

Der HPLC-Tipp im Januar / Februar 2016

Peaky und Chromy kurz vor Jahresende - die richtigen Antworten zum „Lügenbuch“ von Peaky

von Dr. Stavros Kromidas, Saarbrücken

Peaky ist dabei, ein HPLC-„Lügenbuch“ zu verfassen. Welche der nachfolgenden Aussagen sind richtig und welche nicht? Hier die Antworten:

- *„Bald wird es HPLC-Säulen aus dem 3D-Drucker geben, dadurch erscheinen 1.000.000 Böden keine Utopie mehr“*
 - Nicht unbedingt eine Lüge, Erläuterung: „Getrennt wie gedruckt“ könnte demnächst Realität werden: Es wird damit gerechnet, dass HPLC-Säulen in absehbarer Zeit mithilfe der 3D-Drucker-Technologie „gedruckt“ werden. Durch eine nahezu identische Größe von $\leq 1,5 \mu\text{m}$ -Teilchen (engste Korngrößenverteilung), deren perfekten Anordnung in der Säule sowie einer nahezu perfekten Säulenhardware wären 1.000.000 Böden keine Utopie mehr, die LC nähert sich bzgl. Effizienz der Kapillar-GC.
- *„Bald wird es einen Detektor geben, der gleichzeitig nach drei Messprinzipien arbeitet, Spezifität und Empfindlichkeit nehmen drastisch zu“*
 - Auch dies ist nicht unbedingt eine Lüge, folgender Hinweis dazu: Die Firma Fibepa arbeitet an einem Raman-Detektor für die HPLC (Vortrag von Björn Fischer auf der NOVIA-Analytiktag 2015). Technisch wäre denkbar, dass in 2-3 Jahren kommerzielle Geräte angeboten werden, in denen drei Spektroskopie-Techniken geeint sind: Raman, Fluoreszenz und UV. Die Spezifität der Raman-Spektroskopie sowie die Empfindlichkeit der Fluoreszenz-Spektroskopie gepaart mit dem Stellenwert und „Universalität“ der UV-Spektroskopie eröffnen – vielleicht in serieller Kopplung mit einem einfachen, robusten MS-Detektor – neue Möglichkeiten in der Analytik.

- *„Bald werden durch Weiterentwicklung der heutigen Hybridtechnologie Kieselgele hergestellt werden können, die in einem pH-Wert-Bereich von 1-14 stabil sein werden“*
 - Das ist in der Tat eine Lüge, Erläuterung: Solange die Matrix eine Kieselgel-Matrix ist, wird sie im alkalischen nicht stabil sein können, denn Kieselgel wird im alkalischen aufgelöst. Sehr wohl können Materialien durch allerlei „Tricks“ im alkalischen stabiler gemacht werden – aber eben, „stabiler“ und nicht „stabil“. Eine 100%-ige Alkalistabilität ist nur durch alternative Matrices wie beispielsweise Polymere, Titandioxid und porösen Kohlenstoff zu erreichen.
- *„In der Zukunft wird sich Wasser bzw. Wasserdampf als interessanter Eluent erweisen – sowohl für polare als auch für apolare Komponenten“*
 - Wenn überhaupt, ist es eine „halbe“ Lüge, Erläuterung: Wasser kann unter bestimmten Bedingungen teilweise in der Tat als der „ideale“ Eluent angesehen werden, denn: Wasser ist umweltfreundlich; in Wasser können bei entsprechendem pH-Wert und Puffer polare Komponenten selektiv getrennt werden; bei hohen Temperaturen (oder in Form von Wasserdampf) wird Wasser recht „hydrophob“, auch organische Verbindungen können dort aufgelöst und in einem Temperaturgradienten chromatographiert werden.
- *„Man kann mit Fluss und Säulenlänge Selektivitäten beeinflussen“*
 - Das ist keinesfalls eine Lüge – jedenfalls nicht im Falle von Gradiententrennungen, denn: Während bei isokratischen Trennungen physikalische Parameter wie Fluss und Säulenlänge lediglich die Retentionszeit und die Bodenzahl beeinflussen, können diese im Falle von Gradiententrennungen darüber hinaus auch die Elutionsreihenfolge und die Selektivität beeinflussen.
- *„Ein Totvolumen vor der Säule und am Säulenkopf stellt bei isokratischen Trennungen kein ernstes Problem dar, ein solches am Ende der Säule wäre dagegen bei Gradienten-Trennungen nicht so tragisch“*
 - Peaky ist hier eine raffinierte Lüge gelungen: Ein Totvolumen vor der Säule – also noch vor Beginn des Trennungsprozesses – stellt nur für sehr früh eluierende Peaks ein ernstes Problem dar, unabhängig davon, ob es sich um eine isokratische oder eine Gradiententrennung handelt. Ein Totvolumen am Säulenkopf dagegen führt nur bei isokratischen Trennungen zu einer Bandenverbreiterung: Durch die zunehmende Diffusion der Substanzzone in Richtung Säulenausgang nimmt die Bandenverbreiterung zu. Am Ende der Säule spielt ein Totvolumen kaum eine Rolle – der Peak kommt dort eh „breit“ an. Kommen wir nun zum Gradienten: Dort erfolgt durch die permanente Erhöhung des organischen Anteils eine Suppression der Substanzzone, eine Peakverbreiterung wird

kaschiert – der Peak bleibt auch im Falle von Totvolumina und „schlecht“ gepackten Säulen schmal. Ein Totvolumen am Säulenende kann sich allerdings schon bemerkbar machen, denn der Gradient hat hier kaum Zeit etwas dagegen zu unternehmen, denn die Substanzzone ist - um das Totvolumen verbreitert – im Nu am Detektor.

- *„Eine serielle Kopplung Fluoreszenz-Massenspektrometrie ist nicht praktikabel, da erstens der Fluoreszenz-Detektor stark Temperatur-abhängig ist und zweitens die Anregung der Moleküle mit Fluoreszenz deren späteren Ionisierung stört“*
 - Das ist eine der besten Lügen, die Peaky sich überlegt hat...
Beide „Einwände“ sind irrelevant, FLD-MS ist eine sehr interessante Kopplung in dem ich die jeweiligen Vorteile der zwei Detektoren (Empfindlichkeit und Spezifität) für eine Quantifizierung im unteren Konzentrationsbereich nutzen kann.
- *„Lange, dünne Kapillaren gefüllt mit monolithischem oder Core-Shell-Material stellen den Stand der Technik dar, wenn es um maximale Bodenzahl geht“*
 - Keine Lüge, im Gegenteil 100% richtig: Mit monolithischem bzw. Core-Shell-Material bleibt der Druck in Grenzen. Weil ich dadurch sehr lange Säulen/Kapillaren verwenden kann, erreiche ich sehr hohe Bodenzahlen.

Wenn also sein Buch ausschließlich Lügen enthalten soll, müsste Peaky sich schon ein Stückchen weit mehr anstrengen...