

Der HPLC-Tipp im Oktober

Liebe Leserinnen, liebe Leser,

wie bereits Anfang des Jahres angekündigt, möchte ich ab sofort immer wieder Kollegen einladen, Ihre *persönlichen* Erfahrungen und Empfehlungen an dieser Stelle kund zu tun. Wir fangen mit Werner Röpke an, der etwas zu den Fritten „sagen“ möchte. Viel Spaß dabei!

Ihr

Stavros Kromidas



Ärger mit den Fritten

von Werner Röpke, Braunschweig

Das Problem

Unerklärliche Druckschwankungen in einem Pumpensystem, die aber nur auftreten, wenn Wasser gefördert wird. Der Kanal mit Acetonitril oder einem ähnlichen Laufmittel arbeitet völlig einwandfrei, so dass ein Fehler an der Pumpe eigentlich ausgeschlossen werden kann. Was könnte hier

vorliegen?

Die Lösung

Jetzt sollte der Pfad des Laufmittels von der Flasche zur Pumpe untersucht werden, denn sehr häufig ist die Ansaugfritte - auch Ansaugfilter genannt - Verursacher des Problems.

Um zu verstehen, warum gerade die Ansaugfritte eine häufige Fehlerquelle darstellt, müssen wir zuerst die Funktionsweise einer HPLC Pumpe betrachten:

Stellen wir uns ein typisches HPLC-System vor mit zwei Flaschen, eine ist mit Wasser gefüllt und eine mit Acetonitril. Die Ansaugschläuche sind vollständig gefüllt, die Pumpe läuft. Wird reines Acetonitril gefördert, läuft die Pumpe pulsationsfrei, keine Probleme. Wird die Förderung langsam auf Wasser umgestellt, fängt die Pumpe unerklärlicherweise an, fürchterliche Druckschwankungen zu zeigen und die Förderung bricht ein. Im Ansaugschlauch sind kleine Luftblasen zu sehen, obwohl Sie das Wasser sorgfältigst entgast haben. Was könnte die Ursache sein?

In der Pumpe bewegt sich ein Kolben aus Saphir oder Zirkonoxid vor und zurück, ähnlich wie bei der altbekannten „Schwengelpumpe“, die es früher an jedem Brunnen gab. Im Moment des „Ziehens“ baut sich auf der Saugseite ein Unterdruck auf. Wenn irgendwo ein Unterdruck herrscht, will das umgebende Medium, sei es Luft oder Flüssigkeit, diesen möglichst schnell auffüllen, damit wieder ein einheitlicher Druck herrscht. Die im Schlauch befindliche Flüssigkeit strömt also in Richtung Kolben – wenn sie denn kann!

Normalerweise kann sie es problemlos, wie wir auf der Acetonitril-Seite sehen können. Aber was passiert auf der Wasser-Seite?

Nehmen Sie die Vorratsflasche zur Hand, halten Sie sie gegen das Licht und schwenken

Sie einmal kräftig: Wunderwelten der Mikrobiologie tun sich auf!

Die Wasserflasche wurde wahrscheinlich immer wieder mit frischem Wasser aufgefüllt, vermutlich aus der Reinstwasseranlage, dann entgast. Absolut sauber, jedenfalls in der Flasche. Aber sauber ist nicht rein, das wissen wir. Denn wenn das Wasser nicht steril abgefüllt wird, genügen winzige Keime auf dem Flaschengrund, um Mikroorganismen weiter wachsen zu lassen, und wenn Sie die alte Flasche nur auffüllen und nicht auswechseln, sind beste Voraussetzungen für neues Leben gegeben.

Merke: Leben entsteht niemals, es wird immer nur weiter gegeben. Irgendwo kommt es her. Ein Mikrobiologe könnte sicher genau sagen, was da alles wächst, ich kann es nicht. Aber ich kann erklären, was passiert: das ganze Zeug setzt sich nach und nach in den Poren der Ansaugfritte fest und erhöht somit deren Durchgangswiderstand - bis fast nichts mehr durchgeht.

Dann versucht unser Kolben einen Unterdruck aufzubauen, die Flüssigkeit will nachströmen und kann nicht. Nun liegt also an der Flüssigkeitssäule im Ansaugschlauch ein geringfügiger Unterdruck an, und der ist verantwortlich für zwei Effekte:

Zuerst perlen die immer noch – trotz Entgasung – gelösten Luftreste aus, und dann kommt dazu auch noch Luft durch den Schlauch nach innen.

Der Innendruck ist jetzt niedriger als der Außendruck, und bekanntermaßen ist Teflon ja porös, das reicht für die kleinen Luftmengen aus. Ein Entgaser funktioniert genau umgekehrt mit einem speziellen Teflonmaterial, aber der Effekt ist genau der gleiche. Hat der Schlauch womöglich einen winzigen Riss an der Schraube die ins Einlassventil führt, geht nichts mehr! Bei durchgängiger Ansaugfritte reicht der Unterdruck im Schlauch noch nicht aus, um durch den Riss Luft zu ziehen, aber bei verstopfter Fritte auf jeden Fall. Bei den nun fälligen Wartungsarbeiten lohnt es sich, auch den Anschluss sorgfältig zu inspizieren und bei Verdacht gleich mit der Fritte auszuwechseln.



Die Ansaugfritte auf Durchgängigkeit zu prüfen ist sehr einfach: den Schlauch an der Pumpe abschrauben und ein paar Zentimeter unterhalb der Flasche hängen lassen, bis es tropft. Läuft es durch den hydrostatischen Druck zügig heraus, ist die Fritte noch durchgängig und der Fehler womöglich doch woanders zu suchen.

Verstopfte Fritten mit Aceton oder Salpetersäure zu reinigen, ist falsche Sparsamkeit.

Das Fazit

Dem verwendeten Wasser sollte auf jeden Fall große Beachtung geschenkt werden. Gegen das Wachstum von Mikroorganismen gibt es mehrere Empfehlungen: man kann ein Biozid wie Natriumacid zusetzen, wenn es keine Verträglichkeitsprobleme mit der Trennsäule gibt. Elegant ist eine UV-Lampe, die in die Flasche gehängt wird, allerdings haben solche Systeme sich bislang nur wenig durchgesetzt. Tägliches Neuansetzen mit frischem Wasser bei gleichzeitigem Flaschenwechsel ist aufwendig, aber die preiswerteste und effektivste Methode.