Der Tanz der Moleküle

Wie Verschmutzung und Verdunstung Ihr Chromatogramm auf den Kopf stellen

HPLC: Lust oder Frust?

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) und die Ultra-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (UHPLC) sind essentielle Werkzeuge in der analytischen Chemie, die tiefe Einblicke in die Struktur und Zusammensetzung chemischer Verbindungen gewähren.

Doch selbst in den sorgfältigsten Laboren kann eine unsichtbare „Choreographie" aus Verdunstung und Verschmutzungen der Lösungsmittel entstehen, die das Chromatogramm in einen Wirbelsturm verwandeln. Das kann so frustrierend werden, dass man die gesamte Analytik „an die Wand klatschen" möchte.

Verschmutzungen des Lösungsmittels

In der präzisen Welt der HPLC / UHPLC haben selbst **geringfügige** Verunreinigungen der Lösungsmittel kritische Auswirkungen. Das Chromatogramm, das als visuelle Darstellung der Trennung von Verbindungen dient, kann durch **unerwünschte Peaks** („Geisterpeaks"), **Baseline-Instabilität** und **Verzerrungen** gestört werden. Diese Unregelmäßigkeiten machen eine genaue Quantifizierung und Identifizierung von Verbindungen äußerst schwierig.

In der Chromatographie sprechen wir nicht umsonst von einer **sauberen Trennung.** Besonders wenn die Peaks, auf die Sie es abgesehen haben, nah beieinander liegen oder sich überlagern (also eben **nicht** sauber getrennt sind), stört jede noch so kleine Verunreinigung - und der Schmutzfink wütet im Chromatogramm.

SCAT Safety Caps mit Belüftungsventil sorgen mit dem integrierten Luftfilter dafür, dass nur **saubere Luft** in den Lösungsmittelbehälter gelangt.

Wem das noch nicht ausreicht, kann zusätzlich eigene Filter verwenden, die sich einfach am integrierten Luer-Lock-Anschluss befestigen lassen. Das können Partikelfilter mit bestimmter Porengröße, Feuchtigkeits- oder spezielle Biofilter sein, je nach individueller Anwendung.

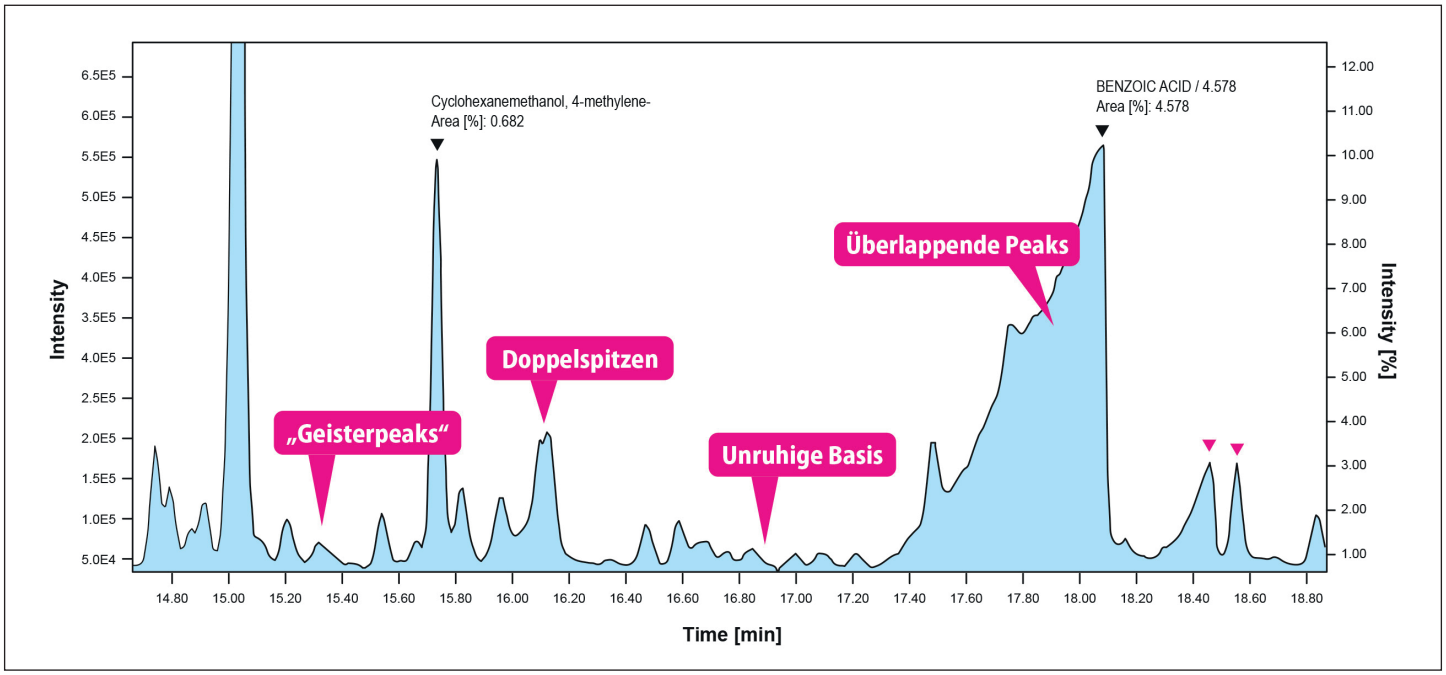


Bild 1: *einige Peak-Formen, die eine saubere Trennung, Identifikation und Quantifizierung erschweren.*

Verdunstung von Lösungsmittelgemischen

Verdunstung ist ein heimlicher Akteur, der das Bühnenbild verändert. Während der Analyse können **flüchtige** Bestandteile **schneller** verdunsten als andere, was zu Ungleichgewichten in der gelösten Probe führt. Dies kann zu unscharfen Peaks, verringerter Auflösung und sogar zu irreversiblen Schäden an der Säule führen.

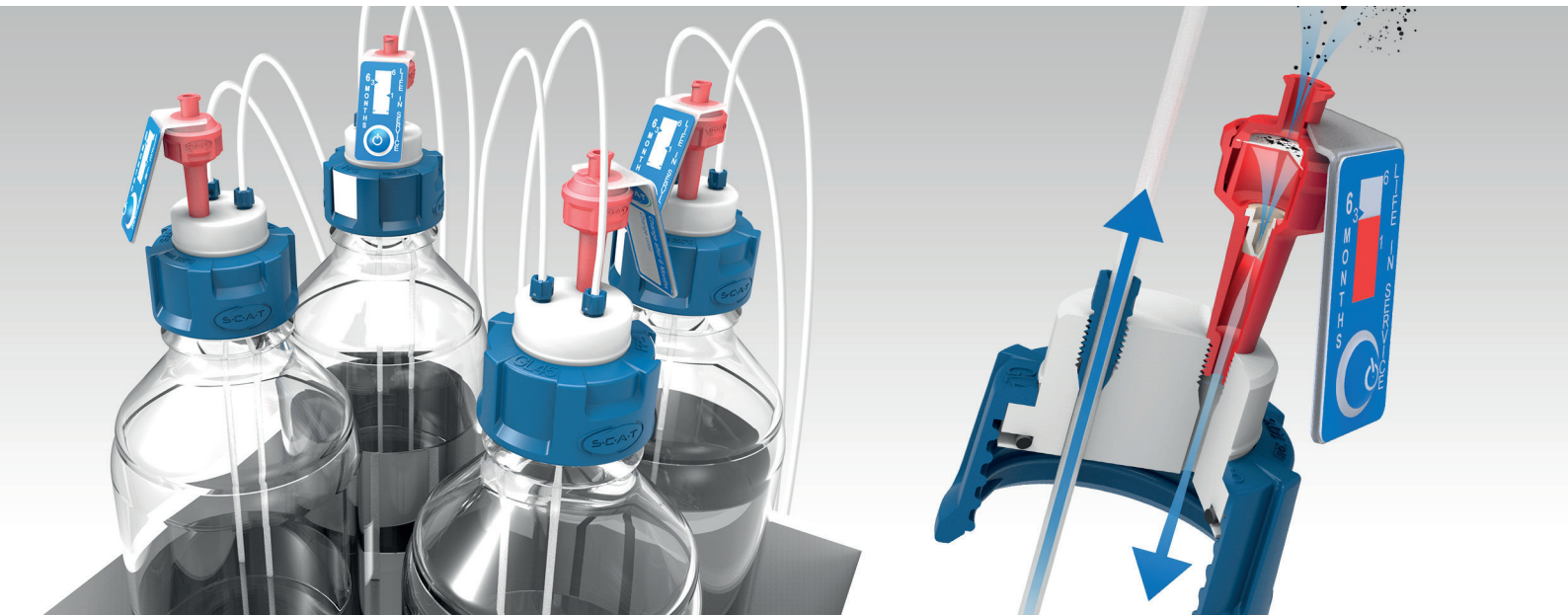
So gerät die molekulare Harmonie durcheinander, die in einem Chromatogramm angestrebt wird. Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Analyse leiden.

Wenn Sie mit einem **Gradientensystem** arbeiten (im Gegensatz zur **isokratischen** Analytik), kann das Mischungsverhältnis über den Zeitverlauf der Analyse zwar automatisch angepasst werden.

Das setzt jedoch voraus, dass Ihr System über automatische **Gradientenkontrollfunktionen** für Änderungen im Mischungsverhältnis verfügt. Dabei wird die **Refraktometer**- oder **Detektorantwort** überwacht und die Mischung entsprechend angeglichen. Die notwendigen Kalibrierungen machen die Methode jedoch komplexer, und nicht alle Änderungen können vorhergesehen werden. Durch ein **geschlossenes System** für die Lösungsmittelzufuhr und Entsorgung können Sie sich diesen Aufwand sparen, und Ihre Gradientensteuerung wird um einen kritischen Faktor **erleichtert**.

Wichtig ist dabei der **hermetische** Einschluss des Laufmittelvorrats, damit alles dort bleibt, wo es soll: in der Vorratsflasche. Damit bei der Entnahme kein Unterdruck entsteht, gleichen SCAT Safety Caps Druckdifferenzen durch ihr integriertes Belüftungsventil aus. Frische Luft kann rein, aber keine Dämpfe raus - so herrscht wieder Harmonie im Foyer des HPLC-Theaters.

Bild 2: *Safety Caps mit Belüftungsventil und Luftfilter für sauberen Druckausgleich bei der Entnahme von HPLC-Lösungsmitteln.*



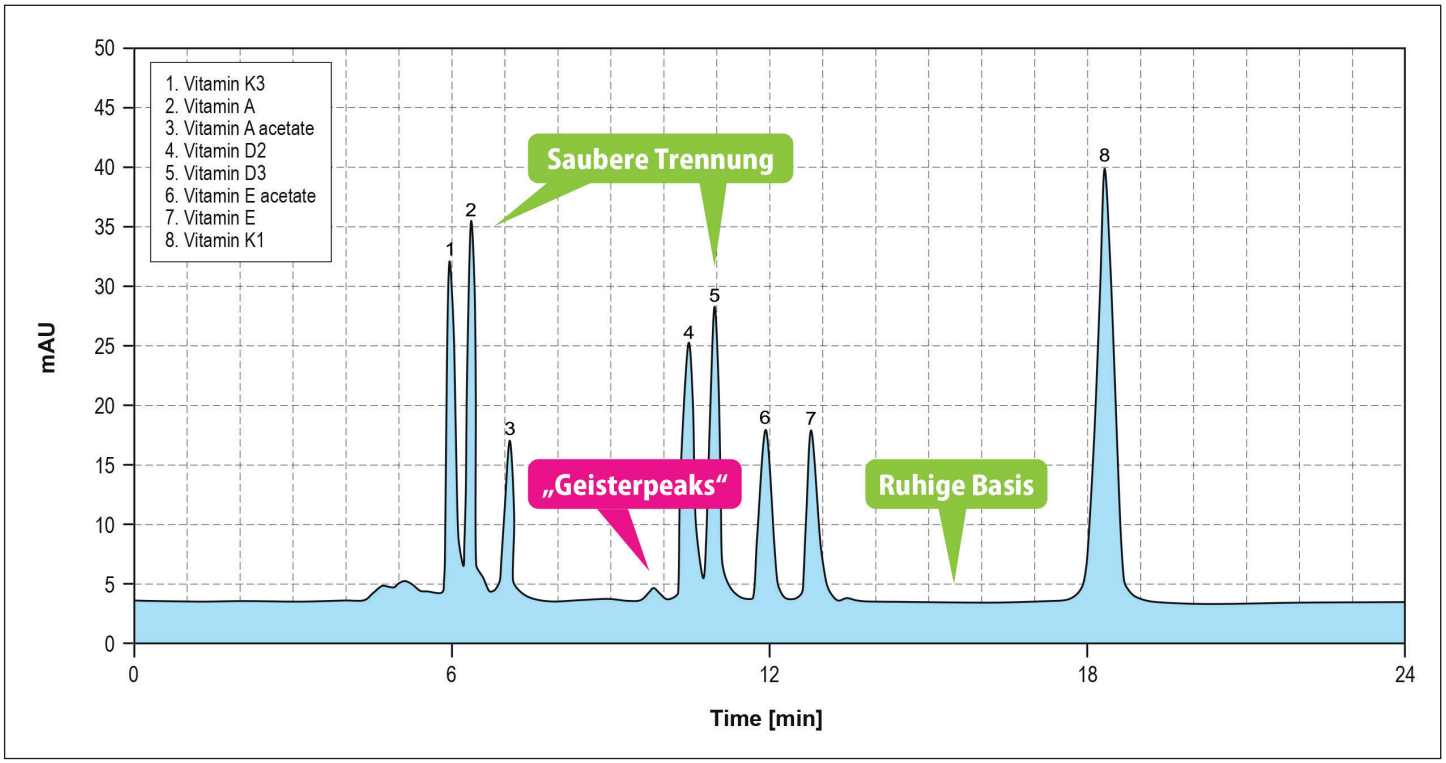


Bild 3: *selbst bei der sorgfältigsten Analytik können Geisterpeaks oder Unreinheiten auftauchen. Die „perfekte“ Trennung erreicht man selten. Ergänzend zu einer guten Methodenentwicklung lassen sich jedoch viele Störfaktoren durch saubere Lösungsmittel- und Probenvorbereitung auf ein Minimum reduzieren.*

Sichere Lösungsmittel als Teil guter HPLC-Methodenentwicklung

Bei der Entwicklung einer HPLC-Methode gibt es vieles zu bedenken: die geeignete **Säule**, das richtige **Lösungsmittel**, **Temperatur**, **Druck**, **Detektionswelle** und andere Einflussgrößen sind zweifellos von Bedeutung.

Doch eine **saubere Lösungsmittelversorgung** ohne Verdunstung ist ebenso wichtig wie diese Parameter. Selbst die sorgfältigste Methode kann durch verunreinigte Lösungsmittel in einen falschen Takt geraten. Unvorhersehbare und unzuverlässige Ergebnisse sind die Folgen. Je präziser die Analytik, desto gravierender wirkt sich ein einzelner Schmutzpartikel aus.

Weitere Probleme durch Verunreinigung oder Verdunstung

Abseits der offensichtlichen Auswirkungen auf das Chromatogramm und die Analyseergebnisse können Verunreinigungen und Verdunstung subtile, aber bedeutsame Probleme verursachen. Zum Beispiel kann die **Stabilität der Säule** gefährdet sein, was zu kürzerer Lebensdauer und damit zu höheren **Kosten** führt. Jeder weiß, was eine gute Säule kostet, wenn man nicht gerade eine „Micky-Maus-Analytik“ fährt.

Zudem kann die **Reproduzierbarkeit** der Methode beeinträchtigt werden, was die Übertragbarkeit zwischen verschiedenen Laboratorien oder Geräten erschwert. Letztendlich bedrohen Verdunstung und Verunreinigung die Genauigkeit und Zuverlässigkeit von HPLC / UHPLC-Analysen wie eine unsichtbare Hand.

Wer das Zusammenspiel sauberer, stabiler Lösungsmittel mit den anderen Parametern einer zuverlässigen Analytik versteht, kann sich in der faszinierenden Welt der HPLC / UHPLC sicher bewegen. Nur durch sorgfältige Beachtung dieser „unsichtbaren“ Faktoren können die wissenschaftlichen Tänzer im Labor einen präzisen Tango auf's Parkett legen - und die zuverlässigen Ergebnisse erreichen, die sie suchen.

Autor. Jan Rittgasser
Leiter Marketing &
Unternehmenskommunikation
SCAT Europe GmbH