

Der HPLC-Tipp im März

Ist ein zusätzliches Entgasen notwendig?

©Dr. Stavros Kromidas, www.kromidas.de

Der Fall

Im HPLC-Umfeld wird immer wieder die Frage diskutiert, ob denn für das Entgasen der mobilen Phase der eingebaute Degasser ausreicht. Ist in etwa ein zusätzliches Entgasen im Ultraschallbad sinnvoll/notwendig?

Die Lösung

Ich habe mich mit dieser Frage beschäftigt und dazu einige Experimente durchgeführt. Nachfolgend in verdichteter Form die Ergebnisse:

- Ein technisch ordnungsgemäß funktionierender Degasser reicht in der Regel vollkommen aus – vorausgesetzt, die Schläuche bzw. Membrane sind neu, denn: Mit der Zeit entstehen Mikrorisse, jene führen dazu, dass erstens kein gutes Vakuum erzeugt werden kann und dass zweitens Bestandteile der mobilen Phase an der dort größer gewordenen Oberfläche adsorbiert werden können, Ergebnis: Memory Effekt und folglich Geisterpeaks. Schlussfolgerung: Man sollte die Membrane als ein Verschleißteil ansehen und abhängig vom Betrieb der HPLC-Anlage diese alle 3-4 Jahre austauschen
- Für den Fall von sehr anspruchsvollen Messungen, z. B: Spurenanalytik mit vielen Peaks bei sehr niedrigen Wellenlängen, gilt: Ein zusätzliches Behandeln des Eluenten im Ultraschallbad bzw. das Entgasen mit Helium bringt eine (kleine) Verbesserung, siehe Abbildung 1. Die UV-Absorption bei ca. 1,8 min wurde gegenüber dem Entgasen lediglich mit dem Degasser von ca. 0,0005 AU auf ca. 0,0001-0,0003 AU herabgesetzt.

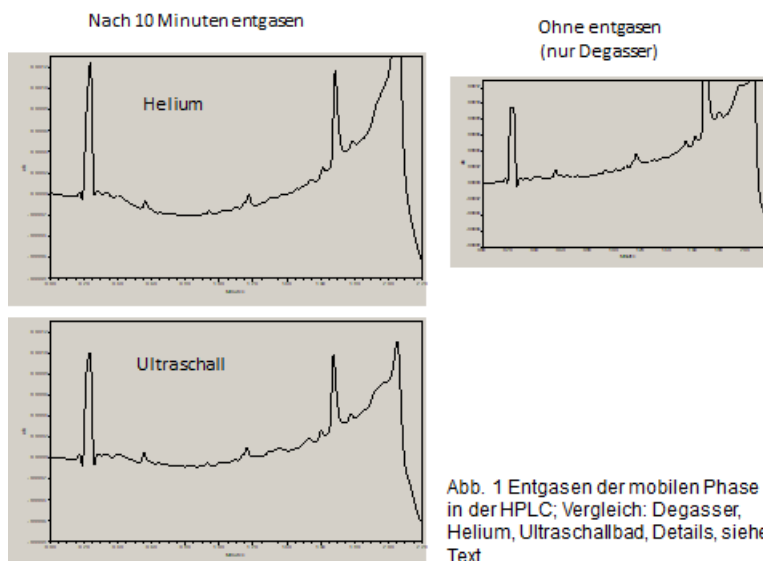


Abb. 1 Entgasen der mobilen Phase in der HPLC; Vergleich: Degasser, Helium, Ultraschallbad, Details, siehe Text

Drei Bemerkungen zum zusätzlichen Entgasen:

- 5-10 min sind genügend, längere Behandlungszeiten sind kaum von Vorteil – im Gegenteil: Das organische Lösungsmittel kann im Ultraschallbad verdampfen und Verunreinigungen aus der Heliumleitung können im Eluenten angereichert werden
 - Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Ultraschallbad und Heliumbegasung bzgl. Effektivität festgestellt werden
 - Sollte das maximal mögliche Ergebnis angestrebt werden: Argon dürfte effektiver als Helium sein, da es schwerer ist und die Flüssigkeitsoberfläche besser bedeckt
- Um die Effektivität solcher Experimente zu vergleichen wird oft ein Blindgradient bei niedriger Wellenlänge gefahren. Ein solches Experiment sollte stets mit einer neuen bzw. sehr gründlich gereinigten Säule durchgeführt werden, siehe dazu Abbildung 2: Auf der linken Seite wird der Verlauf an einer alten, auf der rechten Seite an einer neuen Säule gezeigt: Ein Anstieg der Basislinie kann fälschlicherweise einem nicht-luftfreien Eluenten zugesprochen werden. Es kann jedoch sein, dass einfach Verunreinigungen von der alten Säule heruntergespült werden, die just bei dieser Wellenlänge sichtbar werden.

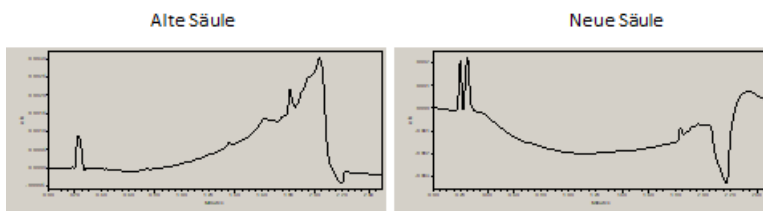


Abb.2 Merke: Das Experiment mit einem „Blindgradienten“ bzw. mit einer „Null-Injektion“ sollte stets mit einer neuen bzw. gründlich gespülten Säulen durchgeführt werden, Details, siehe Text

Das Fazit

Qualifizierte Degasser mit überprüften/neuen Membranen und insbesondere bei Flussraten unterhalb ca. 1,5 ml/min machen sehr gute Dienste. Ein zusätzliches Behandeln im Ultraschallbad bzw. das Entgasen mit Helium/Argon kann eine Verbesserung bringen, dies ist jedoch nur in bestimmten Fällen vonnöten. Ein Anstieg der Basislinie und zusätzliche Peaks sollten nicht vorschnell mit Luft im Eluenten in Verbindung gebracht werden.