

DIE PARAMETER DES DAD

WIE UNTERSCHIEDLICHE PARAMETEREINSTELLUNGEN
DAS CHROMATOGRAMM BEEINFLUSSEN KÖNNEN.



PARAMETER 1:

DIE BANDBREITE

Die Bandbreite der Messwellenlänge ist ein Parameter, durch den die Daten mehrerer Dioden zur Berechnung des Signals zusammengefasst werden. Durch Veränderung der Bandbreite kann die spektrale Auflösung beeinflusst werden. Ist diese zu groß, werden mehrere Signale als ein Signal detektiert und eine Unterscheidung ist nicht mehr möglich (Abbildung 2).

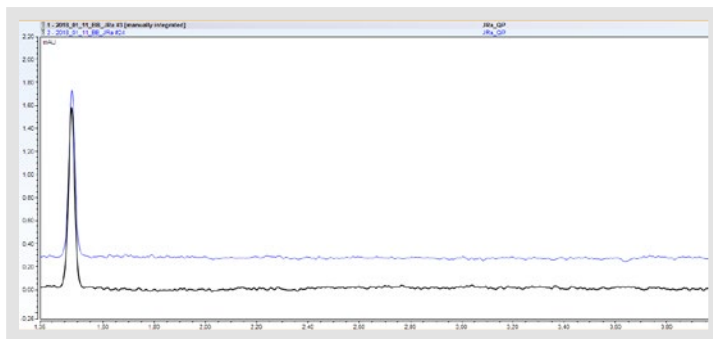


Abbildung 1: Chromatogramm von Naphthalin bei 1nm (schwarz) und 96 nm (blau) Bandbreite.

Der Einfluss der Bandbreite auf das Signal-zu-Rausch Verhältnis ist im Gegensatz zum Einfluss auf die Auflösung sehr schwach ausgeprägt und kann nur sehr selten beobachtet werden (Abbildung 1). Daher ist die Empfehlung, mit kleinen Bandbreiten zu arbeiten, sofern mit der Identifizierung über eine Spektrenbibliothek gearbeitet wird.

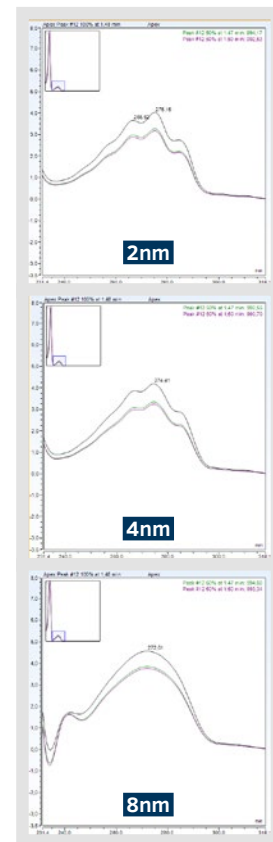


Abbildung 2: Ausschnitt des UV-Spektrums von Naphthalin bei unterschiedlichen Bandbreiten.

PARAMETER 2:

DIE REFERENZWELLENLÄNGE

Die Referenzwellenlänge stellt ein zweites Chromatogramm dar, dass parallel gemessen wird. Dieses Chromatogramm wird im Folgenden von dem Messchromatogramm subtrahiert, sodass eine auf-tretende Drift eliminiert werden kann. Zudem wird das Signal-zu-Rausch Verhältnis verbessert (Abbildung 3). Allerdings kann es bei einer falsch gewählten Referenzwellenlänge auch zur Eliminierung von Signalen kommen, was in Abbildung 3 gut zu erkennen ist.

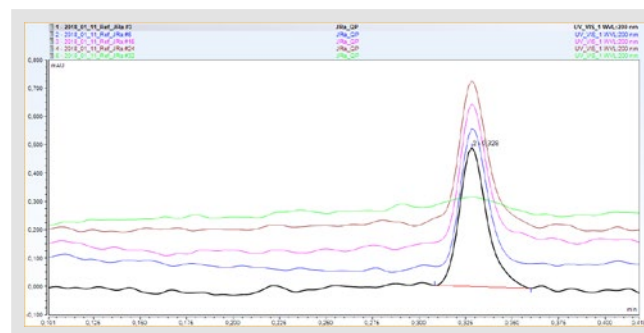


Abbildung 3: Ausschnitt aus einem Chromatogramm. Der Uracil-Peak verschwindet bei einer Referenzwellenlänge von 200nm (grün). Das Signal-zu-Rausch Verhältnis ohne Referenzwellenlänge (schwarz) ist schlechter als mit 500nm (blau), 400nm (rosa) oder 300nm (braun).

|PARAMETER 3:

DIE SCHLITZWEITE

Die Schlitzweite regelt die Lichtmenge, die die Durchflussmesszelle erreicht. Wenig Licht, das durch eine schmale Schlitzweite den Detektor erreicht, sorgt für eine gute spektrale Auflösung, wodurch feine Signale im UV-Spektrum gut unterschieden werden können (Abbildung 4). Gleichzeitig ist auch zu erkennen, dass bei einer größeren Schlitzweite Information verloren geht.

Wird eine große Schlitzweite gewählt, so kann mittels der höheren Lichtintensität eine Verbesserung der Empfindlichkeit des Detektors erreicht werden, was in einer Reduktion des Signalrauschens resultiert und somit auch das Signal-zu-Rausch Verhältnis verbessert (Abbildung 5).

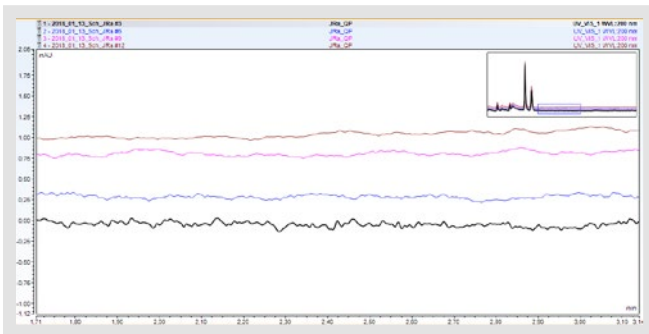


Abbildung 5: Signalrauschen bei unterschiedlichen Schlitzweiten. Die Verbesserung von 1 nm (schwarz) zu 8 nm (braun) ist gut erkennbar.

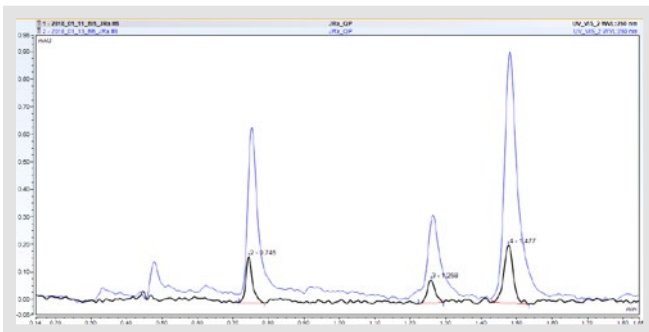


Abbildung 6: Messung einer Probe gleicher Konzentration mit einer 10mm Messzelle (schwarz) und einer 60mm Messzelle (blau). Die Signalhöhe nimmt deutlich zu. Das Signal bei 0.5min ist nur mit der längeren Messzelle zu sehen.

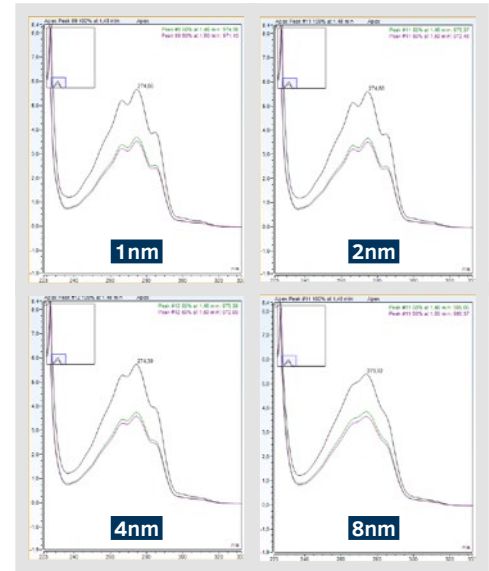


Abbildung 4: Ausschnitt des UV-Spektrums von Naphthalin bei unterschiedlichen Schlitzweiten.

|PARAMETER 4:

DIE MESSZELLE

Durch das Einsetzen einer längeren Durchflussmesszelle kann mehr Volumen zeitgleich vermessen werden, was zu einer Verbesserung der Signalintensität führt. Durch den längeren Messweg kommt es zu einer zusätzlichen Streuung, was das Basislinienrauschen vergrößert. Unter Berücksichtigung beider Faktoren kommt es zu einer Verbesserung des Signal-zu-Rausch Verhältnisses (Abbildung 6). In dem gezeigten Beispiel wurde eine 10mm Messzelle mit einer 60mm Messzelle verglichen. Dabei wurde die Signalhöhe um den Faktor 5 verbessert, das Rauschen um den Faktor 1.4 gesteigert und das Signal-zu-Rausch Verhältnis um den Faktor 3 verbessert. Zudem kann die chromatographische Auflösung verbessert werden, was besonders bei der Spurenanalytik relevant ist (Abbildung 6).

PARAMETER 5:

DIE DATENSAMMELRATE /RESPONSE TIME

Die Datensammelrate stellt die Häufigkeit dar, mit der Messpunkte generiert werden. Die Datensammelrate wird daher in Hertz [Hz] angegeben. Direkt davon abhängig ist die Response Time, was den Kehrwert der Datensammelrate darstellt. Durch ein Erhöhen der Datensammelrate um den Faktor 10 wird das Basislinienrauschen um den Faktor 3 erhöht (Abbildung 7), die Dateigröße steigt um den Faktor 11 an.

Gleichzeitig wird die spektrale Auflösung verbessert, da mit mehr Datenpunkten in kurzer Zeit schmalere Peaks dargestellt und Peaks besser basisliniengetrennt werden können (Abbildung 8).

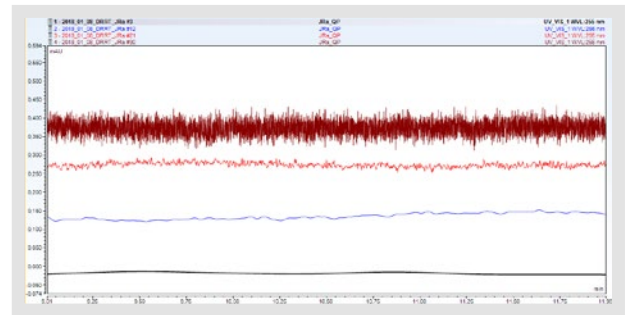


Abbildung 7: Veränderung des Basislinienrauschens bei unterschiedlichen Datensammelraten. Dunkelrot (200Hz); Rot (20Hz); Blau (2Hz) und Schwarz (0.2Hz).

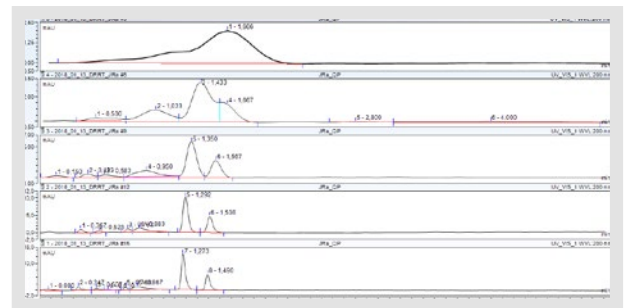


Abbildung 8: Verbesserung der Auflösung mit steigender Datensammelrate. Von oben nach unten: 0.2Hz; 0.5Hz; 1Hz; 2Hz und 5Hz.

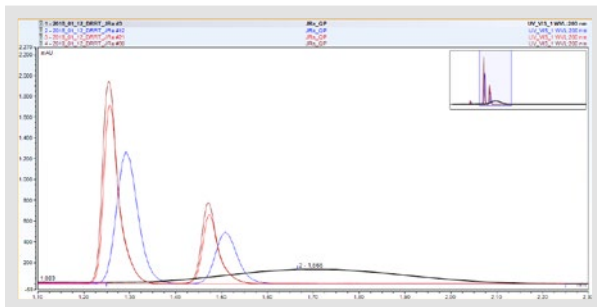


Abbildung 9: Verbesserung der Signalthöhe mit steigender Datensammelrate. Schwarz (0.2 Hz); Blau (2 Hz); Rot (20 Hz) und Braun (200 Hz)

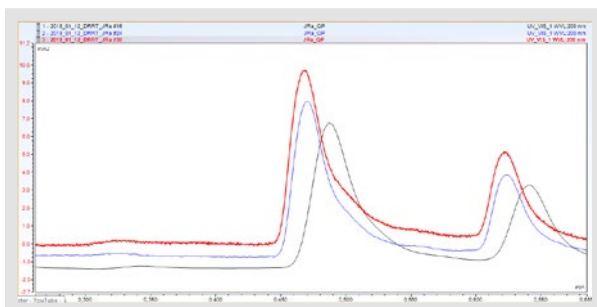


Abbildung 10: Veränderung des Signal-zu-Rausch Verhältnisses. Schwarz (5 Hz); Blau (50 Hz) und Rot (200 Hz)

Darüber hinaus kann durch das Einstellen einer höheren Datensammelrate die Peakhöhe gesteigert werden (Abbildung 9).

Hierdurch wird das Signal-zu-Rausch Verhältnis zunächst verbessert, bei sehr hohen Hertz Zahlen jedoch wieder durch das steigende Basislinienrauschen verschlechtert (Abbildung 10). Der Effekt der Verbesserung des Signal-zu-Rausch Verhältnisses ist zusätzlich abhängig von der Konzentration. Während bei hohen Konzentrationen das optimale Signal-zu-Rausch Verhältnis bei 5Hz erzielt werden kann, ist bei niedrigen Konzentrationen dieser Wert mitunter erst bei 10 oder 20 Hertz erreicht. Bei sehr niedrigen Konzentrationen, bei denen das Detektionsminimum fast erreicht ist, waren zwei Maxima zu beobachten (Meist bei 10Hz und 100Hz).

DR. JULIAN RAMCKE

Life Science Consultant, Qpliance GmbH

Julian Ramcke hat Chemie an der Universität Hamburg studiert und nach abgeschlossener Promotion zunächst im Bereich Korrosionsschutz und Schmierstoffe gearbeitet. Seit 6 Monaten ist er bei der Qpliance GmbH beschäftigt und befasst sich mit den Themen Consulting, GMP sowie Validierungsdokumentation und ist von Thermo Fisher zertifizierter Chromeleon Trainer.

E-Mail: julian.ramcke@qpliance.com

www.qpliance.com





Qpliance GmbH

Klosterstr. 5 | 13581 Berlin

Tel.: +49 (0) 30 55 63 45 16

Mobil: +49 (0) 163 2 04 49 22

info@qpliance.com

[**www.qpliance.com**](http://www.qpliance.com)