

## Aanschaf en onderhoud van chromatografische apparatuur

***Citation for published version (APA):***

Claessens, H. A., & Janssen, J. G. M. (1997). Aanschaf en onderhoud van chromatografische apparatuur. *Laboratorium Jaarboek*, 16-29.

***Document status and date:***

Published: 01/01/1997

***Document Version:***

Publisher's PDF, also known as Version of Record (includes final page, issue and volume numbers)

***Please check the document version of this publication:***

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

***General rights***

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.tue.nl/taverne](http://www.tue.nl/taverne)

***Take down policy***

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[openaccess@tue.nl](mailto:openaccess@tue.nl)

providing details and we will investigate your claim.

# Aanschaf en onderhoud van chromatografische apparatuur

Chromatografische scheidingstechnieken vormen de belangrijkste steunpilaren van de moderne analytische chemie. Het aantal toepassingen van gaschromatografie (GC), vloeistofchromatografie (HPLC) en in minder mate superkritische- (SFC) en elektro-kinetische chromatografische (EKC) scheidingstechnieken bij een enorme verscheidenheid aan applicatiegebieden is bijna ontelbaar.

Tot de uitdagende taken van de analytisch chemicus behoren de keuze van de meest geschikte chromatografische analysetechniek, de aankoop van de vereiste instrumentatie en niet op de laatste plaats het draaiend houden van het analyse-instrument. In deze bijdrage zal vooral worden ingegaan op de laatste twee deeltaken van de man of vrouw werkzaam op de analytische afdeling. Getracht zal worden de praktiserend chromatografist handvatten aan te reiken voor de aanschaf en het onderhoud van chromatografische apparatuur, die voldoet aan de vereiste snelheid en nauwkeurigheid en daarnaast tegemoet komt aan eisen op kwaliteits- en milieugebied.

*H. A. Claessens en  
dr. ir. J.G.M. Janssen  
Technische Universiteit  
Eindhoven,  
Laboratorium voor  
Instrumentele  
Analyse*

**H**et aanschafbeleid van laboratoriuminstrumenten wordt steeds meer bepaald door een aantal verschillende beslissingscriteria. Achtergrond hierbij vormen de veelal krappe beschikbare budgetten en de behoefte om aankopen op objectieve gronden te motiveren. Bij de aanschaf van apparatuur voor GC en HPLC kunnen twee wezenlijk verschillende situaties onderscheiden worden. In het eenvoudigste geval betreft het vervanging van apparatuur of uitbreiding van het apparatuurbestand met instrumenten identiek aan hetgeen men al heeft. In dit geval zal men veelal kiezen voor een instrument of leverancier, waarmee men goede ervaringen heeft. Met als motivatie 'de oude chromatograaf heeft het ruim tien jaar goed gedaan en de service was ook best goed' kiest men wederom voor een GC of HPLC van de betreffende leverancier. Er lijkt geen vuiltje aan de lucht. Toch is enige voorzichtigheid geboden. In de gaschromatografie blijkt het inderdaad vaak zo te zijn, dat het vervangen van een oude gaschromatograaf door een nieuwe vrijwel

nooit problemen oplevert. In de HPLC ligt dat vaak veel minder eenvoudig. Een enkel voorbeeld: In de vloeistofchromatografie komt het nog regelmatig voor, dat een gradiëntprofiel verkregen op systeem X anders is dan dat van systeem Y. Nominale identieke kolommen blijken voor moeilijke scheidingen vaak niet werkelijk identiek te zijn. Bij vervanging van apparatuur, kolommen en accessoires kunnen om deze redenen ingrijpende aanpassingen van analyseprocedures noodzakelijk blijken te zijn.

Wanneer men twijfelt aan de mogelijkheid om een bepaalde applicatie met een zeker instrument uit te voeren kan men aan de fabrikant 'applicatiegarantie' vragen. Indien een applicatie niet blijkt te lukken op een instrument, kan de koop van het betreffende instrument ongedaan worden gemaakt. Onderstaand vindt u informatie, die van nut kan zijn bij de aanschaf van nieuwe apparatuur voor GC en HPLC.

## Gaschromatografie

Technische verschillen tussen gaschromatografen van verschillende fabrikanten kunnen zich op alle onderdelen van de GC voordoen. In zijn simpelste vorm kan een GC worden voorgesteld als een combinatie van een draaggas-regelsysteem, een injector, een kolom-oven, een detector en een verzameling elektronica voor de besturing van elk van de verschillende onderdelen. Als randapparatuur kan bijvoorbeeld een autosampler, een instrument voor monstervoorbewerking of een datasysteem aan de GC verbonden zijn. Bij de keuze van een nieuwe GC zullen de prestaties van GC's van de diverse aanbieders nauwkeurig in kaart moeten worden gebracht. Deze taak is echter minder moeilijk dan het lijkt. Zonder te overdrijven kan namelijk worden gesteld dat er tegenwoordig geen slechte gaschromatografen meer bestaan! Problemen met een analyse zijn veel vaker te wijten aan fouten van de analist, aan een foutieve analysemethode of aan een onvoldoende stabiele

methode dan aan problemen met de gaschromatograaf. Scholing van de bediener van het instrument lijkt daarmee dan ook van meer belang te zijn dan de keuze van het GC-instrument. Uiteraard zijn er wel verschillen tussen de GC's van diverse fabrikanten, het zal echter in de gaschromatografie slechts zelden voorkomen, dat een methode wel werkt op de GC van fabrikant A en niet op een GC van fabrikant B, uitgerust met dezelfde injector, kolom, detector, et cetera. Om deze reden wordt de keuze voor een bepaald fabrikaat GC slechts ten dele bepaald door technische karakteristieken. Kostprijs, prijs van het onderhoudscontract, betrouwbaarheid en deskundigheid van de leverancier, standaardisatie, et cetera, zijn factoren, die minstens net zo belangrijk zijn.

Voor een laboratorium waarin een GC voor een groot aantal uiteenlopende monsters wordt gebruikt, zijn alle GC's technisch gezien gemiddeld even goed. Een bepaalde GC kan soms iets hoger scoren op het ene gebied, dit wordt dan echter weer gecompenseerd doordat de betreffende GC minder dan gemiddeld scoort op een ander gebied. Gemiddeld zijn hierdoor alle GC's van dezelfde kwaliteit. Voor laboratoria waar een GC wordt ingezet voor een vaste applicatie, is de gemiddelde score van de GC op alle deelcriteria echter van minder belang. De GC moet het hier gewoon goed doen voor de betreffende applicatie. Maakt deze applicatie bijvoorbeeld gebruik van on-column-injectie en stikstof-fosfordetectie, dan moet de GC juist op deze punten goed scoren. Hoe eenvoudig bijvoorbeeld kolommen van de ene injector naar de andere verplaatst kunnen worden, doet hier niet ter zake. Bij de keuze van GC-instrumentatie moet men zich dus steeds afvragen, wat men nu eigenlijk nodig heeft. Heeft men een universeel inzetbare GC nodig, of hoeft de GC het slechts goed te doen voor een speciale applicatie?

#### Draaggas-regelsystemen

Bij de draaggas-inlaatsystemen voor GC zijn twee principes te onderscheiden. In drukgeregelde systemen bestaat het gas-inlaatsysteem uit een drukregelaar vóór de injector en een naaldventiel in de splitleiding ná de injector. In de flowgecon-

---

### Wat heeft u nodig: een universeel apparaat of een speciale applicatie?

---

troleerde systemen bevindt de drukregelaar zich na de injector. Vóór de injector bevindt zich hier een flowcontroller. Voor standaardtoepassingen zijn beide systemen volledig vergelijkbaar. Dit ondanks het feit, dat men uit de geestdrift waarmee fabrikanten hun klanten van het tegengestelde proberen te overtuigen, wel eens geneigd zou kunnen zijn iets anders te concluderen. Flowgecontroleerde systemen kunnen voordelig zijn wanneer men behoefte heeft aan (elektronische) druk- of flowprogrammering tijdens de analyse. De eerlijkheid gebiedt echter te zeggen, dat dit niet echt vaak werkelijk het geval is. Om retentietijden constant te houden tij-

dens een temperatuurgeprogrammeerde analyse voldoet een simpel drukgecontroleerd draaggas-inlaatsysteem net zo goed als een duur systeem met elektronische drukprogrammering. Wel is elektronische flowcontrole interessant in de hoge temperatuur GC of, wanneer men thermisch instabiele componenten wil analyseren met splitless-injectie. In het laatste geval kan men misschien toch beter zijn toevlucht zoeken tot on-column-injectie. Toepassen van splitless-injectie voor instabiele componenten is immers vragen om problemen.

#### Materiaal en onderhoud

Veel belangrijker dan de keuze druk- dan wel flowgecontroleerd, is de keuze van de materialen die gebruikt zijn voor de drukregelaars en flowcontrollers. Helaas ontbreekt deze informatie nu juist vaak in de handleidingen van de instrumenten. Regelaars met kunststofmembranen zijn beduidend goedkoper. Helaas zijn alle kunststofmembranen in meer of mindere mate doorlaatbaar voor zuurstof met alle gevolgen van dien voor de kolomkwaliteit en de levensduur van de kolom. Regelaars met metalen membranen verdienen dus zeker de voorkeur. Veel onderhoud vereist het draaggas-regelsysteem niet. De kans op defecten is zeer gering. Uiteraard zijn elektronisch programmeerbare systemen door hun grotere complexiteit meer storingsgevoelig dan simpele mechanische systemen. Elektronische systemen zijn echter beter 'traceerbaar', wat een voordeel kan zijn wanneer men onder strikte kwaliteitsregels werkt.

Zoals gezegd vereist het draaggas-regelsysteem

van een GC in de praktijk vaak weinig tot geen onderhoud. Dit in tegenstelling tot het systeem dat zich bevindt vóór de gasinlaat van de gaschromatograaf. Om optimaal functioneren van de GC te waarborgen moet men zorgen voor een constante aanvoer van draaggas en detectorgassen van een goede kwaliteit. De vereiste specificaties van de benodigde gassen zijn meestal opgenomen in de handleiding van de GC. Vaak worden tussen de gasfles en de GC extra filtersystemen geïnstalleerd om zuurstof, water en koolwaterstoffen te verwijderen. Het spreekt voor zich dat deze filters op tijd vervangen moeten worden. Bij sommige filters kan men aan een verkleuring zien wanneer ze aan vervanging toe zijn. Bij andere specificieert de fabrikant de levensduur. Ook de GC zelf bevat vaak een ingebouwd draaggasfilter. Dit filter is echter alleen bedoeld als laatste redmiddel en moet nooit structureel worden gebruikt. Tot slot, slechts weinig mensen realiseren zich dat een slecht geïnstalleerd of verzadigd filter meer verontreinigingen introduceert dan het verwijdert!

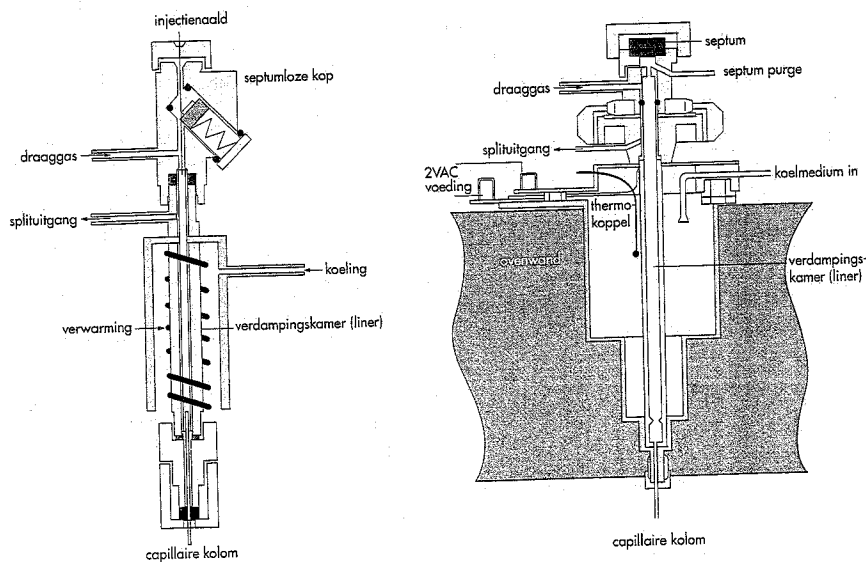
### Injectiesystemen

De problemen die kunnen optreden bij monsterintroduktie in de capillaire GC worden vaak onderschat. Slechts weinig GC-gebruikers kennen de wezenlijke verschillen tussen split-, splitless- en on-column-injectie. Toch verschillen deze technieken zeer sterk voor wat betreft hun toepasbaarheid voor bijvoorbeeld verdunde monsters, ther-

mische instabiele componenten en voor componenten met een hoog kookpunt. Alle GC-fabrikanten bieden split/splitless-injectoren aan. Tussen deze injectoren bestaan geen grote verschillen, noch met betrekking tot de technische prestaties, noch met betrekking tot het onderhoud. Bij alle injectoren is het belangrijk het juiste septum te kiezen en dit ook regelmatig te vervangen. Ook de keuze van de liner-geometrie is van belang. Belangrijke criteria van split/splitless-injectoren zijn het discriminatiegedrag van de injector en de herhaalbaarheid van de injectie. Informatie over deze parameters kan men vinden in de technische specificaties van het instrument. Het verdient aanbeveling om bij aflevering van een nieuw instrument te controleren of dit wel aan de specificaties voldoet. Herhaalbaarheid en discriminatiegedrag zijn ook goed bruikbaar als diagnostisch instrument om te beoordelen of de chromatograaf nog wel in goede conditie verkeert.

De belangrijkste verschillen tussen de injectiesystemen van de diverse fabrikanten doen zich voor op het gebied van de on-column-injectoren. On-column-injectie is technisch gezien superieur aan zowel split- alsook splitless-injectie. Om het best mogelijke uit de techniek te halen is het echter belangrijk dat de injectie echt in de kolom en niet in de injectorliner (of voorkamer), plaats vindt. Een aantal fabrikanten biedt echter voorkamer-injectoren aan onder de naam on-column-injectoren. Vooral voor monsters die thermisch instabiele dan wel adsorberende componenten bevatten zul-

**FIGUUR 1** Schematische weergave van de Gerstel en Ai Cambridge PTV-injectoren.



len dit soort injectoren beduidend mindere prestaties te zien geven. Een vierde injectietechniek die momenteel sterk in opkomst is, is de temperatuurgeprogrammeerde PTV-injectie. Deze techniek is voor hoog-kokende en thermisch instabiele componenten duidelijk beter dan de conventionele split/splitless-injectie. In veel gevallen kan de PTV-injector zich zelfs meten met on-column-injectie. Momenteel staat PTV-injectie ook in de belangstelling als techniek voor de introductie van zeer grote monstervolumina in GC (tot ongeveer 250  $\mu$ l). In vrijwel alle GC's kunnen PTV-injectoren worden ingebouwd. Belangrijke leveranciers van 'stand-alone' PTV-injectoren zijn de Engelse firma Ai Cambridge en de Duitse firma Gerstel. De PTV-injectoren van deze beide fabrikanten zijn schematisch weergegeven in figuur 1.

### Vervanging

Onderhoud aan injectiesystemen voor GC beperkt zich tot het op tijd vervangen van het septum en, in het geval van split/splitless-injectie, af en toe reinigen van de liner van de injector. Hoe vaak de liner moet worden schoon gemaakt (of vervangen), wordt bepaald door de zuiverheid van het monster. Wordt een schoon koolwaterstoffenmonster geïnjecteerd, dan hoeft men de liner eigenlijk nooit te vervangen. Worden echter complexe milieumonsters of (bio)medische monsters geïnjecteerd dan kan het nodig zijn reeds na drie tot vijf injecties de liner te vervangen. Het verdient aanbeveling om bij regelmatig openen van de injector af en toe ook de afdichtingsringen die zich in de injector bevinden te vervangen. Hoe vaak het septum moet worden vervangen hangt af van de naald die men gebruikt. Bij het gebruik van een gasinjectiespuit met een dikke naald gaat het gemiddelde septum maar ongeveer 25 injecties mee, terwijl met een dunnere vloeistofinjectie-naald minimaal vijftig keer geïnjecteerd kan worden zonder dat septum-lekkage optreedt. Overigens kan het voor de levensduur van een septum ook uitmaken of er handmatig- dan wel met een autosampler geïnjecteerd wordt. Bij het gebruik van een autosampler gaat het septum meestal langer mee omdat de injectie-automaat steeds precies op dezelfde plaats door het septum prikt.

### Ovens

De oven van een gaschromatograaf omgeeft het hart van het chromatografische systeem, de analytische kolom. Fabrikanten van GC-apparatuur hebben dan ook veel aandacht aan dit stuk van de GC besteed. Grote verschillen op het gebied van

de juistheid en de precisie van de ingestelde temperatuur zijn er tegenwoordig niet meer. De verschillende GC's kunnen echter wel sterk verschillen wat betreft de maximaal haalbare opwarm- en afkoelsnelheden. Opwarm- en koelkarakteristieken zijn vooral van belang, wanneer men een snel temperatuurprogramma wil toepassen of wanneer men na een analyse het systeem snel wil afkoelen voor de volgende run. Ook zijn er verschillen in het temperatuurbereik.

### Gebruikstemperatuur

Moderne hogetemperatuur GC-kolommen hebben een maximaal toelaatbare gebruikstemperatuur van ongeveer 450°C. Om deze kolommen optimaal te kunnen gebruiken, moet uiteraard ook de GC een voldoende hoge maximale temperatuur hebben. Standaard GC's hebben dit meestal niet. Veel firma's leveren echter speciale GC's voor hoge-temperatuurtoepassingen.

Voor hoge-temperatuurtoepassingen is ook de afkoelsnelheid van de GC van belang. Vaak past men in de hogetemperatuur-GC on-column-injectie toe. Dit betekent dat er zeer lage aanvangstemperaturen worden gebruikt. Om het afkoelen te bespoedigen kan een cryo-optie op vrijwel elke GC worden geïnstalleerd. Het koelmiddelverbruik van dit soort instrumenten is zeer hoog, wat uiteraard resulteert in hoge gebruikskosten. Bij de kwaliteitsbeoordeling van een GC-oven zijn de instrumentspecificaties zeer bruikbaar. Het temperatuurbereik van de GC-oven staat vaak in de handleiding. Ook de maximale programmeersnelheid is meestal gegeven. Hier is echter voorzichtigheid geboden. Is de gegeven waarde de maximale waarde die kan worden ingegeven op het toetsenbord, of is het de waarde die de GC echt haalt? Vrijwel geen enkele GC kan een programmeersnelheid van 10°C/min of hoger volgen over zijn volledige temperatuurbereik. Afkoelsnelheden zijn doorgaans niet in de handleiding gegeven.

### Onderhoud

Ondanks de aanwezigheid van bewegende delen zoals een ventilator en een luchtinlaatklep heeft een GC-oven nauwelijks onderhoud. Eens per jaar of één keer in de twee jaar een druppel olie op de bewegende delen is al genoeg. Bij GC's waarvan de ventilator is uitgerust met kunststof lagers is zelfs dat niet nodig.

Voor de meest gebruikte GC-detectoren, de vlamionisatiedetector (FID) en de warmtegeleidbaarheidsdetector (TCD), zal men geen grote verschillen ontdekken in de gevoeligheid en stabiliteit

voor de detectoren van de diverse fabrikanten. De gebruiker in spé moet de instrumentspecificaties echter wel weten te interpreteren. De GC met de hoogste waarde voor de gevoeligheid (uitgedrukt voor bijvoorbeeld de FID in ampère.seconde per gram) hoeft niet per definitie de beste detectiegrenzen te hebben. Als de fabrikant in de GC een zwaardere versterker inbouwt stijgt de gevoeligheid van de detector. Het ruisniveau stijgt echter overeenkomstig zodat de eigenlijke detectiegrens niet verandert. Qua gevoeligheid zijn de FID's van de diverse fabrikanten nagenoeg gelijk.

### Gevoeligheid

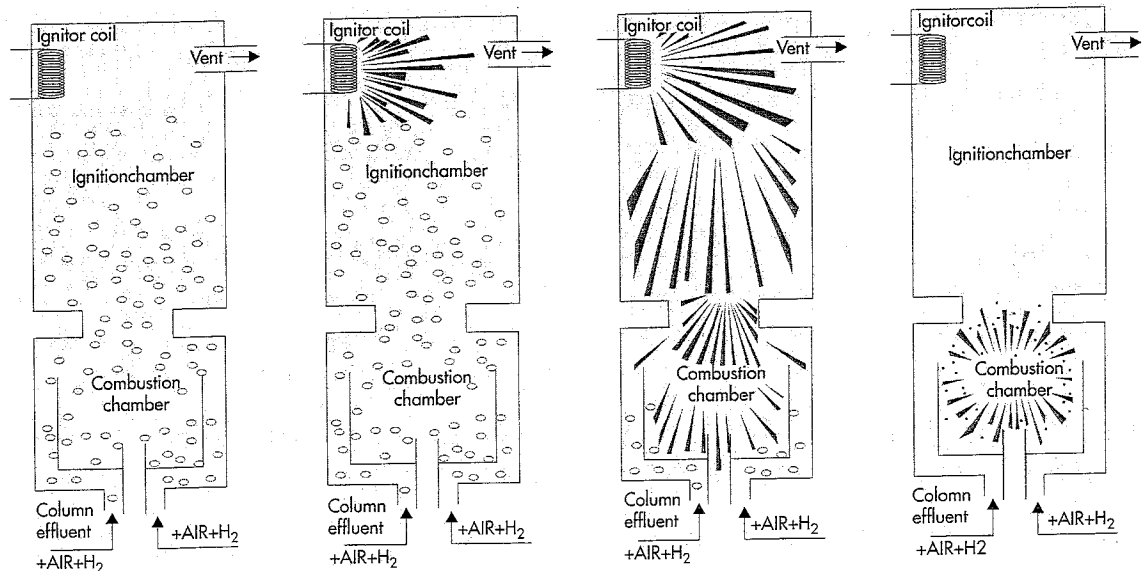
Hetzelfde geldt ook voor de TCD's. Kleine verschillen in gevoeligheid kunnen voorkomen. Hierbij geldt veelal dat de signaal/ruisverhouding slechter wordt naarmate de detector eenvoudiger uitwisselbaar is. Een betere uitwisselbaarheid van een detector betekent immers dat deze voor de gebruiker eenvoudiger toegankelijk is. Daarmee is de detector echter helaas ook meer toegankelijk voor omgevingsinvloeden wat zich kan uiten in iets meer ruis.

Grotere verschillen in gevoeligheid kunnen voorkomen bij de specifieke detectoren, zoals de vlamfotometrische detector (FPD), de elektron capture detector (ECD) en de stikstof-fosfordetector (NPD). Bij de keuze van de beste detector kunnen de instrumentspecificaties een belangrijke rol spelen. Hierbij kunnen zich twee problemen voor-

doen. Op de eerste plaats specificeren GC-fabrikanten de gevoeligheden en selectiviteiten van hun GC-detectoren vaak in de meest vreemde eenheden. De oplossing voor dit probleem is relatief eenvoudig: neem contact op met de fabrikant en vraag hoe de gevoeligheid precies is berekend. Het tweede probleem is veel meer fundamenteel. Wat te doen als de detector van fabrikant A betere detectiegrenzen heeft dan die van fabrikant B, maar wat betreft lineariteit onderdoet voor de detector van firma B? Moet men dan kiezen voor de gevoeligere detector A of de meer lineaire detector B? Of verdient misschien toch de meer selectieve detector C de voorkeur? Een lastige afweging die slechts kan worden gemaakt door iemand die goed bekend is met de problematiek waarvoor de detector zal worden ingezet. Slechts zelden bevindt men zich in de gelukkige situatie dat één detector op alle fronten de beste is. Dit is al helemaal niet meer het geval, wanneer men ook andere karakteristieken zoals prijs of gebruikersvriendelijkheid gaat meewegen. Zo gaat bij de selectieve detectoren bijvoorbeeld een betere gevoeligheid vaak vergezeld van een verminderde stabiliteit en gebruikersvriendelijkheid.

Een aantal recente ontwikkelingen op het gebied van de specifieke detectoren voor GC zijn ingegeven door de vraag van de gebruikers naar stabielere- en meer selectieve specifieke detectoren. Vermeldenswaardig is de introductie van de nieuwe stikstof-fosfordetector van Unicam. Deze detector

FIGUUR 2  
Gepulseerde vlamfotometrische detector van Varian.



beschikt over een grotere zoutparel en daarmee over een verbeterde stabiliteit. Ook de mogelijkheid om de temperatuur van de zoutparel te verlagen op het moment dat de oplosmiddelpiek uit de kolom elueert draagt bij aan een betere langetermijnstabiliteit van de Unicam NPD. Interessant is tevens de introductie van een nieuwe NPD door Carlo Erba. Deze firma biedt als enige de klant de keuze tussen een NPD waarin de zoutparel door een vlam, dan wel elektrisch wordt verhit.

### Andere detectoren

Als alternatief voor een aantal, soms lastige, specifieke detectoren zoals de eerder genoemde NPD en FPD, brengen de firma's Sievers en Antek chemiluminescentie-detectoren voor de analyse van zwavel en stikstof op de markt. Op alle gebieden winnen deze detectoren het van de oude stikstof- en zwavelspecifieke detectoren. De hoge prijs (>40 000 gulden) is echter vaak een belangrijk obstakel bij de aanschaf van deze technisch superieure detectoren. De recent door Varian op de markt gebrachte zwavel- en fosforspecifieke gepulseerde vlamfotometrische detector (PFPD, zie figuur 2) neemt met betrekking tot de aanschafprijs een middenpositie in tussen de klassieke FPD en de zwavelchemiluminescentie detector. De technische specificaties van dit nieuwe instrument zijn beduidend beter dan die van de conventionele FPD.

De frequentie waarmee een GC-detector onderhoud behoeft hangt af van het type detector en de zuiverheid van het monster en de detectorgassen. De meest gebruikte GC-detector, de FID, kan volledig zonder onderhoud wanneer slechts 'normale' monsters worden geanalyseerd. Dit natuurlijk alleen wanneer de temperatuur van de detector hoog genoeg is ingesteld, de vlamgassen juist afgeregeld zijn en de kolom goed geconditioneerd is. Een drietal typen monsters kan echter problemen opleveren bij het gebruik van een FID. De eerste categorie 'probleem-monsters' zijn de gesilyleerde monsters. Worden veel gesilyleerde monsters geanalyseerd dan kunnen er zich silicaten in de detector afzetten die de detector wit kleuren. Silicaten kan men verwijderen door de detectorelektroden schoon te schuren met fijn schuurpapier. Preventief onderhoud kan worden gepleegd door af en toe een speciaal zuiveringsreagens te injecteren. Dit reagens zet de silicaten in de detector om in vluchtige fluorverbindingen en reinigt zo de detector. Een tweede categorie probleemmonsters zijn monsters waarin een gehalogeneerd oplosmiddel wordt gebruikt. Dit oplosmiddel kan in de

FID-vlam niet snel genoeg worden verbrand.

De vlam gaat 'roeten' en er zet zich een laagje koolstof af in de detector. Schuren van de vlam-tip elektrode met een schuurpapiertje brengt ook hier weer uitkomst. Een laatste categorie monsters die problemen kan opleveren zijn monsters die sterke zuren (zoutzuur et cetera) bevatten. Is de detector door deze componenten te zeer aangetast dan moeten de elektroden uitgewisseld worden. Andere GC-detectoren zijn wat onderhoud betreft veel lastiger dan de FID. Bij de NPD bijvoorbeeld moet men met enige regelmaat de zoutparel vernieuwen. Hoe vaak hangt af van de detectorinstellingen, de vereiste meetnauwkeurigheid en het type oplosmiddel dat men gebruikt. Gechloroerde oplosmiddelen en bijvoorbeeld ook ethylacetaat kunnen de levensduur van de zoutparel nadelig beïnvloeden. Bij de ECD is de mate waarin de detector door de gebruiker zelf onderhouden kan worden beperkt. Een echte goede schoonmaakebeurt kan slechts door de fabrikant worden uitgevoerd. Hoe vaak dit nodig is hangt sterk af van de toepassing waarvoor de detector wordt ingezet. Bij een goed opgezette analysemethode kan een ECD minimaal een jaar tot een paar jaar zonder problemen werken.

### Massaspectrometer

Steeds vaker wordt in de gaschromatografie gebruik gemaakt van massaspectrometrische detectie. De keuze van een massaspectrometrische detector voor GC is uitermate moeilijk. Vaak is de gebruiker namelijk slechts zijdelings bekend met de principes van de massaspectrometrie (MS). Dit laatste hoeft in de praktijk niet eens een echt groot bezwaar te zijn, mits de MS met goede software is uitgerust. Bij de keuze van een MS-detector voor GC zal men op de eerste plaats moeten kiezen voor het type instrument: wordt het een quadru-pool dan wel een ion-trap detector? Het laatste instrument is duidelijk gevoeliger maar kan in een aantal gevallen massaspectra geven die kleine afwijkingen vertonen van de spectra die opgeslagen zijn in de computerbibliotheken. Tussen de overige kleine 'bench-top' massaspectrometers bestaan er geen grote verschillen wanneer instrumenten uit dezelfde prijsklasse met elkaar worden vergeleken. Wel moet men zich goed beraden wat men in de toekomst met de detector wil gaan doen. Niet alle instrumenten kunnen bijvoorbeeld worden uitgerust met chemische ionisatie of met een vaste-stofinlaat. Omdat een massaspectrometrische detector technisch erg complex is, is het bij

aanschaf verstandig ook de kennis van de fabrikant en de verkoper mee te laten wegen. Steeds meer klinkt in de laboratoria de roep om volledig geautomatiseerde analysesystemen. Om die reden zijn gekoppelde technieken waarbij monstervoorbewerking wordt geïntegreerd met de chromatografische analyse sterk in opkomst. On-line purge en trap GC, thermische desorptie gekoppeld met GC en automatische analyse van luchtmonsters zijn slechts enkele technieken die routinematig in elk laboratorium te gebruiken zijn. Vaak zijn de systemen die vóór de GC worden gekoppeld afkomstig van gespecialiseerde firma's die zich exclusief bezig houden met dit type instrumentatie. Naast de speciale apparatuur leveren deze firma's ook de vereiste kennis en hardware om hun apparatuur te integreren met GC's van de diverse fabrikanten. Bij de aankoop van een nieuwe GC moet men er zich steeds van vergewissen dat de betreffende GC ook kan worden gekoppeld aan de te gebruiken randapparatuur of dataverwerkingsapparatuur. In principe kan elk dataverwerkingsysteem aan elke GC worden gekoppeld. Sturing van de GC vanuit het datasysteem is echter lang niet altijd mogelijk. Vaak werkt dit alleen maar als de GC en het datasysteem van dezelfde fabrikant zijn.

Bij de aanschaf van apparatuur en accessoires voor vloeistofchromatografie spelen op de eerste plaats

(onderhouds)technische, financiële en steeds vaker ook milieuovertuigingen een rol. Verder zijn afwegingen zoals applicatie-ondersteuning van leveranciers, gebruiksvriendelijkheid van apparatuur en beschikbaarheid van accessoires van groot belang. Hierna zal nader worden ingegaan op deze factoren en hun rol in het aanschafbeleid. Met betrekking tot de technische criteria moet de gebruiker allereerst de behoeften waarin nieuwe apparatuur moet voldoen zorgvuldig inventariseren. Hierbij moeten zo mogelijk ook eisen en plannen voor de nabije toekomst in het aanschafplan worden betrokken. Dit vereenvoudigt in veel gevallen toekomstige uitbreidingen en aanpassingen van apparatuur en voorkomt teleurstellingen.

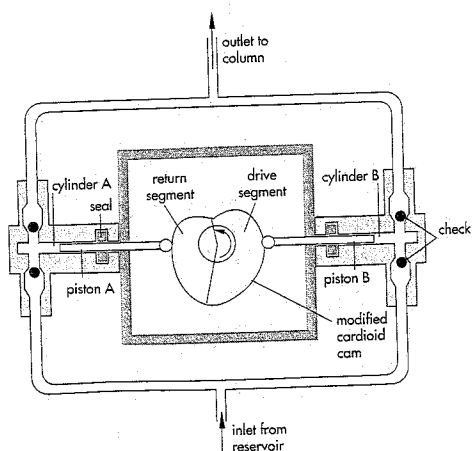
Enkele voorbeelden:

Wordt het instrument ingezet voor routine of onderzoeksdoeleinden? Dit kan een overweging zijn bij de keuze tussen modulaire dan wel kant-en-klaar-systemen.

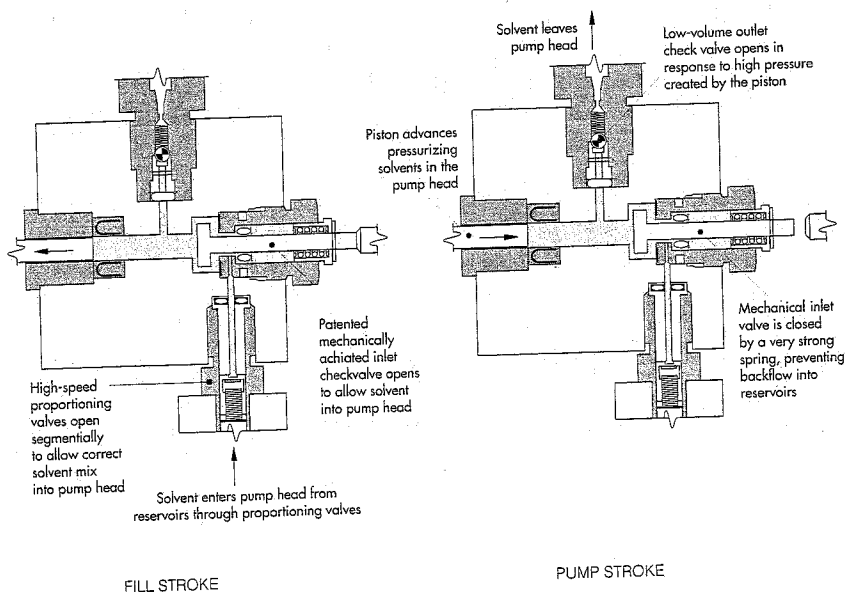
Moet het uitvoeren van analyses, gebaseerd op gradiëntelutie, tot de mogelijkheden behoren? In dat geval is een zorgvuldige inventarisatie van gradiëntssystemen zeer aan te bevelen.

Ten slotte: Welke vorm van HPLC-scheidingen gaat bedreven worden: conventioneel-analytisch, (semi)preparatief, een vorm van geminiaturiseerde HPLC of een combinatie? Deze laatste overweging heeft vooral consequenties voor de aanschaf

**FIGUUR 3** Dubbelkops HPLC-pomp (J.H. Knox (Ed.). High performance Liquid Chromatography, Edinburg University Press, Edinburg UK, 1978)



**FIGUUR 4** Éenkops HPLC-pomp (produktinformatie Varian Chromatography Systems, Ca, USA)





van pompsystemen.

In het kort volgt een aantal opmerkingen, die als leidraad kunnen dienen bij het opstellen van het technische gedeelte van een aanschafplan.

### Eluentopslag

Eluenten moeten vrij van vaste deeltjes zijn en een efficiënt filtersysteem mag dan ook niet ontbreken in een HPLC-laboratorium. Kies voor een opslagsysteem voor eluenten, waarbij ontgassing van eluenten op eenvoudige manier mogelijk is (bijvoorbeeld via het doorleiden van Helium) en waarbij tevens verdamping van eluentcomponenten en het gebruik van Helium tot een minimum beperkt blijft. Een elegante oplossing hiervoor vormen de zogenoemde integrale solventsysteemen, die een economisch gebruik van Helium bevoor-

ren en daarnaast het eluent onder een geringe constante druk houden. Afgezien van andere ontgassingsmethoden, die nog weinig in zwang zijn, zijn recentelijk on-line ontgassers op de markt verschenen. Hierbij wordt het eluent tussen eluentreservoir en pomp langs een semi-permeabel membraan geleid. Door middel van vacuüm wordt vervolgens opgelost gas uit het eluent verwijderd. Deze systemen zijn veelal in meerkanaals-uitvoeringen beschikbaar.

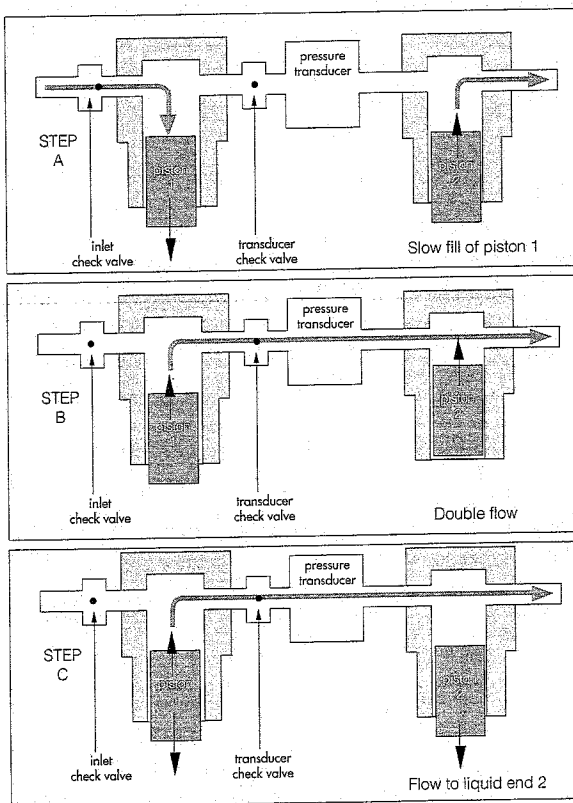
### Pompsystemen

In het algemeen moeten HPLC-pompen onafhankelijk van het type eluent en de kolomweerstand een constant en pulsarm debiet leveren. Daarnaast moet het eluentdebiet binnen bepaalde grenzen nauwkeurig en reproduceerbaar ingesteld kunnen worden. In principe heeft bij HPLC het werken met constante debietpompen de voorkeur boven constant-drukpompen. Immers, het eerstgenoemde type garandeert een constante lineaire eluentsnelheid, welke onafhankelijk is van de kolomweerstand.

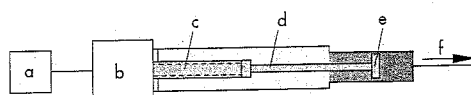
De meest gebruikte HPLC-pompen zijn van het reciprocerende type; waarbij het concept van de twee- of dubbelkopspomp overheerst (figuur 3). Daarnaast zijn ook éenkopspompen op de markt, waarbij de snelle inlaatslag kenmerkend is (figuur 4). Door een reeks mechanische en elektronische ingrepen zijn ontwerpers er in geslaagd van deze, in principe pulsrijke, pomptypen, betrouwbare, pulsarme en veel toegepaste pompsystemen te maken. Echter, de bestaande kwaliteitsverschillen tussen typen en fabrikaten moeten in het oog worden gehouden en een keuze moet dan ook tegen het licht van de gebruikerseisen worden gemaakt. Bijvoorbeeld bij HPLC-scheidingen waarbij brekingsindex of elektrochemische detectie wordt toegepast, worden aanzienlijk hogere eisen met betrekking tot een pulsarm debiet gesteld dan bijvoorbeeld bij ultraviolet-detectie.

Een pomptype dat uiterlijk veel gelijkenis vertoont met de dubbelkops reciprocerende pompen, maar toch een geheel ander werkingsprincipe heeft, is afgebeeld in figuur 5. Typische kenmerken van dit pomptype zijn de aanwezigheid van slechts twee kleppen in plaats van vier kleppen bij conventionele dubbelkops pompen. Daarnaast is de inhoud van de ene cilinder aanzienlijk groter dan van de tweede pompcilinder. Het schema in figuur 5 laat duidelijk het werkingsprincipe zien, dat is te onderscheiden in drie verschillende fasen. Minder storingsgevoeligheid (slechts twee kleppen) en

FIGUUR 5  
'Accumulator piston' pump.  
(Produktinformatie Thermo Separations Products)



FIGUUR 6 Plunjerpomp (J.F.K. Huber, *Instrumentation for High Performance Liquid Chromatography*, J. Chromatogr. Libr., Vol. 13, Elsevier, Amsterdam 1978)



een zeer pulsarm constantdebiet zijn principiële voordelen van dit type pompen.

Naast de reciprocerende pompen heeft de laatste jaren ook de plunjerpomp zijn rentree gemaakt op de markt. Deze pomp, gekenmerkt door een relatief groot cilindervolume, is uitermate geschikt voor geminiaturiseerde HPLC, waarbij lage en pulsarme debieten van belang zijn (figuur 6). In tegenstelling tot de reciprocerende pomptypen, die uitermate geschikt zijn voor het uitvoeren van gradiëntelutie analyses, is dat bij plunjerpompen veel gecompliceerder en wordt daarmee dan ook nauwelijks toegepast. De keuze voor een bepaald pompsysteem wordt ook mede bepaald door de vraag of er gradiëntelutie mee moet kunnen worden uitgevoerd.

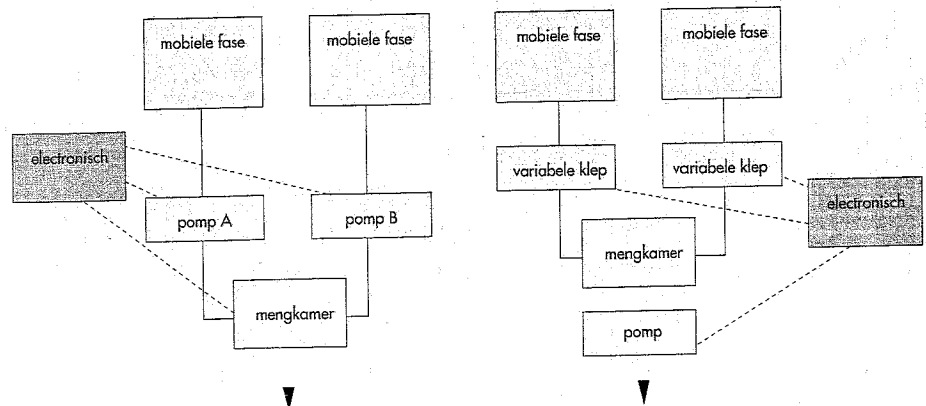
### Storingen

De belangrijkste bron van storingen bij pompen is in het algemeen het voorkomen van lekkende plunjers en/of niet-functionerende in/uitlaatkleppen. Dit doet zich vooral vaak voor bij het gebruik van zouthoudende (buffers) en/of niet-gefiltreerde eluenten. Vaste deeltjes in eluenten zetten zich af in de in/uitlaatkleppen van pompen, waardoor deze niet of onvoldoende meer afsluiten. Ook kan deze afzetting plaatsvinden aan plunjers en afdichtingen, waardoor deze ernstig kunnen beschadigen. Dit laatste kan ook het geval zijn bij toepassing van zouthoudende eluenten. Ook bij goed functionerende pompen lekt er vaak een zeer geringe hoeveelheid eluent langs de afdichtingen naar de buitenzijde. Het eluent verdampt en laat vaak harde zoutkristallen achter, die door de me-

chanische plunjerbewegingen ernstige schade toebrengen aan afdichtingen en plunjers.

De meest voorkomende praktijkproblemen betreffen in dit opzicht dan ook de hierboven geschetste situaties. Dit betekent dat gebruikers veel kunnen doen om storingen te voorkomen en daarmee de juiste werking over lange tijd bevorderen. Het uitsluitend gebruiken van zorgvuldig gefiltreerde eluenten over 0,2-0,4  $\mu\text{m}$ -filters is een absolute noodzaak om de goede werking van een pomp te garanderen. Hierin past ook het gebruik van een filterkorf (< 2  $\mu\text{m}$ ) aan de inlaatzijde van de pomp en de toepassing van een 'in-line' filter (< 2  $\mu\text{m}$ ) vóór de pomp om schadelijke deeltjes weg te vangen. Deze filters moeten overigens periodiek worden gereinigd om verstopping te voorkomen. Zoals eerder aangegeven levert het gebruik van zouthoudende eluenten extra problemen op. Een aantal maatregelen moet hier worden genomen. Naast de gebruikelijke maatregelen met betrekking tot filtratie, moet men erop toezien, dat het eluent niet wordt verontreinigd door bacterie of schimmelgroei. Dit treedt vaak op bij gebruik van waterige eluenten. Het gebruik van vers geprepareerde eluenten, het toevoegen van conserveermiddelen, zoals 0,02 procent natriumazide, en het bewaren van eluenten in de koude zijn maatregelen die men kan nemen. Minstens zo belangrijk is het vóórkomen van zoutafzetting op de buitenzijde van de plunjers. Minimaal dagelijks spoelen met water of het aanbrengen van een, veelal optioneel verkrijgbaar, continu spoelsysteem zijn hier de juiste preventieve acties. Tenslotte heeft de ervaring geleerd, dat zouthoudende eluenten, die stilstaan in HPLC-instrumenten, deze beduidend

FIGUUR 7 Principe hoge- en lagedruk-gradiëntvormers (C.F. Poole and S. Poole, *Chromatography Today*, Elsevier, Amsterdam, 1991)



sterker aantasten dan onder stromingscondities. Laat dan ook altijd een klein eluentdebiet door het systeem stromen. Daarnaast is het sterk aan te bevelen om in situaties, waarbij metingen met deze eluenten worden beëindigd, het gehele systeem direct grondig te spoelen met een neutraal eluent. Voorkom hierbij dat, bijvoorbeeld door een eluent gradiënt aan te leggen, zouten kunnen neerslaan in apparatuur of kolom.

Samenvattend het gewenste bereik, nauwkeurigheid en reproduceerbaarheid van debiet, de mate waarin dat pulsarm moet zijn en de mogelijkheden met betrekking tot het uitvoeren van gradiëntelutie zijn de belangrijkste criteria bij de selectie en aanschaf van een HPLC-pompsysteem. Tenslotte, in het algemeen behoeven HPLC-pompen weinig of geen preventief onderhoud aan mechanische en/of elektronische onderdelen. Voor zover dit noodzakelijk is, blijft dit veelal een taak voor de gespecialiseerde servicemonteur.

### Gradiënt-elutie analyses

Gradiëntelutie wordt vooral toegepast bij de analyse van monsters, waarvan een aantal componenten een niet-acceptabele retentiefactor hebben onder isocratische omstandigheden. Door de elutiesterkte van het eluent gedurende de analyse te verhogen als functie van de tijd kunnen alle monstercomponenten in acceptabele tijd van de kolom worden geëluëerd. De vorming van nauwkeurige en reproduceerbare eluentgradiënten is een tech-

nisch gecompliceerd proces, waaraan hoge eisen worden gesteld. Immers, twee of meer vloeistoffen van uiteenlopende viscositeiten moeten nauwkeurig in verschillende verhoudingen samengevoegd, gemengd en naar de kolom worden verpompt.

### Hoge- en lage druksystemen

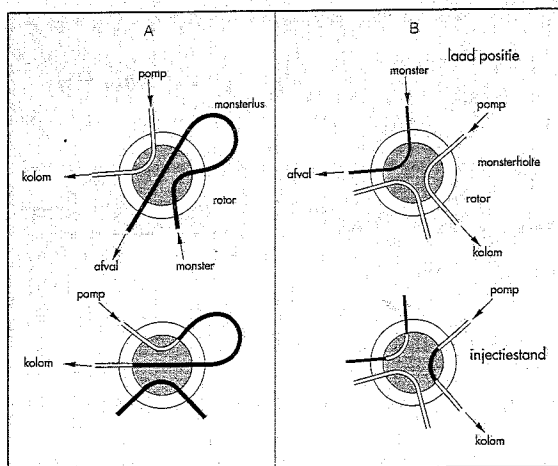
Gradiëntvormers kunnen worden onderverdeeld in hoge- en lagedruksystemen al dan niet voorzien van geïntegreerde mixers (figuur 7). Bij hogedruk-gradiëntvormers is in principe voor elk solvent een hogedruk-pomp nodig, wat deze systemen relatief kostbaar maakt. De verschillende pompen worden door een centrale regeleenheid bestuurd om het gewenste gradiëntprofiel te bereiken. Bij lagedruk-gradiëntvormers worden via speciale doseerpompen of electromagnetische ventielen de gewenste eluentsamenstelling bereid en door middel van geïntegreerde of externe mixers gehomogeniseerd. Bij lagedruk-gradiëntvormers is slechts een hogedruk-pomp nodig om het eluent over de kolom te pompen. De kwaliteit van lagedruk-gradiëntvormers, die de laatste jaren op de markt zijn gebracht, doet niet meer onder voor de gradiëntprofielen, welke met hogedrukvormers te bereiken zijn. De belangrijkste eisen waaraan een gradiëntstelsel moeten voldoen zijn:

- exacte overeenkomst tussen het geprogrammeerde en het daadwerkelijke geproduceerde gradiëntprofiel;
- het gradiëntprofiel moet nauwkeurig en reproduceerbaar zijn, over een breed traject van het debiet.

Meer en meer worden gradiëntvormers ook toegepast om isocratische eluenten samen te stellen. In principe komt dit de nauwkeurigheid en het gebruikersgemak ten goede. De kwaliteit van gradiëntprofielen is middels relatief eenvoudige testen te bepalen en dit maakt controle van bestaande of evaluatie van aan te schaffen apparatuur door gebruikers relatief eenvoudig. Voor de uitvoering wordt verwezen naar de literatuur.

Samenvattend geldt dat aankoop van gradiëntapparatuur in nauwe samenhang moet worden gezien met reeds aanwezige of aan te schaffen pompsystemen. Ook hier geldt, dat aanschaf in hoge mate wordt bepaald door het nagestreefde doel. Bijvoorbeeld aan een gradiëntstelsel, dat over het traject 0-100 procent een nauwkeurig stappengradiënt moet produceren in een routine-situatie, worden bepaald andere eisen gesteld dan aan een gradiëntvormer die slechts over een beperkt gebied een lineair gradiëntprofiel moet leveren.

**FIGUUR 8** Principe injectiekraan voor HPLC (J.F.K. Huber, *Instrumentation for High Performance Liquid Chromatography*, J. Chromatogr. Libr., Vol. 13, Elsevier, Amsterdam, 1978)



Met betrekking tot preventief onderhoud van apparatuur voor gradiëntelutie zijn de maatregelen beschreven onder 'pompsystemen' volledig van toepassing. Een extra punt van aandacht vormt hier het elektromagnetische kleppensysteem bij laagdruk-gradiëntsystemen, dat mede zorg draagt voor de juiste samenstelling van het eluent. Regelmatige controle, via een standaardprocedure op de juiste werking van de gradiëntvormer is aan te bevelen om betrouwbare analyseresultaten te garanderen.

### Injectiesystemen

Injectiesystemen moeten monsters nauwkeurig en reproduceerbaar op de top van de kolom deponeren, onder relatief hoge drukken van het eluent. Sinds lang is daarvoor de injectiekraan het meest gebruikte instrument. Na het vullen van een in- of uitwendige monsterlus van gedefinieerd volume, wordt de inhoud hiervan na het omzetten van de kraan opgenomen in de eluentstroom naar de kolom (zie figuur 8). Dit type kranen wordt gekenmerkt door grote precisie, reproduceerbaarheid, betrouwbaarheid en bedieningsgemak. Deze doseerkranen worden dan ook op ruime schaal gebruikt en vinden daarnaast toepassing in automatische monstereinjectionssystemen en apparatuur voor monstervoorbewerking. Het betrouwbaar functioneren en de levensduur van monsterdoseersystemen hangen sterk af van het (preventief) onderhoud, dat de gebruiker bereid is hierin te in-

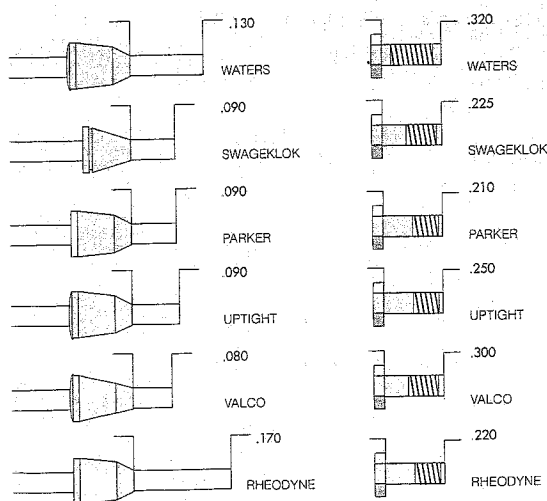
vesteren. Het regelmatig, minimaal dagelijks, spoelen van injectiesystemen en het gebruik van schone eluenten verlengen levensduur en betrouwbaar functioneren van deze apparaten zeer aanzienlijk. Verder is ook het injecteren van gefiltreerde monsters ( $< 2 \mu\text{m}$ ) noodzakelijk om de goede werking van doseersystemen op termijn te garanderen.

### Kolommen

De kolomkeuze en speciaal de aard van de stationaire fase hierin, in combinatie met de samenstelling van het eluent bepalen grotendeels het succes van een scheiding. De keuze voor een bepaalde scheidingskolom wordt veelal gemaakt op grond van literatuurinformatie, eigen expertise en prijstechnische overwegingen. Door het grote aanbod aan kolomtypen, welke in de verschillende uitvoeringsvormen van HPLC inzetbaar zijn, en het vaak ontbreken van adequate productinformatie en testsystemen is een objectieve kolomkeuze voor de applicatiechemicus vaak een bron van zorg. Zoveel mogelijke beperking van het aantal kolomfabrikanten in het laboratorium en het opzetten van goede testprotocollen voor de verschillende kolomtypen kan veel problemen voorkomen. Daarnaast kan ook het opzetten van een kolomboekhouding, waarin testresultaten, kolomprestaties, levensduur, et cetera worden geregistreerd hiertoe bijdragen. Mits juist opgezet, resulteert dit in een gegevensbestand van kolommen, dat bij klachten en storingen richting leverancier, maar ook bij kolomkeuzes voor nieuwe applicaties, goede diensten kan bewijzen.

Goed onderhoud van HPLC-kolommen is van groot belang, zowel onder opslag- als gebruiksomstandigheden. Met betrekking tot de opslag van kolommen is het belangrijk de aanwijzingen van de leverancier in deze nauwkeurig op te volgen. Het afwijken hiervan kan consequenties hebben voor levensduur en kwaliteit van de kolom. Ook moet een kolom te allen tijde op de juiste wijze afgesloten worden bewaard, om uitdrogen te voorkomen. Uitgedroogde kolommen zijn vaak moeilijk weer in goede conditie te brengen. Onder gebruiksomstandigheden moeten maatregelen worden genomen om vervuiling en verstopping van kolommen te vermijden. De maatregelen aangaande onderhoud beschreven onder de secties 'kolom- en injectiesystemen' hebben ondubbelzinnig een positief effect op de werking en levensduur van HPLC-kolommen. In het bijzonder voor routinematige situaties is daarnaast de toepassing van voorkolommen, die de kolom beschermen te-

**FIGUUR 9** Verschillende typen aansluitingen. (Produktinformatie Inacom, Veenendaal, NL)



gen vervuiling, et cetera sterk aan te bevelen. Naast het gebruik van goede gefiltreerde eluenten en monsteroplossingen is het belangrijk kolommen regelmatig te spoelen met geschikte oplosmiddelen. Dit voorkomt in veel gevallen afzetting van contaminanten uit monsters in de kolom, waardoor op den duur de juiste chromatografische werking wordt aangetast. Het gepakte chromatografische bed in HPLC kolommen is in het algemeen zeer gevoelig voor abrupte drukfluctuaties, waardoor er kanaalvorming in een kolom kan optreden. Dit leidt onherroepelijk tot een sterke meestal onomkeerbare terugval in de kolomefficiëntie. Uitzonderingen daargelaten, moet de kolom in zo'n geval als verloren worden beschouwd. HPLC-kolommen moeten dan ook worden beschermd tegen plotselinge drukveranderingen. Het terugbrengen van de eluentconsumptie op grond van financiële en milieuoverwegingen staat momenteel sterk in de belangstelling. In routinelaboratoria kan hierop reeds worden ingespeeld door kolommen met inwendige diameters van 3 of 2 mm te gebruiken. Deze kolommen zijn inmiddels commercieel beschikbaar, van uitstekende kwaliteit en kunnen vaak worden gebruikt met de reeds in het laboratorium aanwezige HPLC-apparatuur. Deze eerste stap op weg naar de invoering van geminiaturiseerde HPLC kan reeds aanzienlijke besparingen, tot 75 procent in het eluentgebruik, opleveren. Een verdere diepgaande bespreking van de problemen rond kolomkeuze en gebruik valt buiten het bestek van dit artikel.

### Verbindingsleidingen

Algemeen geldt dat deze leidingen van HPLC-kwaliteit, zo kort mogelijk en zonder dode hoeken moeten zijn. Voor conventionele HPLC (kolommen >4 mm) geldt als vuistregel, dat de gebruikte leidingen, vooral tussen injector en detector, een inwendige diameter van maximaal 0,25 mm moeten hebben. Leidingen kunnen op maat gekocht of met juist gereedschap worden gemaakt. Veel aandacht moet ook worden besteed aan een juiste keuze en montage van koppelingen, verloopstukken, et cetera. De op de markt gangbare systemen zijn vaak niet compatibel (figuur 9) en ook ondeskundige montage kan aanleiding geven tot dode volumina, resulterend in extra piekverbreding en of piekasymetrie. De laatste jaren zijn er naast de gebruikelijke leidingen en connecties van roestvast staal ook uitvoeringen in kunststof op de markt verschenen. Tegenover de beperkte toepasbaarheid met betrekking tot oplosmiddelen staan de voordelen van deze kunststofmaterialen met

betrekking tot flexibiliteit en herbruikbaarheid. Echter, voor het afschuiven van kunststofleidingen aan de hogedrukzijde in HPLC-apparatuur, is het wachten nog op een solide definitieve oplossing.

Hierover kan men kort zijn. In de huidige tijd, waar hoge eisen met betrekking tot precisie en reproduceerbaarheid van resultaten worden gesteld, waar meer en meer onder gevalideerde condities moet worden gewerkt, is thermostering van kolom en liefst ook van het eluent een noodzaak. De gebruiker kan in het algemeen kiezen uit luchtthermostaten, die in elk geval explosie veilig moeten zijn ontworpen en eenvoudiger watermantels. Dit laatste is vaak een goedkopere oplossing, omdat in het laboratorium aanwezige thermostaten hierbij kunnen worden gebruikt.

### Detectoren

De keuze van een detectiesysteem in de HPLC wordt in hoofdzaak bepaald door de aard van de te meten componenten en de vereiste detectiegevoeligheid en/of specificiteit. Naar gelang detectoren een bulkeigenschap van het kolomeffluent meten, dan wel een specifieke groep van stoffen, worden detectoren geclassificeerd als respectievelijk universele en specifieke detectoren. Een andere indeling berust op het feit dat de gemeten detectoreigenschap een functie van de concentratie van de component in het eluent is, of wel evenredig met de hoeveelheid component die per tijds-eenheid de detector passeert. Detectoren worden dan respectievelijk gekarakteriseerd als concentratie- of massastroomgevoelig. Een verdere indeling kan plaats vinden op grond van werkingsprincipes zoals bijvoorbeeld spectrofotometrisch en elektrochemisch. Voor de gebruiker zijn natuurlijk detectoreigenschappen als ruis, gevoeligheid, laagst aantoonbare detectielimiet en lineair werkgebied van het grootste belang. De meest gebruikte detectoren in de HPLC zijn gebaseerd op optische meetprincipes. Binnen deze groep wordt de hoofdmoot gevormd door ultraviolet (UV) detectoren, gevolgd door fluorescentie- en brekingsindex detectoren. Hiervan behoren de UV- en fluorescentiedetectoren tot de concentratiegevoelige, specifieke typen. Brekingsindex detectoren zijn universeel en concentratiegevoelig.

Alhoewel UV-detectoren specifiek zijn, worden deze in de HPLC zeer veelvuldig gebruikt. UV-detectoren worden onderscheiden in vaste of variabele golflengtedetectoren. In het eerste geval zijn er één of enkele intense lijnen van verschillende

golflengten beschikbaar, bijvoorbeeld 254 nm met behulp van lagedruk-kwiklamp. Variabele golflengtedetectoren leveren een continu spectrum, waaruit een specifieke golflengte met behulp van een monochromator kan worden geselecteerd. Genormeerd naar optische weglengte verschillen signaal/ruisverhoudingen tussen de diverse beschikbare moderne UV-detectoren niet spectaculair. Een

## Een probleem is de onbekendheid van veel potentiële gebruikers met de mogelijkheden van de verschillende typen MS instrumenten

belangrijke overweging is de eventuele aanschaf van een UV Diode Array Detector (DAD). Dit type detector, dat beduidend prijziger is dan een conventionele UV-detector, kan goede diensten bewijzen bij structuuropheldering of -bevestiging, piekzuiverheidsmetingen, en is onmisbaar in een aantal programma's voor eluentoptimalisatie.

De fluorescentiedetector is bij uitstek geschikt wanneer gevoelige en/of specifieke detectie van fluorescerende componenten, zoals bijvoorbeeld veel geconjugeerde organische verbindingen, noodzakelijk is. Specificiteit voor een component wordt verkregen doordat zowel de excitatie als de emissiegolflengte specifiek zijn voor een bepaalde verbinding. Voordelen van de fluorescentiedetector zijn de vaak hoge gevoeligheid en specificiteit. Dit laatste is tevens het grootste nadeel van dit type detector, omdat het een brede toepasbaarheid in de weg staat.

Brekingsindex- of refractometerdetectoren zijn universele detectoren, die kunnen worden onderverdeeld in afbuigings- en reflectietypen. In principe wordt met deze detector elke component in het eluent gemeten. Echter, de relatief lage gevoeligheid, de sterke afhankelijkheid van de brekingsindex van de temperatuur, en de gevoeligheid voor drukschommelingen van het eluent, hebben een brede toepassing van dit type detector tot dusverre in de weg gestaan. Op grond van hun werkingsprincipe zijn brekingsindexdetectoren niet geschikt voor gradiëntelutie-analyse.

Recenter is de verdampings-lichtverstrooiingsdetector (ELSD), die werd ontwikkeld om de nadelen van brekingsindexdetectoren te ondervangen. Dit type detector is universeel en concentratiegevoelig, en berust op de optische meting van de gevormde componentdeeltjes na verwijdering van het eluent via verneveling en verdamping. De

ELSD is gevoeliger dan de brekingsindexdetector en kan worden toegepast in combinatie met gradiëntelutietechnieken. Nadelen zijn de storingsgevoeligheid en de beperkte toepasbaarheid met betrekking tot de samenstelling van eluenten.

Naast detectoren op optische meetprincipes worden ook elektrochemische detectoren toegepast, zoals amperometrische en conductometrische detectoren. Amperometrische detectoren zijn concentratiegevoelig en bijzonder geschikt wanneer componenten die redox-activiteit vertonen specifiek en in lage concentraties moeten worden aangetoond. Bekende voorbeelden hiervan zijn catecholamines en koolhydraten. Een snel aan populariteit winnende uitvoeringsvorm van dit type detector is de Pulsed Amperometric Detector (PAD). Het voordeel van deze detector is, dat het meet-signaal wordt verkregen uit een sequentie van spanningspulsen, die de elektrode-oppervlakken reinigen. Hierdoor wordt een aanzienlijk grotere reproduceerbaarheid van detectorsignaal, stabiliteit en werkingsduur van de detector bereikt.

Geleidbaarheids- of conductiviteitsdetectoren zijn concentratiegevoelig en specifiek, en worden toegepast bij de analyse van ionen in het kolomeffluent. Het verkregen detectiesignaal wordt in hoge mate bepaald door het verschil in equivalent geleidbaarheid tussen het eluent en de component en de concentratie van deze laatste. Bij een juiste keuze van de ionsterkte van het eluent en/of toepassing van suppressietechnieken, kunnen met de conductometrische detector hoge gevoeligheden worden behaald.

Het werken met elektrochemische detectoren stelt in het algemeen hoge eisen aan de stabiliteit van het eluentdebiet, de thermostering en de afwezigheid van redox-actieve of geleidende verontreinigingen in het eluent. Ook zijn deze typen detectoren gevoelig voor elektrische storingen in de omgeving.

Analoog aan eerdere ontwikkelingen in de GC neemt de belangstelling en toepassing van de massaspectrometrische (MS) detector, direct gekoppeld aan HPLC, gestaag toe. Echter, de onbekendheid van veel potentiële gebruikers met de mogelijkheden van de verschillende typen MS instrumenten en ionisatiesystemen vormen een probleem met betrekking tot de selectie voor specifieke applicatiegebieden. Daarnaast is vaak de prijs nog een stevige belemmering bij de invoering van HPLC-MS in het laboratorium. Het lijkt echter geen twijfel, dat in de nabije toekomst HPLC-MS-technieken een belangrijke plaats in het analytisch laboratorium zullen innemen.

In het algemeen behoeven de elektronische en mechanische onderdelen van de gangbare moderne detectoren weinig of geen onderhoud. Voor zover van toepassing blijft dit trouwens een taak voor de gespecialiseerde servicedienst. Evenals bij andere onderdelen van HPLC-apparatuur is het bij intensief gebruik aan te bevelen dit periodiek te laten uitvoeren om de voortgang in de routine niet te verstoren. De rol van de gebruiker bij het (preventief) onderhoud van detectoren blijft beperkt tot het tijdig wisselen en justeren van lichtbronnen bij optische detectoren en het reinigen van elektroden van elektrochemische detectoren. Voor deze zaken raadplegen de handleidingen van de apparatuur.

### Accessoires

Om HPLC-analyses voor te bereiden en uit te voeren, staat de tegenwoordige chromatografische keur aan hulpapparatuur te beschikking. De analytisch chemicus kan kiezen uit een groot aanbod van monsterintroductionsystemen, on- en offline monsterbewerkingsapparatuur, fractieverzamelaars, leidingen, connectoren, et cetera. Bij aanschaf van deze accessoires zijn overwegingen van standaardisatie in het laboratorium en compatibiliteit met reeds aanwezige apparatuur van groot belang. Omdat prestaties van monsterbewerkingsapparatuur sterk afhangen van de aangeboden monstermatrix is het zeer zeker aan te bevelen deze aspecten vóór aankoop van dit soort apparatuur te onderzoeken. Veelal zijn een aantal accessoires zoals fractieverzamelaars en solid-phase extractieapparatuur programmeerbaar en daarmee in principe goed inzetbaar in automatische analyseprocedures. Ook in dit geval is het noodzakelijk de compatibiliteit met reeds aanwezige analyse- en/of computerapparatuur na te gaan en zo te leestellingen te voorkomen.

Nadat de technische wensen met betrekking tot de apparatuur zijn geïnventariseerd, komt de vraag aan de orde bij welke leverancier(s) het instrumentarium aan te schaffen. Zoals in de inleiding opgemerkt kan men, als het een uitbreiding van apparatuur betreft, putten uit ervaringen met eerdere leveranties. Dit ligt uiteraard anders wanneer het een eerste aanschaf betreft. In het algemeen is, indien mogelijk, aankoop van alle apparatuur bij één leverancier aan te bevelen. Dit versterkt bij problemen of storingen de positie van de gebruiker in niet geringe mate.

Eén van de belangrijkste zaken is het bestuderen en vergelijken van de aangeboden apparatuur en technische beschrijvingen. Hieruit moet blijken of

de apparatuur aan de eisen kan voldoen. In de inleiding is reeds gesproken over applicatiegarantie, een serieuze leverancier zal geen probleem hebben met een op uw applicatiebehoefte gerichte demonstratie van (hulp)apparatuur. Vraag in twijfelgevallen naar referenties van collega-analytisch chemici. Vooral voor routinesituaties zijn goede (prijs)afspraken omtrent service, onderhoud en de tijdslijmiet waarbinnen dit plaats vindt van groot belang. Ook de mogelijkheden om het onderhoud (deels) zelf uit te voeren en goede afspraken omtrent instructie bij aflevering behoren bij het aankooppakket. Met betrekking tot instructie heeft de praktijk inmiddels bewezen dat deelname aan goede cursussen investeringen met hoog rendement zijn. Het spreekt vanzelf, dat bij aankoop respectievelijk aflevering de apparatuur terdege op de overeengekomen specificaties getest moet worden, zoals bijvoorbeeld: het testen van vorm en herhaalbaarheid van gradiëntprofielen, het meten van ruisniveau en detectielimieten van detectoren. Voor het uitvoeren van dergelijke tests raadplegen de literatuur.

Een belangrijke vraag ten slotte is wat beoogde leveranciers voor het laboratorium verder kunnen (blijven) betekenen met betrekking tot kennis en applicatieondersteuning. Vooral als men zelf geen tijd en personele middelen heeft om onderzoek uit te voeren, kan dit van groot belang zijn. Een aanschaf van apparatuur gebaseerd op uitsluitend financiële gronden en dus goedkoop hoeft mede daarom niet noodzakelijk ook duurkoop te zijn.

### Literatuur

- J. Knox (Ed.), 'High Performance Liquid Chromatography', Edinburgh University Press.
- 'Instrumentation for high performance liquid chromatography', J. Chromatogr. Libr., Vol. 13, J.F.K. Huber (Ed.), Elsevier, Amsterdam, 1978.
- C.F. Poole and S.K. Poole, 'Chromatography Today', Elsevier, Amsterdam, 1991.
- R.S. Deelder, P.H. Tomassen, J.H.M. van den Berg, 'Chromatografie', Heron-reeks, Elsevier, Amsterdam, 1985.
- P.R. Haddad and P.F. Jackson, 'Ion Chromatography', J. Chromatogr. Libr., Vol. 46, Elsevier, Amsterdam, 1990.
- J.S. Fritz, D.T. Gjerde, C. Polandt, 'Ion Chromatography', Chromatographic Methods, Hüthig Verlag, Heidelberg, 1982.-
- J.W. Dolan and L.R. Snyder, 'Troubleshooting LC Systems', Humana Press Inc., Clifton, NJ, USA, 1989.