

## Statische Headspace Injektion

Dr. Ute Beyer

Restek GmbH

### Das Problem

Die statische Headspace-Probenaufgabe ist eine ideale Probenvorbereitungstechnik für die GC von wässrigen Proben, vorausgesetzt die Analyte sind genügend flüchtig und nicht sonderlich gut wasserlöslich. Gesetzt den Fall, Sie erhalten keine reproduzierbaren Resultate bei der statischen Headspace-Gaschromatografie von wässrigen Proben. Was könnten die Ursachen sein?

### Die Lösung

Es wären die folgenden Parameter zu überprüfen:

#### Probe

- Ist das Volumen von Flüssigkeit und Dampfphase in jedem Vial identisch?

Für die Reproduzierbarkeit bei der Headspace-Probenaufgabe ist es immens wichtig, dass das Volumen der Dampfphase immer gleich ist, also bitte sorgfältig pipettieren.

- Ist der Verschluss dicht?

Testen, ob sich die Kappe noch drehen lässt, gegebenenfalls von Hand nachziehen. Der Druckaufbau im Headspace-Vial ist nicht zu unterschätzen und kann bei undichter Kappe schnell zu Verlusten speziell der am leichtesten flüchtigen Substanzen führen.

- Temperatur, Inkubationszeit und „Schütteloption“ richtig optimiert? Ist der Gleichgewichtszustand überhaupt schon erreicht bei der Injektion?
- Wurde jedes Vial wirklich nur einmal „angestochen“?
- Ist die Empfindlichkeit womöglich zu gering?

Überlegen, ob die Analyte überhaupt flüchtig genug sind für diese Technik und wie gut sie wasserlöslich sind. Denn je weniger flüchtig sie sind und je besser wasserlöslich, desto geringer ist der Dampfdruck über der Lösung im Gleichgewichtsfall und je geringer die Empfindlichkeit.

Durch Aussalzen kann man dem in Grenzen entgegenwirken:

Durch Herstellen einer gesättigten Lösung von Neutralsalz (z. B. NaCl) erniedrigt man die Löslichkeit organischer Substanzen in Wasser und erhöht ihren Dampfdruck über der Lösung. Um auf Nummer Sicher zu gehen, übersättigt man stark, z. B. legt man ca. 0,5 g NaCl pro mL Probe im Vial vor (am besten eine Messreihe mit verschiedenen Mengen an NaCl machen von z. B. 0,3 g (etwa gesättigt) bis 0,6 g (doppelte Menge), um das Optimum für das jeweilige Verhältnis Flüssigkeit zu Dampfraum zu finden). Das gelöste Kochsalz und der Bodensatz beeinflussen auch das Volumen des Dampfraums, was ein wichtiger Parameter ist. Deshalb ist es auch beim Einwiegen des Salzes wichtig, dass die Menge in jedem Vial identisch ist.

Ein weiterer Vorteil des Aussalzens liegt darin, dass man damit die Zusammensetzung unterschiedlicher Wasserproben angleicht. Das ist wichtig, denn die Zusammensetzung der Probe bestimmt entscheidend den Dampfdruck aller Analyten. Durch Unterschiede in der Matrix kann die Richtigkeit der Quantifizierung ganz schön schwanken. Aussalzen gleicht dies aus.

Einen Nachteil des Aussalzens darf man aber nicht verschweigen:

Neben dem höheren Aufwand beim Vorbereiten der Vials besteht die Gefahr, dass Salz ins Messsystem gelangt und dann in der Spritze oder dem Ventilsystem (je nach Autosampler) auskristallisiert. Hier ist also unter Umständen mehr Wartungsarbeit notwendig.

Wenn man auf Schütteln des Gefäßes verzichtet, ist immerhin die Gefahr gebannt, dass Salzwasser an das Septum spritzt, aber die Bildung eines Aerosols ist immer noch gegeben. Außerdem hat das Schütteln seinen Sinn, es sorgt für eine schnelle und reproduzierbare Gleichgewichtseinstellung.

### Probentransfer

- Ist die Temperatur der Spritze bzw. der Transferline (je nach Autosampler) höher als die Temperatur im Probengefäß (z. B. 10°C)?

Das sollte der Fall sein, damit die dampfförmige Probe beim Transfer zur Säule auf keinen Fall kondensieren kann.

- Ist die Spritze dicht?

Bei Headspace-Autosamplern mit Spritze gab es früher das Problem, dass die Spritze undicht wurde, nachdem sie mehrmals aufgeheizt und abgekühlt wurde. Man musste sie sicherheitshalber immer auf der gleichen Temperatur lassen. Die Ursache dafür war die Tatsache, dass sich die PTFE-Spitze des Kolbens der gasdichten Spritzen bereits nach wenigen Aufheiz- und Abkühlzyklen nicht mehr vollständig ausgedehnt hat und so undicht geworden ist. Mittlerweile wurden die PTFE-Spitzen der Kolben modifiziert, z. B. mit einer Art Feder im Inneren, die dafür sorgt, dass der PTFE-Tip immer wieder auseinandergedrückt wird. Also bitte vergewissern, dass Sie schon eine Spritze der neuen Generation benutzen, oder die Spritze immer auf der gleichen Temperatur halten.

### GC-Injektionsbedingungen

- Bei Autosampler-Systemen mit Transferline nimmt man idealerweise einen großen, geraden, leeren Liner (z. B. 4 mm) und macht eine Splitinjektion mit hohem Splitverhältnis (z. B. 1:50), wenn es die Konzentrationsverhältnisse zulassen. Speziell bei Leichtflüchtern ist ein hohes Splitverhältnis wichtig, denn es sorgt für eine hohe Flussrate im Injektor, was wiederum einen schnellen Transport zur Säule und schmale Peaks bedeutet. Oft werden die Peaks der früh eluierenden Leichtflüchter nämlich breit mit schlechter Empfindlichkeit, weil der Transport zur Säule durch ein kleines Splitverhältnis zu langsam ist. Lieber zuerst ein höheres Splitverhältnis versuchen. Der „Verlust“ an Analyt durch den höheren Split wird oft

durch schärfere Peaks wieder mehr als ausgeglichen.

- Bei Autosamplern mit Spritze gilt für die Injektion im Prinzip das Gleiche, man muss allerdings bei der Linerwahl beachten, dass bei jeder Injektion Septumkrümel in den Liner fallen können. Diese kann man mit Glaswolle im Liner auffangen oder auch mit einer Verengung („taper“) am unteren Ende des Liners.
- Bei polaren Analyten kann im Fall der Glaswollenutzung aber Adsorption und Tailing an aktiven Stellen auftreten, die sich im Lauf der Zeit an der Glaswollenoberfläche bilden können.  
Den Liner dann regelmäßig austauschen und schonende Bedingungen wählen (Temperatur nur so hoch wie nötig, damit die Analyte nicht kondensieren, plus 10°C „Sicherheitspuffer“), dann dauert die Bildung aktiver Stellen länger.
- Sind die Konzentrationen zu gering für ein hohes Splitverhältnis, sollte ein dünnerer Liner verwendet werden, um den Transport der Dampfwolke zur Säule möglichst schnell zu bewerkstelligen.

#### Noch eine Anmerkung zum Thema

#### „Wasser in der GC“ und „kurze Lebensdauer von GC-Säulen“:

Die Headspace-Injektion ist eine der schonendsten Methoden der Probenvorbereitung für das Messsystem. Obwohl mit jeder Injektion bis zu 1 mL (oder mehr) Wasserdampf auf die Säule gelangen, halten die GC-Säulen bei der Headspace-Analytik ewig.

Wasser ist tatsächlich ein Problem für die Säule, aber nur, wenn es bei hohen Temperaturen auf die Säule gelangt. Ab 100°C beginnt das Wasser das Säulenpolymer langsam zu hydrolysieren und abzubauen. Je höher die Temperatur, desto schneller geht das. (Vorsicht also, wenn Feuchtigkeit mit dem Trägergas in die Säule gelangt. Deshalb am besten Gasreinigungsfilter unmittelbar vor dem GC installieren.) Säulenbluten, aktive Stellen und Grundlinienrauschen sind die Folgen dieses Phasenabbaus.

Meist ist der Säulenanfang aber deutlich unter 100°C, speziell bei der Headspace-Analytik wird oft mit ca. 40°C begonnen. In dem Fall ist das Wasser meistens schon komplett von der Säule herunter eluiert, bevor sie auf kritische Temperaturen aufgeheizt ist. Die kurze Kondensationsphase am Säulenanfang vor dem Aufheizen schadet offensichtlich nicht.

Dieses Beispiel zeigt auch, dass das größte Problem bei kurzer Lebensdauer von GC-Säulen die Probenmatrix ist. Bei der Headspace-Technik halten die Säulen ewig, weil nur leichtflüchtige, bei moderaten Temperaturen verdampfbare Probenbestandteile die Säule erreichen. Bei der Injektion von flüssigen Extrakten gelangen alle Inhaltsstoffe – flüchtige und weniger flüchtige – auf die Säule und können diese kontaminieren.

Also das Temperaturprogramm nicht zu kurz und die Endtemperatur nicht zu niedrig wählen, damit auch schwerer flüchtige Begleitstoffe von der Säule eluieren können. Oft passt man das Temperaturprogramm nur an die Analyte und die gewünschte kurze Laufzeit an, nicht aber an die Matrixbestandteile.

#### Weiterführende Literatur

„GC-Tipps“ – Die schnelle Hilfe für jeden Anwender (S. Kromidas, Hrsg.)

