

Der HPLC-Tipp im Februar

Ist das Abziehen des Blindgradienten vom Probe-Chromatogramm eine praktikable Methode?

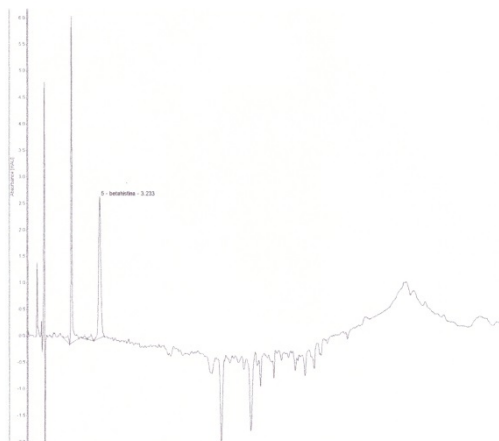
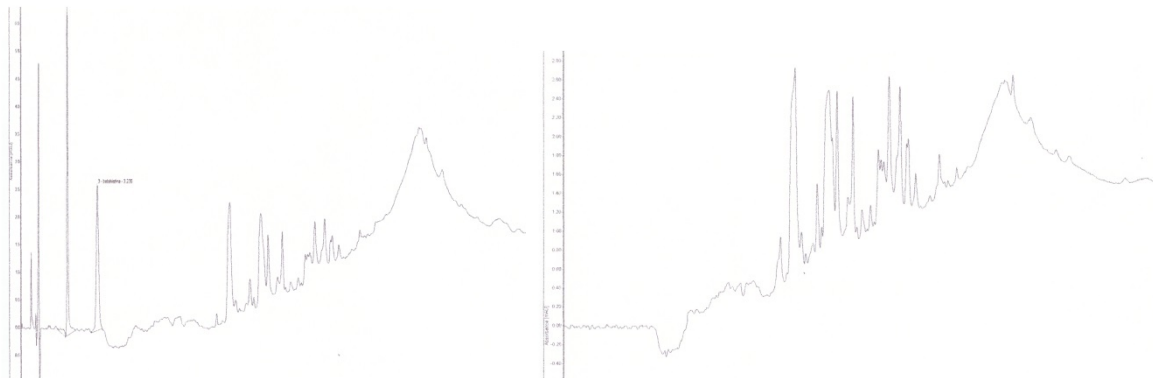
von Dr. Stavros Kromidas, Blieskastel

Der Fall

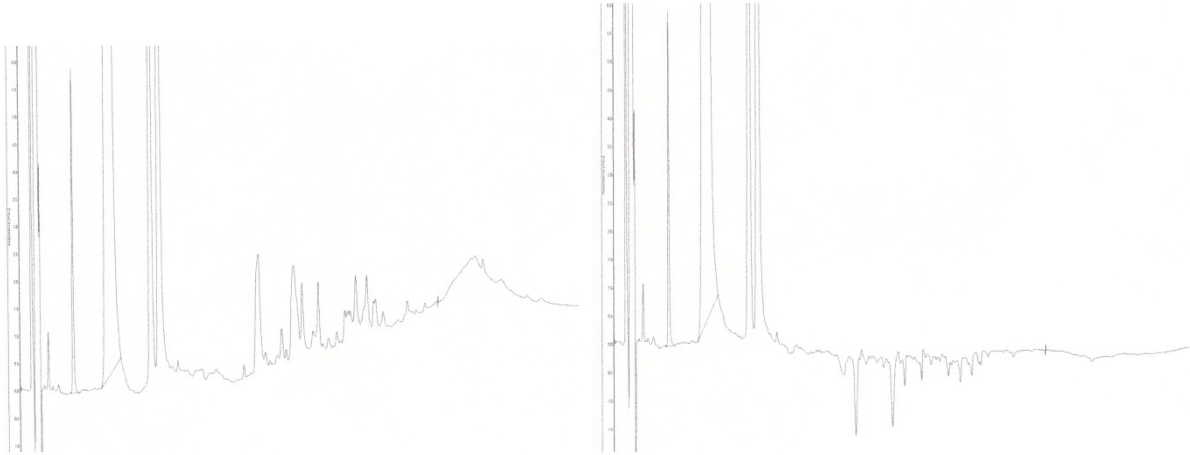
Wir haben uns bereits darüber unterhalten, dass die Subtraktion des Blindgradienten vom Originalchromatogramm eine einfache Möglichkeit darstellt, ein „schöneres“ Chromatogramm zu erhalten. So ist in einem solchen die Integration oft einfacher – und richtiger. Obschon viele Softwareprogramme dies erlauben, wird diese Technik eher selten angewandt. Ist sie nun praktikabel oder eher weniger?

Die Lösung

Da der Sachverhalt klar ist, will ich keine weitere Worte verlieren sondern gleich einige Chromatogramme zeigen, die hier verwendete Software war Chromeleon 7.2. In der linken Abbildung weiter unten wird die Injektion des Standards, in der rechten der Blindgradient gezeigt (etwas stärker gezoomt). Im unteren Bild wird das Differenzchromatogramm dargestellt, also Standard abzüglich des Blindgradienten.



Durch das Abziehen verschwindet die „Delle“ der Basislinie nach dem zweiten Peak, die Integration gestaltet sich sicherer. Bild unten links gibt die Injektion der Probe wieder, auf der rechten Seite sehen Sie das sich ergebende Chromatogramm nach der Subtraktion des Gradienten. Auch hier ergibt sich eine ruhigere Basislinie.



Das Fazit

Auch an weiteren Chromatogrammen, die hier nicht gezeigt werden können, hat dieser simple Trick zu einer merklich sicheren Integration geführt, auch die Reproduzierbarkeit der Peakfläche konnte signifikant verbessert werden. Es „klappt“ definitiv nicht immer. Da diese Sache jedoch kaum Arbeit macht, würde ich bei komplizierten Gradientenmethoden (steiler Gradient, viele Komponenten in der mobilen Phase, komplexe Probe, viele Peaks bereits beim Blindgradienten etc.) es immer einfach ausprobieren.