches Experiment im Schulunterricht vorgeführt. Zwei Elektroden werden in ein Wasserbad getaucht und an eine Gleichstromquelle angeschlossen. Bei ausreichender Spannung zerlegt der elektrische Strom das Wasser in seine Bestandteile Wasserstoff und Sauerstoff. →

Stapelweise Schlüsseltechnologien

Der Schulversuch, der häufig mit Lauge als Elektrolyt durchgeführt wird, ähnelt stark dem Prinzip der alkalischen Elektrolyse (AEL), die bereits seit Jahrzehnten zur H₂-Erzeugung im industriellen Maßstab eingesetzt wird. Dieses Verfahren hat jedoch Nachteile, die es für die Herstellung von grünem Wasserstoff weniger geeignet machen können. Fluktuierende Stromquellen, wie Windkraft oder Photovoltaik, erfordern ein zyklisches An- und Abfahren der Wasserstoffproduktion und zumindest einen Teillastbetrieb. AEL ist hierfür weniger gut geeignet, da sie lange Anfahrzeiten benötigt und im Teillastbetrieb Probleme mit der Gasqualität auftreten können.[3] Dagegen gilt die „PEM-Elektrolyse“ als Schlüsseltechnologie für die Erzeugung von grünem Wasserstoff und somit für die Energiewende.

Eine Protonenaustauschmembran (PEM) besteht aus einem dünnen, festen Polymermaterial wie etwa Nafion, das Protonen (H⁺-Ionen) leiten kann, für Elektronen und Gase jedoch undurchlässig ist. In einem PEM-Elektrolyseur ist diese Membran das Herzstück jeder Zelle und befindet sich zwischen Anode und Kathode, die oft mit einem Katalysator beschichtet sind, um die elektrolytischen Reaktionen zu beschleunigen. Ein zentrales Element eines PEM-Elektrolyseurs ist der sogenannte „Stack“, der aus mehreren übereinander gestapelten Zellen besteht – daher der Name „Stack“ (englisch für „Stapel“). Bipolarplatten dienen als Stromleiter zwischen einzelnen Zellen und leiten die entstehenden Gase ab. Die PEM-Elektrolyse ist ein Hochdruckverfahren, das hohe Stromdichten ermöglicht. Diese hohe Stromdichte führt zu einer effizienteren Wasserstoffproduktion, da mehr Wasserstoff pro Zeiteinheit erzeugt wird. Dies macht die PEM-Elektrolyse zu einer bevorzugten Technologie für die Erzeugung von grünem Wasserstoff, da sie im Gegensatz zur AEL-Elektrolyse schneller hochgefahren werden kann und kurze Reaktionszeiten bei fluktuierender Stromproduktion aufweist.

Mit Reinheit zur Effizienz

Die Reinheit des Speisewassers ist entscheidend für die Effizienz und Lebensdauer von PEM-Elektrolyseuren. Für die Herstellung von einem Kilogramm grünem Wasserstoff werden stöchiometrisch neun Liter Wasser benötigt. Dieses Wasser muss jedoch bestimmte Qualitätsstandards erfüllen, um Stack-Ausfälle und Leistungseinbußen zu vermeiden. Verunreinigungen, wie gelöste Salze, Mineralien und organische Verbindungen, können irreversible Schäden verursachen. [4] Sie beeinträchtigen die Leistung und Lebensdauer der Membranen und können die Wasserstoffqualität negativ beeinflussen. Daher sind strenge Spezifikationen für die elektrische Leitfähigkeit und den Gesamtgehalt an organischem Kohlenstoff (TOC) einzuhalten, die häufig auf internationalen Richtlinien für Reinstwasser basieren (Tabelle 1). Eine kontinuierliche Überwachung dieser Parameter ist entscheidend für eine langfristige und wirtschaftliche Produktion von grünem Wasserstoff.

Solche Wasserstoffelektrolyseanlagen werden oft in der Nähe von Solar- und Windparks errichtet. In sonnenreichen, trockenen Gebieten kann es jedoch an ausreichendem Süßwasser mangeln, während in windigen Küstenregionen das verfügbare Wasser meist salzhaltig ist. Diese Bedingungen erfordern spezielle Wasseraufbereitungstechnologien (Tabelle 2), um das vor Ort verfügbare Rohwasser für die PEM-Elektrolyse nutzbar zu machen. →

Kontaminanten- gruppe	Mögliche Beeinträchtigung	Messparameter	Beispiel Grenzwert
Organische Verbindungen	Membranverschmutzung, Korrosion, Biofilm, Wasserstoffverunreinigung	TOC	< 50 ppb
Ionen/Anorganische Verunreinigung	Leitfähigkeitsverringerung, Katalysatorschäden, H ₂ - Verunreinigung, Korrosion	Elektr. Leitfähigkeit Spez. Widerstand	< 0,1 µS/cm > 10 MΩcm

Tabelle 1: Beispiel einer Wasserspezifikation für einen PEM-Elektrolyse-Stack

Aufbereitungstechnik	Kurzname	Entfernte Kontaminanten
Sand-/Belüftungsfiltration	Vorfiltration	Eisen und Mangan
Ultrafiltration	UF	Partikel, Organik, Mikrobiologie
Enthärter/Antiscalant-Dosierung	Enthärtung	Härtebildner
Membranentgasung		Gelöste Gase (z. B. CO ₂)
Umkehrosmose	RO	Salz, Partikel, Mikrobiologie, Ionenfracht, Organik
Elektrodeionisation	EDI	Beseitigung von Ionen und ionisierbaren Verunreinigungen
Ionenaustauscherharz	Polisher	Letzte Verunreinigungen

Tabelle 2: Grobe Übersicht über Aufbereitungstechniken für die Elektrolyse

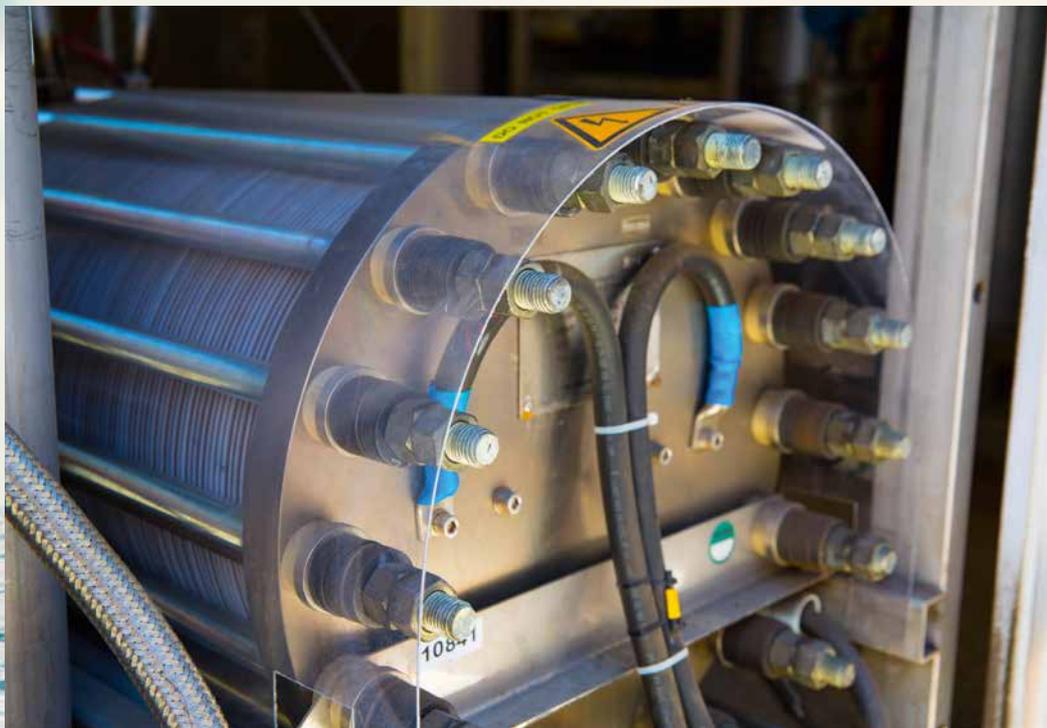


Abbildung 1: PEM-Elektrolyseur

Sicherung der Wasserqualität mittels PAT

Die Überwachung und Sicherung der Wasserqualität in einer Elektrolyseanlage kann durch die Anwendung von Prozessanalysetechnik (PAT) erheblich verbessert werden. Neben dem Wasservorbehandlungssystem spielt der Reinstwasserkreislauf, der sowohl zur Wasserzufuhr als auch zur Wärmeabfuhr dient, eine entscheidende Rolle für den störungsfreien Betrieb und die Vermeidung zusätzlicher Kosten. Während des Betriebs können Verunreinigungen in den Kreislauf gelangen, weshalb ein Teilstrom vor dem Eintritt in die Anode nochmals mit einem Ionenaustauscherharz gereinigt wird. Hier kann ein Online-TOC-Analysator zur endgültigen Qualitätskontrolle mittels PAT eingesetzt werden. Da es keinen direkten Zusammenhang zwischen den Parametern TOC und elektrische Leitfähigkeit und dem Vorhandensein von Verunreinigungen gibt, sollten beide Parameter kontinuierlich aufgezeichnet werden. Analysatoren wie der Shimadzu TOC-1000e (Abbildung 2) liefern in kurzen Zeitabständen beide Messwerte und ermöglichen so eine frühzeitige Erkennung von Verunreinigungen, was die vorausschauende Wartung des Elektrolyseurs ermöglicht.

Der TOC-1000e ist speziell auf die Online-Überwachung von Reinstwasseranwendungen ausgerichtet und bietet eine präzise Messung sowohl des TOC-Gehalts mit einer Nachweisgrenze von 0,1 µg/l als auch der elektrischen Leitfähigkeit von Wasser. Seine innovative Technologie umfasst eine quecksilberfreie Excimer-Lampe, die ultraviolettes Licht bei 172 nm erzeugt, um selbst schwer oxidierbare Bestandteile zu zersetzen und so sicherzustellen, dass keine Verunreinigung unentdeckt bleibt. Dass die Lampe nur bei Bedarf eingeschaltet wird, verlängert ihre Lebensdauer und verdoppelt die übliche Standzeit des Geräts gegenüber herkömmlichen Systemen auf ein Jahr. Somit kann der TOC-1000e bis zu einem Jahr lang autonom arbeiten. Ein weiteres Highlight ist der sogenannte „Active Path“, bei dem die Probe direkt durch die Lampe fließt, um eine möglichst effiziente Bestrahlung zu gewährleisten und Kontaminations- und Verschleppungseffekte zu minimieren. Darüber hinaus ermöglicht der TOC-1000e eine jährliche Kalibrierung und Wartung vor Ort innerhalb kurzer Zeit, wodurch der Analysator nicht eingeschickt werden muss. Er besticht durch seine ausgezeichnete Konnektivität, die eine bidirektionale Bus-Kommunikation und einen eingebauten Webserver für eine einfache



Ferndiagnose und detaillierte Datenansicht einschließlich der Historie bietet. Trotz seiner umfangreichen Funktionen ist der TOC-1000e klein und leicht, wiegt weniger als 3 kg und hat eine Frontplatte von der Größe eines A4-Blattes. Er ist so mobil, dass er zur Wartung und Fehlerdiagnose an anderen Teilen der Wasseraufbereitungsanlage in der Elektrolyseanlage genutzt werden kann.

Schlüsselinstrumente für den wichtigen Wandel

Grüner Wasserstoff steht im Mittelpunkt der Bemühungen um eine nachhaltige Energieversorgung. Obwohl Herausforderungen existieren, insbesondere die Gewährleistung der Wasserqualität und die Anpassung an unterschiedliche geografische Bedingungen, bieten die technischen Fortschritte große Hoffnung. Schlüsselwerkzeuge wie die Prozessanalysetechnik (PAT) und Instrumente wie der TOC-1000e sind entscheidend für die Überwachung und Sicherstellung der Wasserqualität. Während der Übergang zur Wasserstoffwirtschaft voranschreitet, ist eine stetige Innovation und Optimierung notwendig, um die Effizienz und Nachhaltigkeit der Wasserstoffproduktion zu erhöhen. Somit hat grüner Wasserstoff das Potenzial, eine zentrale Rolle in unserer nachhaltigen Energieversorgung zu spielen.

Hinweis

Weitere Informationen und Literaturhinweise entnehmen Sie bitte der digitalen Version dieser Ausgabe.



Abbildung 2: Shimadzu TOC-1000e

**analytica**

München, Deutschland
09.–12.04.2024

**SETAC**

Sevilla, Spanien
05.–09.05.2024

**IFAT**

München, Deutschland
13.–17.05.2024

**Optatech**

Frankfurt, Deutschland
14.–16.05.2024

**HTC-18**

Löwen, Belgien
28.–31.05.2024

**11th Nordic Plasma**

Loen, Norwegen
09.–13.06.2024

secrets of science
magazine

Herausgeber

Redaktion

Gestaltung

Auflage

©Copyright

Kundenzeitschrift der Shimadzu Europa GmbH, Duisburg
Shimadzu Europa GmbH
Albert-Hahn-Str. 6–10
D-47269 Duisburg
Tel.: +49(0)203 7687-0
shimadzu@shimadzu.eu
www.shimadzu.eu
Uta Steeger,
Sonja Wischnewsky,
Andrea Wagner-Neumann,
Christoph Fischer,
Christopher Brünn
Bartenbach AG
Kaufmannshof 1
D-55120 Mainz
Deutsch: 4.700
Englisch: 4.275
Shimadzu Europa GmbH,
Duisburg, März 2024.
Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit Genehmigung der Redaktion.



Noch mehr Einblicke

Sie wollen noch tiefer in die Themen des „Secrets of Science“ Magazins abtauchen? Die digitale Version bietet zu jedem Artikel noch mehr Insights, wie zusätzliche Chromatogramme, Tabellen und inhaltliche Details. Gehen Sie also den Geheimnissen der Wissenschaft auf den Grund.



Digitale Version
shimadzu-webapp.eu

