

Der HPLC-Tipp im September

Die Kleinen im Sommer – Ursachen für Geisterpeaks

von Dr. Stavros Kromidas, Blieskastel

Der Fall

Geisterpeaks sind immer wieder ein Problem – leider. Obschon an dieser Stelle häufig behandelt, möchte ich erneut das Thema aufgreifen und weiter unten ein paar eher seltenere Ursachen für plötzlich auftauchende Peaks schildern. Welche wären das?

Die Lösung

Vorbemerkung:

Bei auftretenden Problemen frage ich die KollegInnen generell als erstes: „Habt ihr irgendetwas geändert, gab es etwaige räumliche Änderungen/Ereignisse, die mit dem Auftauchen des Problems zeitlich zusammen fallen“? Und dann kommt als Antwort, oft viel zu schnell: „Nein“. Bevor dieses „nein“ kommt, überlegen Sie sich bitte, ob vielleicht doch HPLC-relevante Sachen geändert wurden bzw. etwas „aus-der-Reihe“ passiert ist oder einfach anders läuft. Nachfolgend beispielhaft einige Ereignisse, die man ggf. ernst nehmen sollte:

- Im Nachbarlabor gab es einen Brand; was glauben Sie wie lange und wo überall Rus sich hartnäckig verstecken kann...
- Der Flur wurde neulich gestrichen
- Neue Plastikutensilien (Weichmacher!), aber auch anderes Spülmittel, neues Ultraschalbad
- Δ Schleife oder Δ Säulendimensionen bei Gradiententrennungen; das unterschiedliche Verweil- bzw. Säulenvolumen kann zu einer Änderung/Verbesserung der Auflösung führen, es tauchen jetzt mehr Peaks auf. Oder aber die vorgesehene Spülzeit nach dem Lauf (z. B. 5 min 100 % ACN halten) stimmt aufgrund des unterschiedlichen Verweilvolumens nicht. Nun, es können nicht alle Verunreinigungen herunter gespült werden, sie erscheinen irgendwann später im Chromatogramm oder bei den nächsten Läufen – eben als Geisterpeaks
- Unterschiedliche Handhabung von Handschuhen; „Natürlich verwenden wir Handschuhe“, „Wir auch“, prima doch – oder? Einige Bemerkungen dazu:
 - Es kann etwas ausmachen, ob blaue, graue oder grüne Einmal-Handschuhe verwendet werden
 - Manch´ ein Mensch zieht die Handschuhe morgens an und behält sie „ewig“. Dabei x-mal Tür- oder Schubladengriffe berührt, mehrere Chemikalien angefasst, Zigarettenpause mit den Handschuhen gemacht – alles schon erlebt... Also hier evtl. Probleme
 - Manch´ einer verwendet nicht Einmal-Handschuhe sondern Gummihandschuhe, er wäscht permanent die Hände (mit den Handschuhen). Womöglich keine Probleme
 - Ein Dritter verwendet gar keine Handschuhe, wäscht sich jedoch stets die Hände. Auch hier keine Probleme

Zum Schluss kleine, einmalige Handgriffe, das ist der schwierigste Fall was Ursachenforschung betrifft:

- Der Schlauch im Vorratsgefäß ist herausgerutscht, man/frau drückt ihn wieder hinein. Mögliche Kontaminationen an den Händen/Handschuhen bleiben an der Schlauchoberfläche hängen und gelangen somit in den Eluenten
 - Die Verbindung zur Säule wird wegen eines erhöhten Druckes undicht. Man drückt das Ferrule etwas tiefer und zieht das Fitting etwas fester an. Mögliche Kontaminationen an den Fingern (mit oder ohne Handschuhen) bleiben ähnlich wie weiter oben am Ende der Kapillare hängen, gelangen in die Säule und anschließend zum Detektor und schon haben wir Geisterpeaks. Der „Spuk“ ist allerdings in solchen Fällen meistens schnell vorbei
 - Ein vial ist umgefallen, beim Aufrichten wird das Septum in der Mitte – wo später die Nadel durchsticht – berührt, die anderen vials sind nur am Glaskörper und/oder am Deckelrand berührt worden. Geisterpeaks erscheinen nur bei Injektionen aus besagtem vial
- Die Liste kann leider beliebig weiter geführt werden...

Das Fazit

Die HPLC ist eine empfindliche Methode – ein Fluch und ein Segen zugleich. Nehmen Sie kleine Veränderungen ernst und gehen Sie mit Ihren geistigen Augen *alle* Schritte, Handlungen und Ereignisse durch, seit das Problem mit den Geisterpeaks aufgetaucht ist.