

Der HPLC-Tipp im Juni 2016

von Dr. Stavros Kromidas, Blieskastel

Liebe HPLC-Anwenderinnen, liebe HPLC-Anwender,

wie in jedem Jahr, wollen wir uns auch heuer in den Sommermonaten mit kleinen Tipps beschäftigen.

„Was sollte ich denn machen, die hatten nur Vodka...“

Folgende Anekdote eines Kollegen aus den Anfängen der HPLC: Er war um 1980 herum in der Sowjetunion auf Kundenreise. Im tiefsten Sibirien angekommen, wollte er nach einem Kundengespräch als Beleg für das Besprochene auch ein paar praktische Versuche durchführen – manch einer war logischerweise etwas misstrauisch gegenüber Versprechungen aus dem Westen... Damals war es mit dem Zoll noch schwieriger als heute, er konnte gerade zwei Säulen dabei haben, es waren je eine 25 cm lange Spherisorb C8 bzw. Spherisorb CN. Mit MeOH und ACN war natürlich „nichts“, aber Vodka, davon war reichlich vorhanden. Vodka bzw. Vodka verdünnt plus Spherisorb C8 oder Spherisorb CN bzw. Spherisorb C8 + CN in Serie plus niedrige Temperaturen hätten zu fantastischen Trennungen von ähnlichen, polaren Substanzen geführt. Und das ist absolut glaubhaft: Polarer, alkoholischer Eluent, recht polare stationäre Phase(n) und niedrige Temperaturen sind genau die richtigen Bedingungen für derartige Trennungen. Nun, die Retentionszeiten waren nicht gerade kurz, aber es war auszuhalten: Man nahm sich die Zeit um ausgiebig sich unterhalten, „Eluent“ war ja nicht gerade Mangelware...

Zwei völlig baugleiche Geräte, dennoch tauchen nur am einen Gerät Geisterpeaks auf – mögliche Gründe?

Derer gibt es viele; Wir unterstellen, dass „baugleich“ wirklich baugleich bedeutet und beispielsweise kein unterschiedliches Schleifenvolumen vorhanden ist oder in einem Fall lediglich die Säule angeschlossen ist und im zweiten Fall ein Säulenwechsler verwendet wird. Ein dadurch möglicherweise unterschiedliches Verweilvolumen kann bei Gradiententrennungen zu „allem“ Möglichen führen – auch zu Geisterpeaks. Ferner unterstellen wir, dass nicht einmal Kanal A und B und einmal C und D benutzt werden. Wir nehmen auch identische, in beiden Fällen nicht-kontaminierte vials (Glas, Septen, Verschluss) an. Schließlich gehen wir von gleichen Setting-Parametern wie Zeitkonstante, Bandwidth, Slit, Threshold usw. aus. Trotzdem bleiben viele mögliche Ursachen für das Erscheinen von Geisterpeaks übrig, nachfolgend habe ich einige ausgesucht:

- An einem Gerät wurden die Schläuche zwischen Vorratsgefäß und Pumpe am Gestell geklebt, damit sie nicht „rum“ fliegen. Über die Zeit löst das ACN in den Schläuchen (partielle Diffusion) teilweise den Kleber auf, Ergebnis: Verstärkte Erscheinung von Geisterpeaks.
- Das eine Gerät befindet sich in der Ecke und ist dadurch „geschützt“, das andere bekommt mehr Staub (Reinigungskraft, Tür etc.) ab.
- In der Nähe befindet sich ein Gerät, das sich immer wieder als Quelle von Störungen erweist: AD-Wandler, NMR, Zentrifuge, Spülautomat, schließlich kann von der GC in unmittelbarer Nachbarschaft alle 30 min eine Hitzewelle auf die HPLC treffen. Obschon hier eher mit Störsignalen und Basislinieproblemen zu rechnen ist, sollte man evtl. auch daran denken.

Folgende drei Ursachen haben nicht direkt mit dem Gerät zu tun, eher mit unterschiedlicher Arbeitsweise, dennoch seien sie hier aufgeführt:

- In einem Fall befindet sich in der ACN-Flasche etwas länger noch ACN, für den nächsten Lauf wird einfach aufgefüllt. Im anderen Fall wird sie richtig leer gemacht, gespült und dann erst wieder aufgefüllt. Im ersten Fall kann Aceton entstehen, der in genügender Konzentration zu Geisterpeaks führen kann.
- In einem Fall sind an den vials oder an anderer Glasware Etiketten geklebt, im Anderen nicht. Wenn nun im ersten Fall diese im Spülautomaten gereinigt werden, kann sein, dass durch die aufgelösten Kleber/Lösungsmittel anschließend Geisterpeaks auftauchen.
- Gummischeuhe? Positionen der vials im Rack identisch? Werden die vials durchgeschüttelt?

Leider kann die Liste beliebig erweitert werden. Im Falle vom Methodentransfer sollte man äußerst vorsichtig, ja fast demütig mit Aussagen wie „identisch“, „alles ist gleich“ umgehen...