

Der HPLC-Tipp im Juli/August

Dr. Stavros Kromidas, Blieskastel

Vials als Quelle für Geisterpeaks

Vials – Glas-/Polymerkörper, Septen, Kappen – können eine Quelle für Geisterpeaks sein; nachfolgend skizziere ich einige Ursachen sowie mögliche Tests zum Erfassen und ggf. Lokalisierung des Problems.

- Mehrfache Injektion aus einem vial; erste Injektion OK, zweite und dritte, Geisterpeaks, vierte OK. Man kann schier verzweifeln...

Eine mögliche Erklärung: Bei der ersten Injektion durchsticht die Nadel das erste Mal das frische Septum, es wird injiziert, alles bestens. Nach der Injektion erfolgt üblicherweise ein Purgen der Nadel. Bei der anschließenden zweiten Injektion befindet sich durch das Purgen womöglich Restlösungsmittel an der Oberfläche der Nadel. Jenes Lösungsmittel kann nun an der jetzt frei gewordenen Septum-Oberfläche an der Stichstelle Hilfsstoffe aus dem Septum herauslösen, die als kleine Zusatzpeaks erscheinen. Dies passiert vielleicht nur 1,2 Mal, denn: Die Konzentration dieser Hilfsstoffe ist gering, nach der vierten oder fünften Injektion sind sie „weg“, ab jetzt sind keine Geisterpeaks mehr zu sehen

- Die Probe befindet sich im Kühlschrank. Um einen Temperatur- und somit einen Konzentrationsgradienten im vial zu verhindern wird jenes gründlich durchgeschüttelt. Je nach Lösungsmittel in der Probelösung können Hilfsstoffe aus der Unterfläche des Septums herausgelöst werden – es erscheinen Geisterpeaks
- Teflon auf Gummi bei neuen Septen: Geisterpeaks
- Folgendes Problem dürfte nur bei älteren Materialien auftauchen, dennoch möchte ich es nicht unerwähnt lassen: Naturkautschuk-Septen „bluten“ stark
- Frische Silikon-Septen quellen beim ersten Berühren mit Acetonitril; Butylmonomere können herausgelöst werden
- Seit einigen Jahren werden wg. REACH keine Phthalate mehr als Weichmacher verwendet; damit das Material dennoch weich wird und verarbeitet werden kann, wird Aluminium- bzw. Magnesium-Silikat zugesetzt. Dies kann gerade bei Ionenaustauschern (SCX und Biomoleküle) zu Problemen führen
- 1 kg Kieselgel kostet ca. 2 Dollar, 1 kg Silicon ca. 150 Dollar; mancher Hersteller „optimiert“ aus verständlichen Gründen den Herstellungsprozess der Septen, je nach Konzentration von Siloxan-Monomeren können zeitweise (!) Zusatzpeaks erscheinen
- Herstellung von Septen: Ziegler-Natta-Katalysatoren bleiben im Werkstoff, so

beispielsweise Gold, Platin, Iridium, Palladium, Rhodium: Bei einer UV-Detektion sind sie weitgehend unproblematisch, bei einer LC-ICP-MS-Kopplung schon

- Die Art der Analytik bestimmt, ob besondere Vorsicht geboten ist, z. B: Für eine Phthalat- oder Flüssigkristall-Analytik oder Trennung von halogenierten Komponenten sollte man Polymer-frei arbeiten, eine Teflonbeschichtung ist ebenso wie „Plastik“vials ein „no-go“. Hier wären beispielsweise Aluminiumsepten sowie silanisierte Glas-vials/Plates angebracht. So sollten Eppi-vials vor allem bei längeren Sequenzen sicherheitshalber nur mit wässrigen Lösungen verwendet werden
- Kappen; sie sind aus PE oder PP, bei der Endreinigung werden Teflon- oder Silikonspray bzw. Entfettungsmittel verwendet. Spuren davon können bei frischen vials zu Geisterpeaks führen

Ein Vorschlag zu Beginn einer neuen Applikation/eines neuen Projektes:

Man sollte gezielt testen, inwieweit Substanzen unter den aktuellen Bedingungen der Methode aus den vials/Septen herausgelöst werden könnten. Ob also letzten Endes die vorgesehenen Utensilien für die aktuelle Methode geeignet sind. Hier drei mögliche Tests:

- Das Probemilieu (Diluent, Probelösung) wird direkt injiziert; zusätzlich wird es über Nacht im vial (Glas, Eppi) bzw. Plates usw. stehen gelassen und am nächsten Morgen erneut injiziert. Die zwei Chromatogramme werden nun verglichen
- Alternative: Das Probemilieu wird in einem vollen vial ca. eine Stunde lang im Ultraschallbad behandelt. Auch wenn das vial üblicherweise routinemäßig nur zu 2/3 gefüllt wird, sollte man hier das Worst-Case-Senario testen
- Die Septen und die Kappen werden getrennt im Probemilieu bzw. die Septen in der vorgesehenen Purgeflüssigkeit ca. 15 min lang bei 35 °C im Ultraschallbad behandelt und die Lösung anschließend injiziert

Die gewählte(n) Prozedur(en) sollte(n) sinnvollerweise bei jeder neuen Lieferung/Charge von vials/Septen/Kappen wiederholt und die Ergebnisse dokumentiert werden.