Großvolumige Injektionen

Lernprogramm für den Agilent Multimodus-Einlass (MMI)

Hot Splitless 2
Cold Splitless 3
Lösungsmittelentlüftung 4
Lernprogramm 5

Immer mehr Forscher untersuchen derzeit Verfahren zu großvolumigen Injektionen (LVI) zur Verbesserung von vorhandenen Analyseverfahren. Bei herkömmlichen Injektionsansätzen der Kapillar-Gaschromatographie können die meisten Einlässe und Säulen jeweils nur einen oder zwei Mikroliter verarbeiten. Versuche, das Injektionsvolumen zu erhöhen, führen zu verbreiterten und verzerrten Analyt-Peaks, großen und langen Lösungsmittel-Peak-Rückständen und gesättigten oder beschädigten Detektoren.

Um die Spurenanalyse zu verbessern, liegt es nahe, das Injektionsvolumen zu erhöhen. Durch die Einführung eines größeren Probenanteils in das System wird die Analytmasse, die den Detektor erreicht, proportional erhöht, was zu größeren Peak-Bereichen und Peak-Höhen führt. Wenn das Basislinienrauschen konstant gehalten wird, führen höhere Peak-Höhen zu größeren Signal/Rausch-Verhältnissen und niedrigeren Systemerkennungsgrenzwerten. Ein weiterer Vorteil von LVI besteht in der Möglichkeit, die ursprünglich verarbeitete Probenmenge zu reduzieren. Beispiel: Eine Wasserprobe enthält Schadstoffe von 1.000 ng/l. Wenn der Schadstoff nach dem derzeitigen Verfahren extrahiert und in einem Milliliter Lösungsmittel wiederhergestellt wird, beträgt die Konzentration des Analyten im Extrakt 1.000 ng/ml. Bei einer Injektion von einem Mikroliter dieses Extrakts gelangt 1 ng auf die Säule. Nehmen wir nun an, die LVI ermöglicht ein Injektionsvolumen von zehn Mikrolitern. Der Experimentator könnte mit einer Probe von 100 ml beginnen, diese mit weniger Lösungsmittel extrahieren und in einem Milliliter wiederherstellen. Bei einer Injektion von zehn Mikrolitern gelangt wie zuvor 1 ng auf die Säule, sie beginnt jedoch mit einer kleineren Probe (und wahrscheinlich mit weniger Extraktionslösungsmittel). Ein weiterer Vorteil bei der Verwendung von LVI liegt darin, dass

den Detektor weniger Lösungsmittel erreicht. In der Regel treten nur 10-30% des Injektionslösungsmittels tatsächlich in die Säule ein und erreichen den Detektor.

Die LVI kann für Injektionsvolumen angewendet werden, die von wenigen Mikrolitern bis zu einem Milliliter oder mehr reichen. Bei den meisten LVI-Ansätzen wird das Probenlösungsmittel selektiv verdampft und aus dem Einlasssystem entfernt, bevor die Analyte auf die Trennsäule übertragen werden. In diesem Sinne ähnelt die LVI der Stickstoff- oder Rotationsverdampfung des Lösungsmittels, bietet jedoch den Vorteil, dass sie im GC-Einlass und nicht in einem Abzug durchgeführt wird. Analyte, die bei der Stickstoffverdampfung verloren gehen würden, bleiben im Einslass erhalten und können erfolgreich über die LVI analysiert werden. Darüber hinaus kann der LVI-Vorgang automatisiert und reproduzierbar gemacht werden. Wie auch bei den anderen Verdampfungstechniken ist der LVI-Ansatz eine Funktion des Lösungsmitteltyps, der Einlasstemperatur, des Auslassflusses des Verdampfungsgases und des Analyt-Siedepunktes. Darüber hinaus wirken sich der Einlassdruck während der Verdampfung und der Einlass-Liner auf die Rate der Lösungsmittelentfernung und Analytwiederherstellung aus. Auf diese Parameter wird im Lernprogramm noch näher eingegangen.

Hot Splitless

Bei den derzeitigen LVI-Verfahren setzen die Experimentatoren vorwiegend die Hot Splitless-Injektion ein. Diese bewährte und zuverlässige Probeneinführungsmethode hat fast 40 Jahre die nötigen Anforderungen erfüllt, sie stellt jedoch einige Schwierigkeiten in Bezug auf die Probenintegrität und Methodenentwicklung dar. Zunächst muss der Einlass heiß genug sein, damit eine Schnellverdampfung von Lösungsmittel und Analyten erfolgen kann, sodass die resultierende Dampfwolke auf die Säule übertragen werden kann. Das Volumen des Inlet-Liners muss ausreichend groß sein, um diese Dampfwolke beinhalten zu können. Wenn das Liner-Volumen zu gering ist, kann die verdampfte Probe aus dem Liner treten und reaktive Oberflächen erreichen, was zu Analytverlusten führt. Darüber hinaus kann die von der verdampften Probe erzeugte Druckwelle gegen das eingehende Trägergas drücken und in empfindliche Druck- und Flusssteuerungssysteme eintreten. Unter Verwendung des Agilent Druck-/Flussrechners erfolgt bei einer Injektion mit einem Mikroliter Azeton in einen Einlass bei 240 °C und 14,5 psig eine Erweiterung auf 288 µl Gas. Die

meisten Einlass-Liner für standardisierte Split-/Splitless-Einlässe verfügen über ein nominales Volumen von einem Milliliter. Eine Erhöhung des Injektionsvolumens auf nur 3,5 µl erzeugt unter diesen Bedingungen eine Dampfwolke von einem Milliliter, die schnell zu einem Überlauf des Einlass-Liners führen kann.

Hot Splitless-Injektionen erzeugen zudem eine schwierige Umgebung für thermisch instabile Analyten. Verbindungen wie z. B. die Organochlorpestizide DDT und Endrin können neu angeordnet werden, um aufgebrochene Verbindungen zu bilden. Dieser Prozess wird mit den Einlasstemperaturen beschleunigt, die in der Regel zu deren Analyse verwendet werden. Eine effektive chemische Deaktivierung des Liners kann ein Aufbrechen des Analyten verhindern. Hohe Einlasstemperaturen können jedoch die Lebenszeit von deaktivierten Linern verkürzen.

Eine weitere Herausforderung von Hot Splitless-Injektionen ist die Nadelfraktionierung oder Analyt-Diskriminierung. Die Nadeltemperatur erhöht sich bei der Übertragung der Probe aus der Spritze in den Einlass, da die Nadel mit dem Septum in Kontakt ist. Der Anstieg der Nadeltemperatur kann dazu führen, dass das Lösungsmittel verdampft und sich stark verdampfende Analyte in der Nadel ablagern. Um dieses Fraktionierungsproblem zu vermeiden, bringen einige Experimentatoren zunächst einen Lösungsmittelpfropfen in der Spritze an und entnehmen anschließend das gewünschte Probenvolumen. Auf diese Weise soll der Lösungsmittelpfropfen alle Ablagerungen in den Einlass spülen. Eine effiziente Methode, dieses Problem zu beheben, ist die Durchführung einer Hochgeschwindigkeitsinjektion. Auf diese Weise wird die Zeit minimiert, in der die Nadel mit dem Septum in Kontakt ist und die Probe die Nadel berührt. Selbst bei diesen Schwierigkeiten kann die Hot Splitless-Injektion die notwendigen Anforderungen erfüllen. Alternativ können diese Probleme z. B. mit dem Cold Splitless-Injektionsverfahren behoben und die Analyseergebnisse verbessert werden.

Cold Splitless

Der Agilent Multimodus-Einlass (MMI) verwendet dieselben Liner und Verbrauchsmaterialien wie ein standardmäßiger Split-/Splitless-Einlass, sodass diese mit vorhandenen Hot Split- und Splitless-Methoden kompatibel sind. Durch dessen Temperatur-Programmierbarkeit können jedoch auch Cold Split- und Splitless-Analysen durchgeführt werden. Im Cold

Splitless-Modus kühlt der MMI auf eine Temperatur unter dem normalen Siedepunkt des Probenlösungsmittels ab, sodass bei der Injektion der Probe keine Verdampfung erfolgt. Bei dieser Injektion wird lediglich Flüssigkeit aus der Spritze in den Einlass übertragen. Sobald die Spritze aus dem Einlass entfernt wurde, wird der Einlass erhitzt, damit die Probe verdampft und auf die Säule übertragen wird. Das Lösungsmittel verdampft zuerst und gelangt zur Säule, dabei kann die Analytfokussierung wie bei normalen Hot Splitless-Injektionen erfolgen. Die Analyte verdampfen nacheinander und werden an die Säule abgegeben. Der Hauptvorteil liegt darin, dass die Analyte bei der geringst möglichen Einlasstemperatur verdampfen und nicht bei einer konstant hohen Temperatur, wodurch der Wärmeverlust minimiert wird und trotzdem eine Vielzahl an Analyten verdampfen kann. Zudem beanspruchen Cold Splitless-Operationen den Liner thermisch nicht in so einem hohen Maße wie Hot Splitless-Operationen, wodurch deren Langlebigkeit erweitert wird. Darüber hinaus kann mit dem Cold Splitless-Verfahren die Probenmenge erhöht werden, die in vielen Fällen injiziert werden kann. Wenn ein langsames Einlasstemperaturprogramm verwendet wird, kann das Lösungsmittel langsam verdampfen und das Liner-Volumen läuft nicht über. Solange die Analyte erneut auf die Spalte fokussiert werden können, haben langsame Einlasstemperaturprogramme keine schädliche Auswirkung auf die Chromatographie.

Lösungsmittelentlüftung

Der Modus Lösungsmittelentlüftung bestimmt, wie der MMI LVI durchführt. Im Modus Lösungsmittelentlüftung wird der Einlass während der Probenanwendung auf einer geringen Anfangstemperatur gehalten. Pneumatisch gesehen befindet sich der Einlass im Split-Modus mit einem geringen Einlassdruck. Der Gasfluss durch den Einlass-Liner und hinaus durch die Lüftungsöffnungen entfernt das verdampfende Lösungsmittel. Die Probe wird injiziert, sodass die eintretende Flüssigkeit auf der Liner-Wand abgelagert wird und das Lösungsmittel bei ähnlicher Geschwindigkeit verdampft. Sobald die gesamte Probe injiziert wurde, wechselt der Einlass zur Analytenübertragung in einen Splitless-Modus. Der Einlass wird anschließend erhitzt, um die konzentrierte Probe und ggf. verbleibendes Lösungsmittel zu verdampfen und sie auf die Säule zu übertragen. Nach einem ausreichend langen Zeitraum zur Sicherstellung der Probenübertragung wechselt der Einlass in einen Spülmodus, um das verbleibende Material im Einlass-Liner zu entfernen. Während der Probeninjektion und

Lösungsmittelentlüftung wird der GC-Ofen auf einer geeigneten Temperatur gehalten, damit sich das Lösungsmittel erneut auf die Analyte auf der Säule fokussieren kann. Wenn die erneute Fokussierung abgeschlossen ist, wird der Ofen für die Durchführung der Trennung programmiert.

Lernprogramm

Sie können für dieses Lernprogramm eine aktuelle Hot Splitless-Methode oder die mit dem Gerät gelieferte Überprüfungsprobe verwenden. Im Lernprogramm wird die Flammenionisationsdetektor (FID)-MDL-Überprüfungsprobe (p/n 5188-5372) verwendet, um den Prozess der Methodenentwicklung zu demonstrieren. Diese Probe enthält vier Kohlenwasserstoffe (C13, C14, C15 und C16) in Isooktan. Die Flammenionisationserkennung wird verwendet, um Ihnen das LVI-Verhalten bei Analyten näher zu zeigen, die nahe des Lösungsmittels eluieren sowie das Lösungsmittel selbst.

Schritt 1 – Hot Splitless

Um Ihr System für Wiederherstellungsberechnungen zu kalibrieren, müssen Sie Ihre aktuelle Methode durchführen. Führen Sie im ersten Schritt zunächst nur die Probe mit Ihrer vorhandenen Hot Splitless-Methode durch oder verwenden Sie folgende Bedingungen für die FID MDL-Alkanmischung.

Spalte und Probe

Typ	HP-5, 30 m x 0,32 mm x 0,25 µm (19091J-413)
Probe	FID MDL-Überprüfung (5188-5372)
Säulenfluss	4 ml/Min.
Säulenmodus	Konstanter Fluss

MMI

Modus	Splitless
Einlasstemperatur	250 °C
Anfangszeit	5 Min.
Rate 1	0 °C/Min.
Spülzeit	2 Min.

MMI (Fortsetzung)

Spülfluss	60 ml/Min.
Septumspülung	3 ml/Min.

FID

Temperatur	300 °C
H2-Fluss	30 ml/Min.
Luftfluss	400 ml/Min.
Zusatzfluss (N2)	25 ml/Min.
Lit-Offset	Normalerweise 2 pA

Ofen

Anfangstemperatur	50 °C
Anfangszeit	2 Min.
Rate 1	20 °C/Min.
Finale Temperatur	200 °C
Finale Zeit	0 Min.

Ofen

Probenspülungen	2
Probenpumpen	6
Injektionsvolumen	1 µl
Spritzengröße	10 µl
PreInj Lösungsmittel A Spülungen	3
PreInj Lösungsmittel B Spülungen	3
PostInj Lösungsmittel A Spülungen	3
PostInj Lösungsmittel B Spülungen	3
Viskositätsverzögerung	0

Ofen (Fortsetzung)

Kolbengeschwindigkeit	Schnell
Vorinjektions-Verweildauer	0
Nachinjektions-Verweildauer	0

Datensystem

Datenrate	20 Hz

Sie möchten eine Probe ggf. 2- bis 3-mal durchführen, um einen Durchschnitt für die Peak-Bereiche zu ermitteln. Abb. 1 zeigt die typischen Ergebnisse für die FID MDL-Probe unter diesen Bedingungen an.

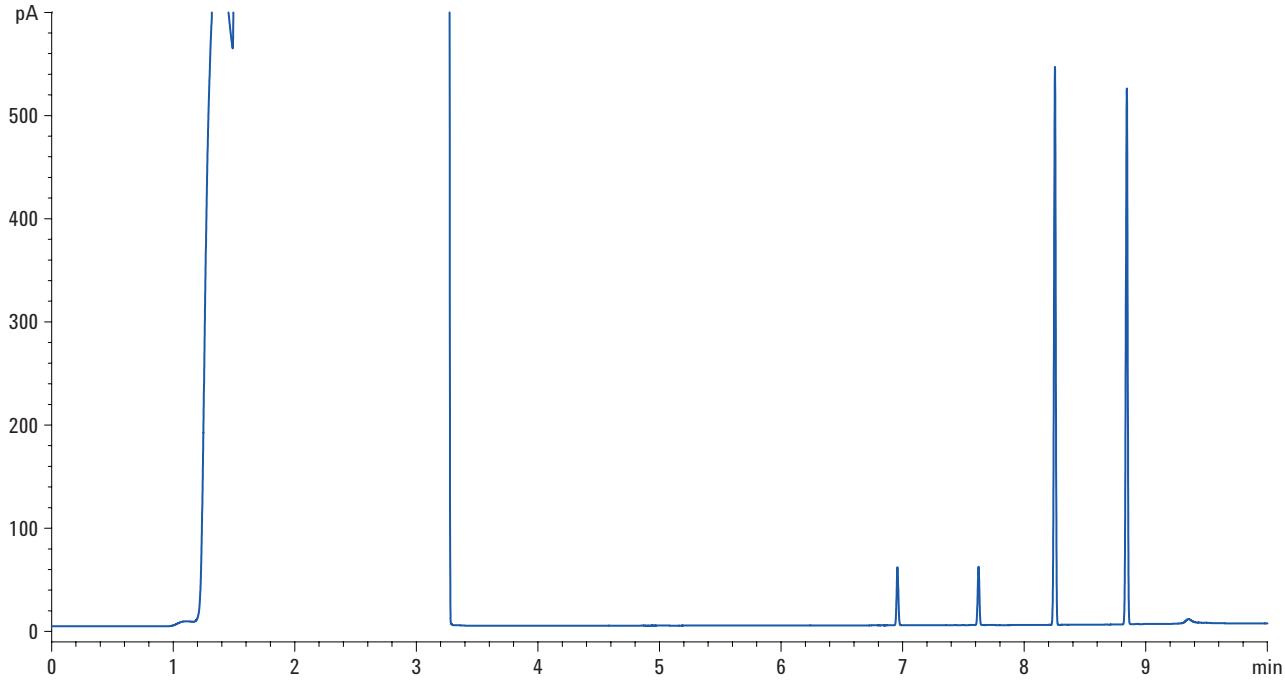

Abb. 1 Typische Ergebnisse einer Hot Splitless-FID MDL-Probe

Schritt 2 – Cold Splitless

Zur Durchführung einer Cold Splitless-Analyse müssen Sie die Einlasstemperatur ändern. Legen Sie die Anfangstemperatur des Einlasses auf 5-10 °C unter dem normalen Siedepunkt Ihres Probenlösungsmittels fest. Halten Sie diese Temperatur 0,1 Minute

lang und programmieren Sie den Einlass auf 720 °C/Min. bis zur Einlasstemperatur für die Hot Splitless-Methode. Siehe hierzu nachfolgend die Bedingungen für die FID MDL-Methode (es werden nur die MMI-Bedingungen aufgeführt, die restlichen stimmen mit denen für die Hot Splitless-Methode überein).

MMI

Modus	Splitless
Einlasstemperatur	90 °C
Anfangszeit	0,1 Min.
Rate 1	720 °C
Finale Temperatur	250 °C
Finale Zeit	5 Min.
Spülzeit	2 Min.
Spülfluss	60 ml/Min.
Septumspülung	3 ml/Min.

Vergleichen Sie die Peak-Bereiche, Peak-Breiten und Peak-Formen für die Hot und Cold Splitless-Modi. Abb. 2 zeigt die typischen Cold Splitless-Ergebnisse für die FID MDL-Probe an. Die Ergebnisse dieser Probe sind im Hot und Cold Splitless-Modi nahezu identisch.

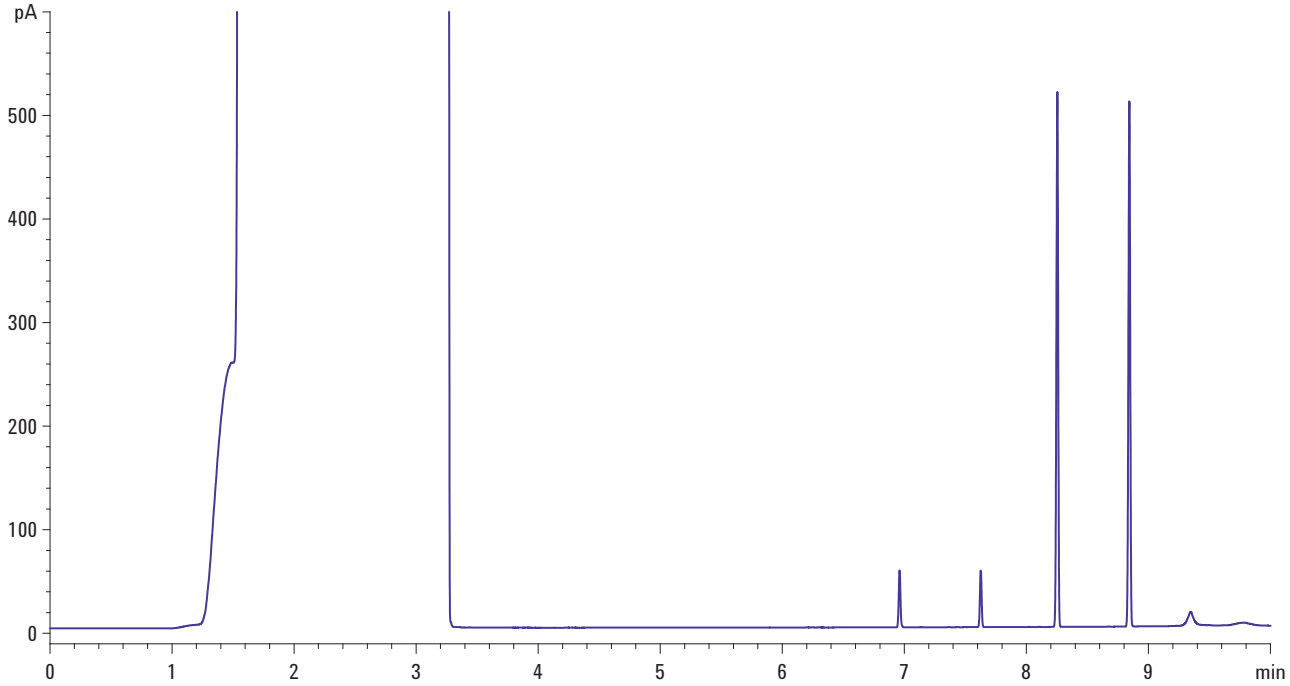

Abb. 2 Typische Ergebnisse einer Cold Splitless-FID MDL-Probe

Schritt 3 – Lösungsmittelentlüftung

Ändern Sie nun den MMI-Modus in Lösungsmittelentlüftung. Beachten Sie, dass die Schaltfläche **Solvent Elimination Calculator** angezeigt wird (Abb. 3).

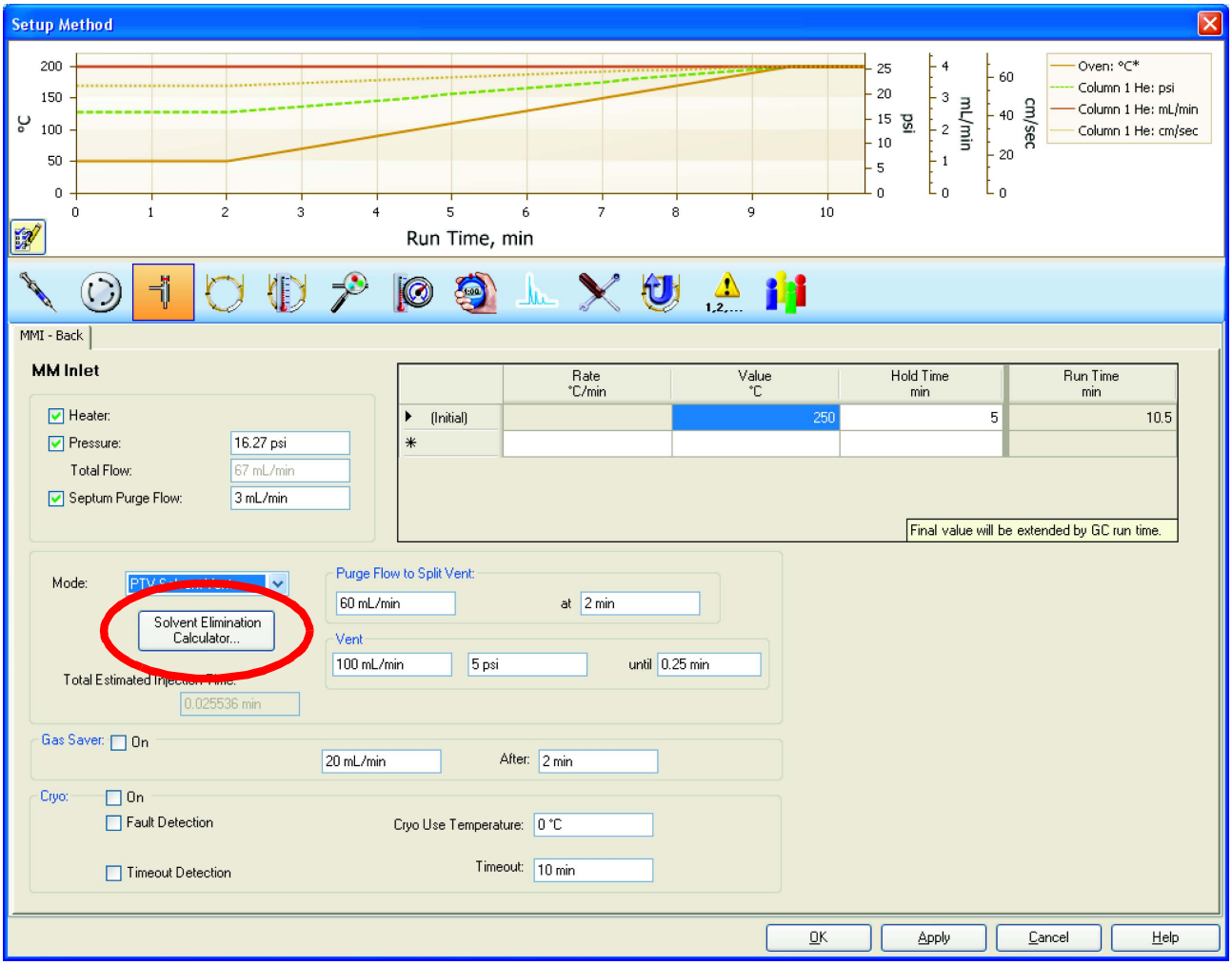

Abb. 3 Zugriff auf den Rechner für die Lösungsmitteleliminierung (Solvent Elimination Calculator)

Dieser Rechner wurde entwickelt, um Ihnen die Festlegung geeigneter Startbedingungen für Ihre LVI-Methode zu erleichtern. Klicken Sie auf die Schaltfläche **Solvent Elimination Calculator**, um den Rechner zu öffnen. Im ersten Fenster (Abb. 4) werden Sie zur Eingabe einiger Informationen aufgefordert. Sie sollten in der Lage sein, Informationen bzgl. des Probenlösungsmittels und des gewünschten Injektionsvolumens bereitzustellen. Der Rechner “erkennt” die Spritze, die derzeit installiert ist, und gestattet die Injektion von nur 50% des Volumens. Wenn Ihre Eingabe dieses überschreitet, erhalten Sie vom Rechner eine Warnmeldung, dass das System die Injektion nicht durchführen kann, und Ihnen werden verschiedene Möglichkeiten vorgeschlagen, um fortzufahren. Die dritte Information bezieht sich auf den Siedepunkt des ersten

eluierenden Analyten. Wenn Ihnen dieser bekannt ist, wählen Sie eine Temperatur, die dem Wert am nächsten kommt. Anderenfalls können Sie sie auf 150 °C belassen, um eine Vielzahl an Analyten beizubehalten. Legen Sie für die FID MDL-Probe das Lösungsmittel auf Isooktan, das Injektionsvolumen auf 5 µl und den Siedepunkt auf 200 °C fest. Klicken Sie auf **Next**, um zum Berechnungsfenster zu wechseln.

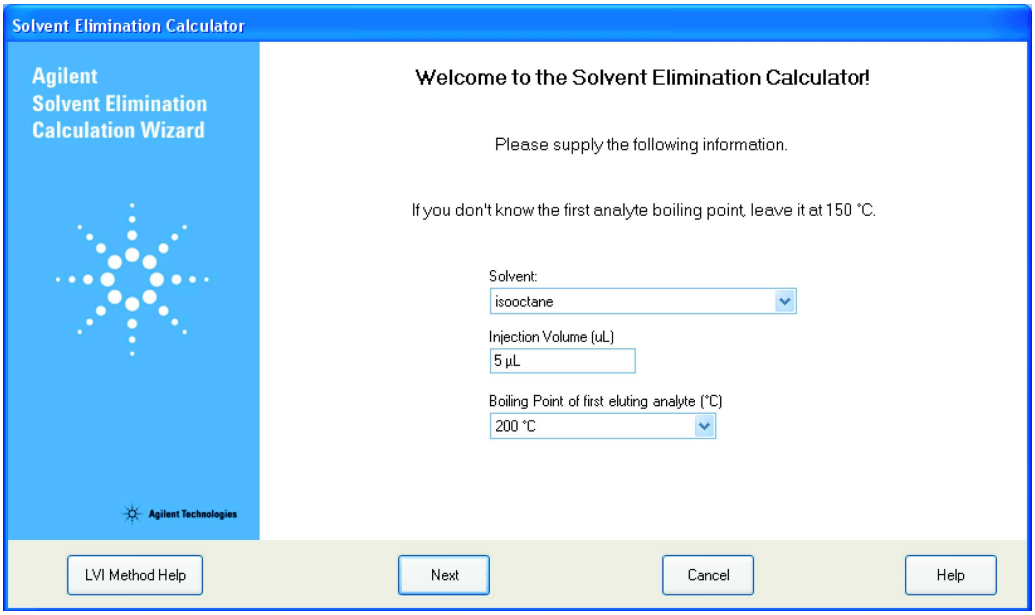

Abb. 4 Rechner für die Lösungsmitteleliminierung

Abb. 5 zeigt das Berechnungsfenster an. Unter Berücksichtigung der von Ihnen bereitgestellten Informationen hat der Rechner eine Reihe von Anfangsbedingungen für das Gerät verwendet, um die Rate der Lösungsmitteleliminierung entsprechend der grundlegenden Theorie festzulegen. Diese “Eliminationsrate” berücksichtigt keine anderen LVI-spezifischen Faktoren und ist nach praktischer Erfahrung in der Regel zu schnell. Die “vorgeschlagene Injektionsrate” berücksichtigt diese Faktoren und ist so konzipiert, dass am Ende des Entlüftungszeitraums eine kleine Menge des Lösungsmittels im Liner zurückbleibt. Dieses Lösungsmittel dient als “Flüssigkeitsfilter” für die flüchtigeren Analyte und beschleunigt ihre Wiederherstellung. Die “vorgeschlagene Auslasszeit” wird ermittelt, indem das Injektionsvolumen durch die “vorgeschlagene Injektionsrate” dividiert wird.

HINWEIS Weitere Informationen finden Sie in der Hilfe zur LVI-Methode in Ihrer Gerätesteuerungssoftware.

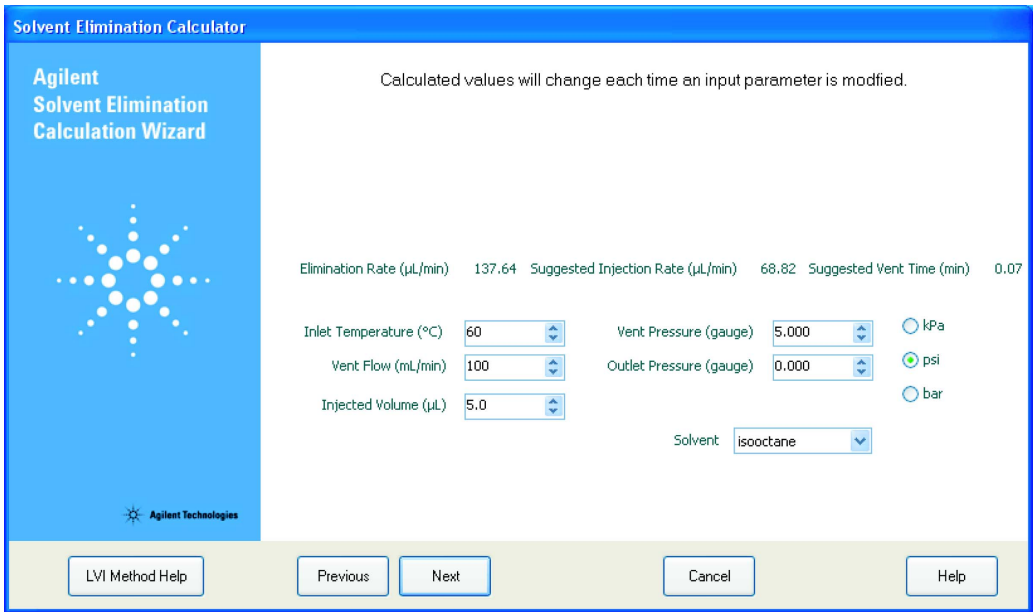

Abb. 5 Variablen für den Rechner für die Lösungsmitteleliminierung

Die Variablen zur Bestimmung der Eliminationsrate können vom Benutzer im unteren Fensterbereich festgelegt werden. Um zu veranschaulichen, wie diese Parameter miteinander interagieren, nehmen Sie die folgenden Änderungen vor (**rote** Markierung) und halten Sie den Wert der “Eliminationsrate” in Tabelle 1 fest.

Tabelle 1 Arbeitsblatt Eliminationsrate

Einlasstemp. (°C)	Auslassfluss (ml/Min.)	Injektionsvolumen (µl)	Entlüftungsdruck (psig)	Auslassdruck (psig)	Lösungsmittel	Eliminationsrate (µl/Min.)
60	100	5	5	0	Isooktan	137,64
40	100	5	5	0	Isooktan	
60	**50**	5	5	0	Isooktan	
60	100	5	**2**	0	Isooktan	
60	100	5	5	**2**	Isooktan	
60	100	5	5	0	**Hexan**	

Beachten Sie, dass geringfügige Änderungen der Einlasstemperatur große Auswirkungen auf die Eliminationsrate haben. Der Auslassfluss hat lineare Auswirkungen, d. h. eine Auslassflussverringerung um den Faktor zwei führt zu einer entsprechenden Verringerung der Eliminationsrate. Eine Erhöhung des Auslassflussdrucks zieht eine Verringerung der Eliminationsrate nach sich. Beachten Sie außerdem, dass der Auslassdruck auch Auswirkungen darauf hat, welches Lösungsmittelvolumen während des Entlüftens in die Säule gelangt. Je höher der Auslassdruck ist, umso mehr Lösungsmittel gelangt vor der Übertragung des Analyts in die Säule. Abschließend hat auch der Lösungsmitteltyp bzw. in der Regel dessen normaler Siedepunkt erhebliche Auswirkungen auf die Eliminationsrate.

Um mit dem Lernprogramm fortzufahren, ändern Sie die Werte des Rechners zurück in die in Abb. 5 dargestellten und unten aufgeführten Werte. Klicken Sie auf **Next**, um zum Bildschirm mit den Methodenänderungen (Abb. 6) zu gelangen.

MMI

Modus	Lösungsmittelentlüftung
Einlasstemperatur	60 °C
Anfangszeit	0,07 Min.
Rate 1	720 °C
Finale Temperatur	250 °C
Finale Zeit	5 Min.
Auslassfluss	100 ml/Min.
Auslassdruck	5 psig
Auslasszeit	0,07 Min.
Spülzeit	2,57 Min.
Spülfluss	60 ml/Min.
Septumspülung	3 ml/Min.

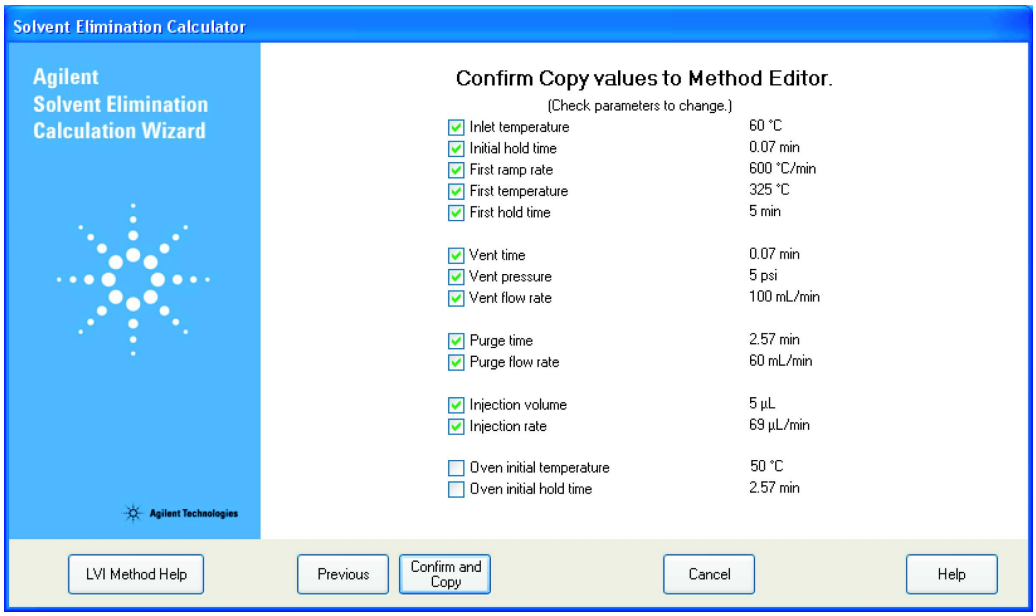

Abb. 6 Methodenänderungen zum Herunterladen für den Methodeneditor (Rechner für die Lösungsmittelelimination)

Über diesen Bildschirm können Sie alle Methodenänderungen anzeigen, die in den Bildschirm zum Ändern der Parameter heruntergeladen werden. Sie können dabei jeden der angezeigten Parameter annehmen oder ablehnen. Die Parameter “Oven initial temperature” und “Oven initial hold time” werden nicht automatisch aktiviert, falls für Ihre Methode diese Werte unverändert beibehalten werden müssen (beispielsweise bei einer Methode mit fixierter Retentionszeit). Klicken Sie für die FID MDL-Probe im Bildschirm zum Ändern der Parameter auf **Confirm and Copy** und anschließend auf **Ok**.

Führen Sie die Analyse durch und vergleichen Sie die Peak-Bereiche dieser Analyse mit denen Ihrer ursprünglichen Hot Splitless-Analyse. In Abb. 7 wird eine Überlagerung dieser beiden Analysen dargestellt. Die rote Kurve ist das Ergebnis der ursprünglichen Hot Splitless-Injektion und die blaue Kurve ist das Ergebnis der Lösungsmittelentlüftung.

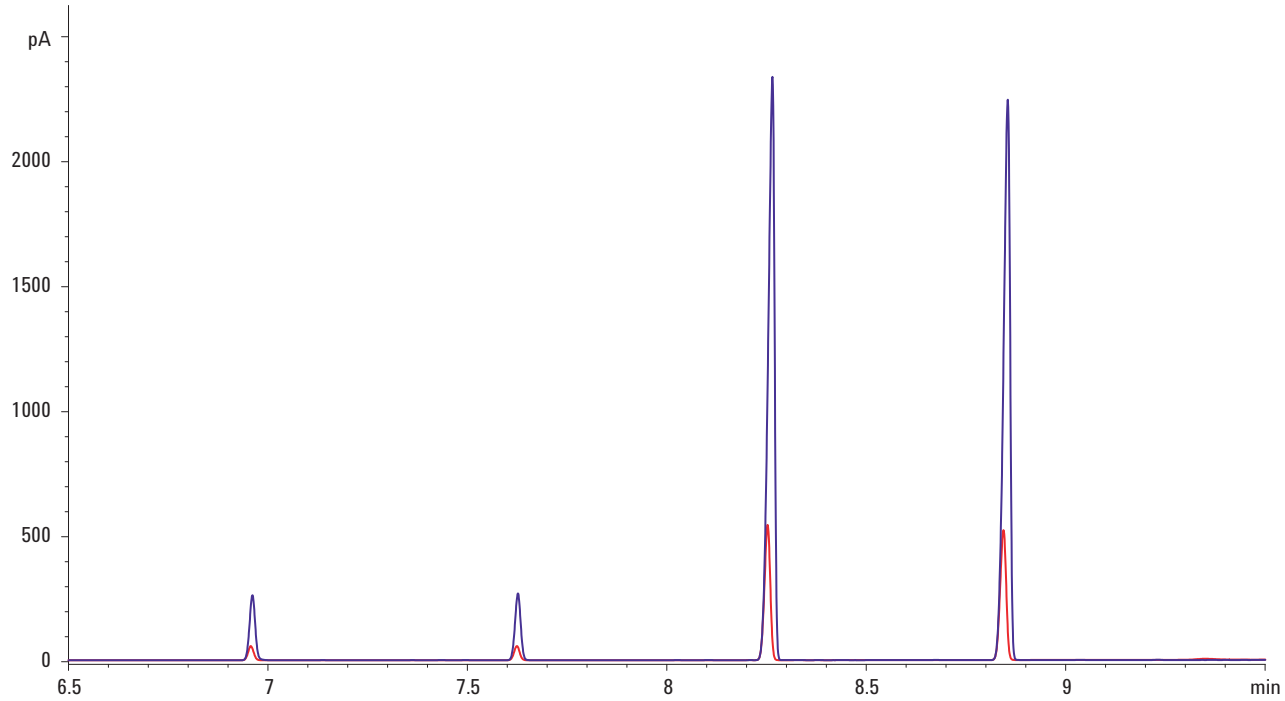

Abb. 7 Überlagerung des Ergebnisses der ursprünglichen Hot Splitless-Injektion und des Ergebnisses der Lösungsmittelentlüftung

In Tabelle 2 werden die resultierenden Peak-Bereiche für die beiden Analysen verglichen. Die Peak-Breiten entsprechen sich für die Analyte in beiden Analysen weitestgehend. Als Ergebnis lässt sich festhalten, dass die Peaks fünfmal so groß sind und sich ein fünffacher Anstieg des Signal/Rausch-Verhältnisses ergibt.

Tabelle 2 Resultierende Peak-Bereiche für die Hot Splitless- und Lösungsmittelentlüftungs-Analysen

Einlassmodus	Lösungsmittelbereich	C13-Bereich	C14-Bereich	C15-Bereich	C16-Bereich
1 µl Hot Splitless	17113114	56	56	555	554
5 µl Lösungsmittelentlüftung	36859256	261	268	2622	2596
Wiederherstellung der Lösungsmittelentlüftung	44%	93%	96%	94%	94%

In Tabelle 2 wurde die Wiederherstellung der Lösungsmittelentlüftung berechnet, für die die Analysebereiche der Lösungsmittelentlüftung fünf Mal durch die Hot Splitless-Bereiche dividiert wurden. Für die Analyte beträgt die

Wiederherstellung fast 100% und sie entsprechen sich weitestgehend. Dies weist darauf hin, dass sich aus den Bedingungen für die Lösungsmittelentlüftung eine Verbesserung der Instrument-Erkennungsgrenzwerte um etwa das Fünffache ergibt. Beachten Sie, dass die Lösungsmittel-Wiederherstellung nur bei 44% liegt. Das bedeutet, dass von der 5-µl-Probeninjektion nur 2,2 µl in die Säule gelangt sind.

Übertragen auf größere Injektionsvolumina ergeben sich bei einer Installation einer größeren Spritze mit beispielsweise 25 oder 50 µl in den automatischen Probengeber und einer Erhöhung des Injektionsvolumens auf 10 µl folgende MMI-Bedingungen für die FID MDL-Probe, wenn Sie den Rechner für die Lösungsmitteleliminierung für die Festlegung der Anfangsbedingungen verwenden:

MMI

Modus	Lösungsmittelentlüftung
Einlasstemperatur	60 °C
Anfangszeit	0,15 Min.
Rate 1	720 °C
Finale Temperatur	250 °C
Finale Zeit	5 Min.
Auslassfluss	100 ml/Min.
Auslassdruck	5 psig
Auslasszeit	0,15 Min.
Spülzeit	2,65 Min.
Spülfluss	60 ml/Min.
Septumspülung	3 ml/Min.

In Abb. 8 sehen Sie eine vergrößerte Darstellung der Analyt-Peaks mit einer 10-µl-Injektion. Die ersten beiden Peaks sind weitestgehend symmetrisch, die letzten beiden Peaks weisen eindeutige Asymmetrien auf. Dies ist teilweise auf eine Säulenüberlastung und auf das Lösungsmittelvolumen zurückzuführen, das in die Säule geleitet wurde.

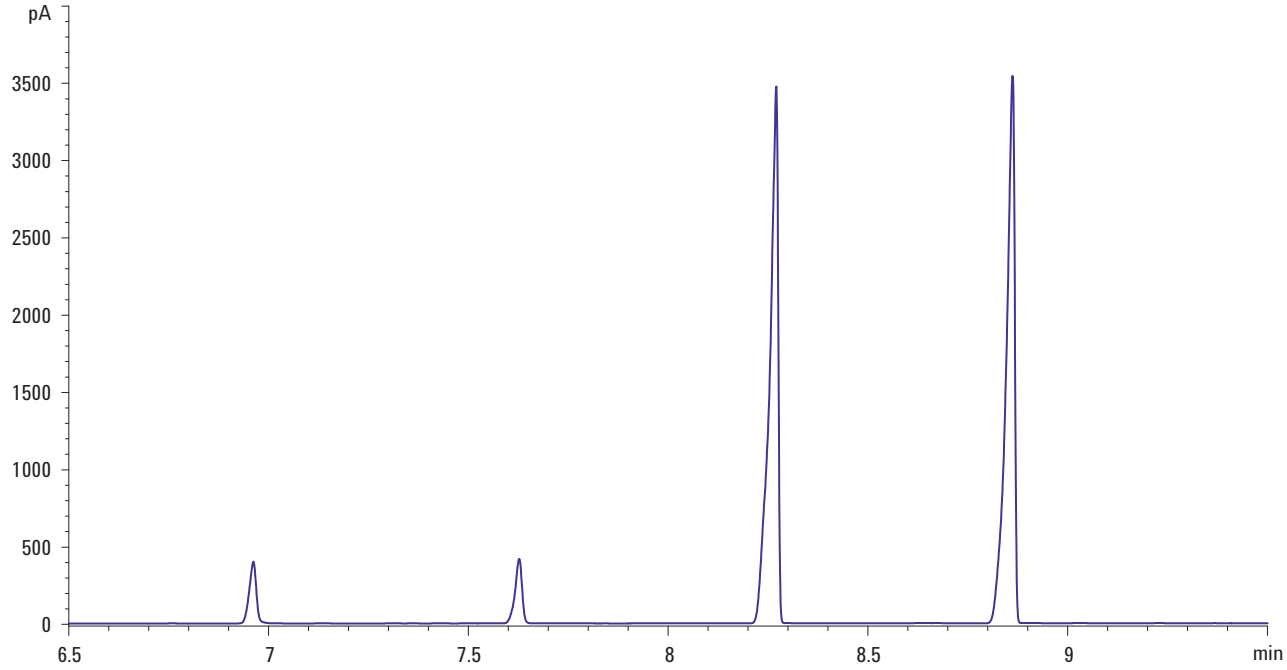

Abb. 8 Analyt-Peaks bei einer 10-µl-Injektion

In Tabelle 3 wird die Wiederherstellung von der ursprünglichen Hot Splitless-Analyse dargestellt. Beachten Sie, dass die Wiederherstellung von 10-µl-Lösungsmittelentlüftungen leicht unter der in Tabelle 2 dargestellten 5-µl-Lösungsmittelentlüftungs-Analyse liegt. Die geringere Lösungsmittelwiederherstellung ist ebenfalls eine Bestätigung dafür. Um dies zu verbessern, könnten Sie die Einlasstemperatur herabsetzen, während alle anderen Parameter unverändert beibehalten werden, oder die Lüftungszeit leicht verkürzen. In beiden Fällen würde mehr Lösungsmittel zurückbleiben, um das C13 einfacher filtern zu können. Bei beiden Ansätzen hat die Einlasstemperatur große Auswirkungen auf die Filterung der ersten eluierenden Analyte.

Tabelle 3 Wiederherstellung von der ursprünglichen Hot Splitless-Analyse

Einlassmodus	Lösungsmittelbereich	C13-Bereich	C14-Bereich	C15-Bereich	C16-Bereich
1 µl Hot Splitless	17113114	56	56	555	554
10-µl-Lösungsmittelentlüftung	59579040	261	268	2622	2596
Wiederherstellung der Lösungsmittelentlüftung	35%	88%	91%	92%	94%

Um auf größere Injektionsvolumina zu erweitern, ist es das Einfachste, die Lüftungszeit proportional zu verlängern. Mithilfe des Rechners für die Lösungsmitteleliminierung können Sie diese Beziehung weiter untersuchen. Für eine 50-µl-Injektion ist eine Lüftungszeit von 0,75 Minuten erforderlich. Die Injektionsparameter für die FID MDL-Probe werden unten aufgeführt. Um eine Überlastung der Säule zu vermeiden, wurde die FID MDL-Probe im Verhältnis 1:10 in Isooktan verdünnt.

MMI

Modus	Lösungsmittelentlüftung
Einlasstemperatur	60 °C
Anfangszeit	0,75 Min
Rate 1	720 °C
Finale Temperatur	250 °C
Finale Zeit	5 Min.
Auslassfluss	100 ml/Min.
Auslassdruck	5 psig
Auslasszeit	0,75 Min.
Spülzeit	3,25 Min.
Spülfluss	60 ml/Min.
Septumspülung	3 ml/Min.

Das resultierende Chromatogramm wird in Abb. 9 dargestellt. Die Peak-Formen sind eindeutig verzerrt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass zu viel Lösungsmittel in die Säule geleitet wurde. Dieses Problem kann auf unterschiedliche Weise behoben werden. Wenn Sie die Lüftungszeit einfach weiter verlängern, wird weniger Lösungsmittel in die Säule geleitet. In Abb. 10 wird das resultierende Chromatogramm mit einer von 0,75 auf 0,90 Minuten verlängerten Lüftungszeit dargestellt. Die Peak-Formen verbessern sich dadurch deutlich und sind mit dem in Abb. 7 dargestellten 5-µl-Chromatogramm vergleichbar. Sie können das in die Säule geleitete Lösungsmittelvolumen auch verringern, indem Sie den Auslassfluss heraufsetzen, den Auslassdruck verringern oder die Einlasstemperatur während des Lüftungszeitraums erhöhen. Mithilfe des Rechners für die Lösungsmitteleliminierung können Sie berechnen, welche Auswirkungen eine Parameteränderung auf die Eliminationsrate hat. Um die Analytwiederherstellung und die

Peak-Form zu verbessern, bestehen zwei weitere Möglichkeiten. Wenn Sie eine Vorsäule verwenden, können Analyt-Peaks einfacher fokussiert werden und dadurch verbessert sich die Peak-Form. Die zweite Möglichkeit besteht darin, Haltematerialien wie Glaswolle oder Dichtungsmaterialien in den Liner zu integrieren. Durch das Material im Liner werden die Analyte während der Lösungsmittelentlüftung gehalten und es gelangt weniger Lösungsmittel in die Säule. Beachten Sie jedoch, dass bei der Verwendung von Haltematerialien im Liner Analyte aufgrund irreversibler Adsorption verloren gehen.

Weitere Informationen und Probenanwendungen erhalten Sie über die Agilent Website unter http://chem.agilent.com.

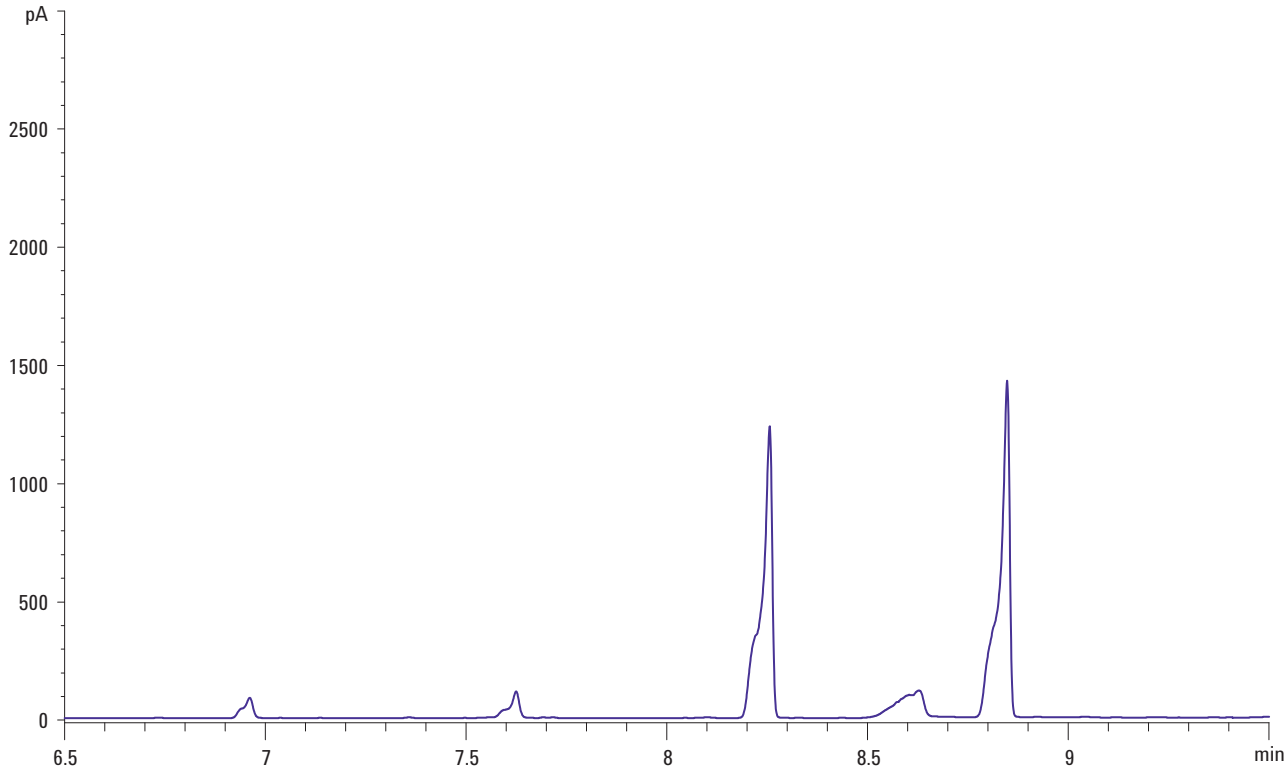

Abb. 9 FID MDL-Probe, die im Verhältnis von 1:10 in Isooktan verdünnt wurde

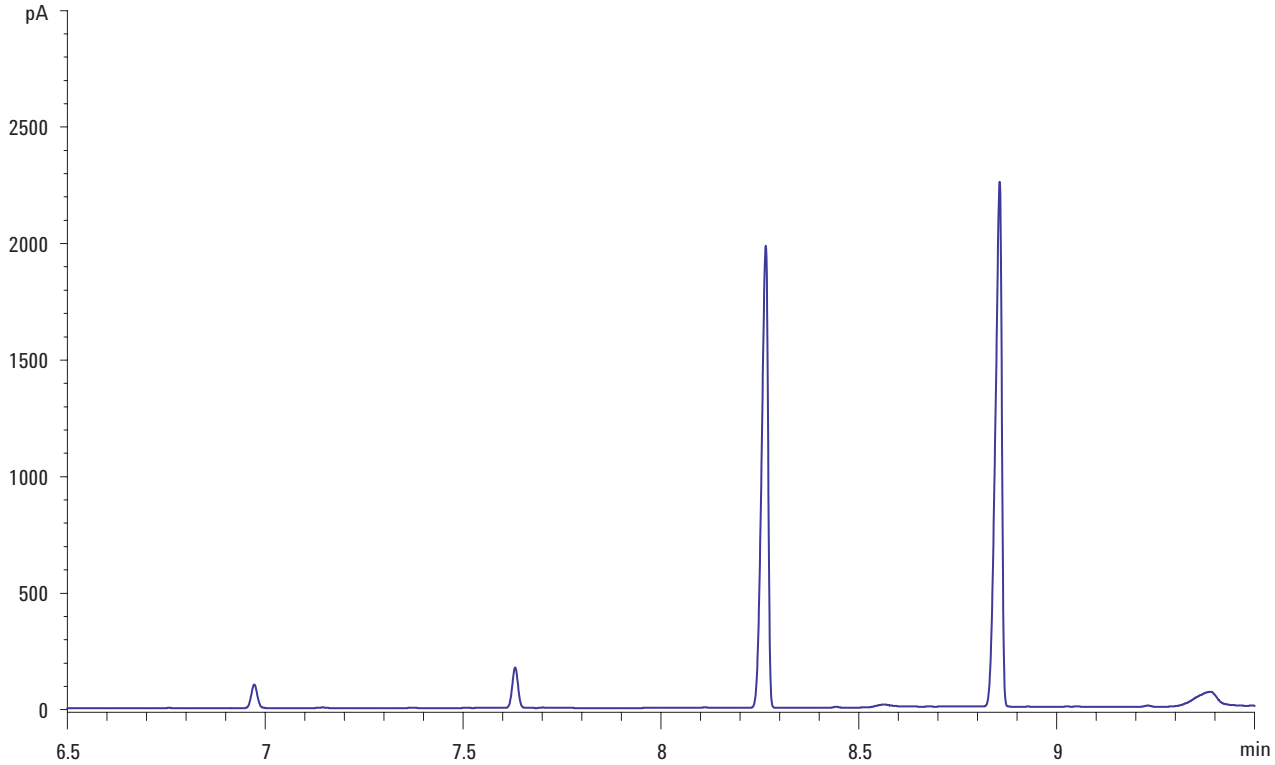

Abb. 10 Resultierendes Chromatogramm mit einer Belüftungszeit von 0,90 Minuten anstelle von 0,75 Minuten

Angenommen, die ersten eludierenden Analyte (C13 und C14 aus der FID MDL-Probe) wurden nicht quantitativ wiederhergestellt. Um ihre Retention zu verbessern, ist es am wirksamsten, die Anfangseinlasstemperatur zu verringern. Dadurch wird die Geschwindigkeit des Analytverlusts während der Lüftung verringert, während das Lösungsmittel weiterhin entfernt werden kann. Zum Entfernen eines Großteils des Lösungsmittels ist jedoch eine längere Lüftungszeit erforderlich. Dies bedeutet in der Regel, dass mehr Lösungsmittel in die Säule geleitet wird.

Agilent Technologies

Hinweise

© Agilent Technologies, Inc. 2009

Gemäß der Rechtssprechung der Vereinigten Staaten von Amerika und internationaler Gesetzgebung zum Urheberrecht darf dieses Handbuch, auch nicht auszugsweise, ohne vorherige Vereinbarung und schriftliche Genehmigung seitens Agilent Technologies, Inc. auf keine Weise mit welchen Mitteln auch immer vervielfältigt werden (einschließlich der Speicherung auf elektronischen Medien und der Übertragung oder Übersetzung in eine Fremdsprache).

Erste Ausgabe, April 2009

Diese Informationen können ohne Vorankündigung geändert werden.

Gedruckt in den USA,

Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road,
Wilmington, DE 19808-1610 USA

Handbuch-Teilenr.

G3510-92020

Gewährleistung

Das in diesem Dokument enthaltene Material wird ohne Mängelgewähr bereitgestellt. Änderungen in nachfolgenden Ausgaben vorbehalten. Agilent übernimmt darüber hinaus im gesetzlich zulässigen Rahmen, weder ausdrücklich noch stillschweigend, keinerlei Gewährleistung für die in dieser Dokumentation enthaltenen Informationen, insbesondere nicht für deren Eignung oder Tauglichkeit für einen bestimmten Zweck, jedoch nicht darauf beschränkt. Agilent übernimmt keine Haftung für Fehler, die in diesem Dokument enthalten sind und für zufällige Schäden oder Folgeschäden im Zusammenhang mit der Lieferung, Ingebrauchnahme oder Benutzung dieser Dokumentation. Falls zwischen Agilent und dem Benutzer eine schriftliche Vereinbarung mit abweichenden Gewährleistungsbedingungen hinsichtlich der in diesem Dokument enthaltenen Informationen besteht, so gelten diese schriftlich vereinbarten Bedingungen.