

Inhaltsverzeichnis

Zur Einstimmung...

	Seite
...ein Kreuzworträtsel.....	17
...ein Quiz.....	20
...eine chromatographische Geschichte.....	22

1. HPLC-Tipps

1.1. Stationäre Phasen, Säulen

Tipp Nr.	Seite
01 Je älter desto besser – beim Portwein sicher, beim Rotwein vielleicht und bei einer C ₁₈ -Säule?	25
02 Optimierung über die Säulenparameter – was „bringt“ was	28
03 Selektivität „nur“ durch unterschiedliche Wechselwirkungen?	31
04 Die <i>Sicht</i> der Dinge... Oder: Selektivität vs. Peaksymmetrie von basischen Komponenten an hydrophoben Phasen.....	33
05 Trennung von isomeren Verbindungen	36
06 Wann wird eine „polare“ C ₁₈ -Phase benötigt?.....	38
07 Sind polare RP-C ₁₈ -Phasen für die Trennung polarer Analyten besser als apolare?.....	40
08 Nicht endcappte Phasen – „ad acta“ legen?	42
09 Wie trenne ich Säuren mittels RP C ₁₈ ?	44
10 Die Nitrilphase – manche mögen es polar.....	46
11 Selektivitätsregeln für die Auswahl von RP-Säulen	48

1.2. Puffer, pH-Wert

12 Muss es immer Kaliumphosphat sein?.....	50
13 Cut-off von Puffern	51
14 Fehlerquellen bei der Anwendung von Puffern.....	52
15 Nachteile beim Einsatz von Puffern.....	54
16 Wieso ist der pH-Wert so wichtig, was bewirkt er eigentlich?	57

17	Warum verschiebt sich der pH-Wert trotz richtigem Puffer und ausreichender Pufferkapazität?.....	59
18	Verschiebung des pH-Wertes im Eluenten – Gründe und Ausmaß.....	60
19	Ungewollte pH-Verschiebung – die Konsequenzen.....	63
20	RP-Trennungen im Alkalischen	66
21	Trennung von basischen und sauren Komponenten in einer Probe.....	68

1.3. Optimierung, Überprüfung der Peakhomogenität

22	Peaks kommen zu früh – was tun?	70
23	Peaks kommen zu spät – was tun?	72
24	Schnelle Optimierung einer bestehenden Gradientenmethode	77
25	Erhöhung der Effizienz – häufig der schnellere Weg zum Erfolg	80
26	Zusätze im Eluenten	83
27	Unbekanntes Trennproblem – wie soll ich anfangen?	87
28	Trennung einer unbekannt Probe in einem RP-C ₁₈ -System – wie gehe ich vor?.....	90
29	Entwicklung einer RP-Trennung – die „2-Tage-Methode“ Teil 1: Säulen- und Eluentenauswahl	92
30	Entwicklung einer RP-Trennung – die „2-Tage-Methode“ Teil 2: Feinoptimierung	96
31	Schnelle Überprüfung der Peakhomogenität, Teil 1.....	98
32	Schnelle Überprüfung der Peakhomogenität, Teil 2.....	100
33	Gebunden an einer Prüfvorschrift – wie kann man dennoch eine schlechte Trennung verbessern?	102
34	Überprüfung der Peakhomogenität – die etwas aufwendigeren Maßnahmen.....	105
35	Ein „leicht-bekömmlicher“ zum Ersten... ..	111
36	... ein „leicht-bekömmlicher“ zum Zweiten... ..	114
37	... und ein „leicht-bekömmlicher“ zum Dritten	116

1.4. Fehlersuche

38	Systematische Vorgehensweise beim Auftreten von Problemen.....	119
39	Spikes im Chromatogramm.....	121
40	Zusätzliche Peaks bei Trennungen in der Spurenanalytik.....	123
41	Wo kommt ein Geisterpeak her?	125

42	Geisterpeaks beim Blindgradienten	127
43	Ein Peak verhält sich „komisch“ – was kann die Ursache sein?.....	128
44	Wann müssen wir mit einer Änderung der Elutionsreihenfolge rechnen?	130
45	Tailing in der RP-HPLC, Teil 1: Schnelle Ursachenforschung.....	134
46	Tailing in der RP-HPLC, Teil 2: Weitere Ursachen und bewährte Maßnahmen..	136
47	Peakdeformation und Retentionszeitverschiebung aufgrund eines ungeeigneten Probenlösungsmittels	139
48	Reicht das Spülen mit Wasser bzw. mit Acetonitril aus?	144
49	Spül- und „Waschflüssigkeiten“ für eine HPLC-Anlage	146
50	Wann ändert sich die Peakfläche?	148
51	Änderung nur der Peakhöhe bzw. nur der Peakfläche – die Ursachen	150
52	Überbefund bei Gehaltsbestimmung – eine tückische Ursache	152
53	Algen, Pilze und Bakterien in der HPLC	153
54	Sind 40 °C gleich „40 °C“?	155
55	These: Der häufigste Grund für schlechte Reproduzierbarkeit ist eine mangelnde Methodenrobustheit!	157
	Eine Verschnaufspause... ..	161
	Komplettierung von Aussagen.....	162
	Passende Sätze/Aussagen.....	163
	Hat Peaky seine Lektion richtig gelernt?	164

1.5. Allgemeine HPLC-Tipps

56	Was kann sich ändern, wenn man die HPLC-Anlage wechselt?.....	166
57	Was ändert sich am Chromatogramm, wenn das Totvolumen einer isokratischen Anlage größer ist als bei einer anderen?.....	168
58	Beitrag der einzelnen Module einer Anlage zur Bandenverbreiterung	170
59	Konstante Retentionszeiten bei Verkleinerung des Säulendurchmessers – so klappt es!.....	173
60	3-µm-Material – reif für die Routine?	175
61	Miniaturisierung ja – aber was ist in der Routine wirklich machbar und sinnvoll?	177
62	Die Peaks kommen mit der neuen Säule später – warum?.....	179

Tipp Nr.	Seite
63 Säulenzlänge, Fluss und Retentionszeiten bei Gradiententrennungen.....	180
64 Säulendimensionen und Gradiententrennungen.....	184
65 Was ist der Unterschied zwischen Totzeit und Totvolumen, Selektivität und Auflösung?	186
66 Die Last mit den kleinen Peaks	188
67 Erniedrigung der Nachweisgrenze durch Optimierung der Injektion	190
68 Einstellparameter einer HPLC-Apparatur	193
69 Die richtige Wellenzlänge – „es ist eine alte Geschichte, doch bleibt sie immer neu“.....	199
70 Charakteristika des Brechungs-, Fluoreszenz- und Leitfähigkeitsdetektors	202
71 Muss es eigentlich immer HPLC sein?	204
72 Methanol vs. Acetonitril.....	207
73 Der Elefant, der Streitsüchtige, der Enthaltsame und der Gesellige oder: Peaks vor der Front?	210
Literatur HPLC-Tipps	214

2. LC/MS-Kopplung, Mikro- und Nano-LC, Quantitative Auswertung

2.1. LC/MS-Kopplung

LC/MS für alle(s)?	215
74 Die Qual der Wahl des LC/MS-Interfaces.....	217
75 Welche mobilen Phasen passen zu LC/MS?	224
76 Phosphatpuffer – die Ausnahme.....	226
77 Gepaarte Ionen	227
78 Verbesserte Elektrospray-Ionisation durch Additiva.....	229
79 Wie kann ich die Nachweisempfindlichkeit steigern?.....	231
80 Nicht linear und wenig dynamisch?	233
81 Wieviel MS ⁿ brauchen Sie?.....	235
Noch mehr Hilfe	237
Literatur LC/MS-Kopplung	238
Interessante Internet-Adressen für die LC/MS-Kopplung.....	239

2.2. Mikro- und Nano-LC

Die Mikro- und Nano-LC – eine kurze Einführung.....	240
82 Niedrigere Effizienz – zu niedrige Bodenzahl, Teil 1	242
83 Niedrigere Effizienz – zu niedrige Bodenzahl, Teil 2	243
84 Niedrigere Effizienz – zu niedrige Bodenzahl, Teil 3	245
85 Empfindlichkeitsgewinn nicht vorhanden.....	247
86 Verbindungen mit Kapillaren aus Fused Silica und PEEK	249
87 Schneller Probenauftrag durch Säulenschaltung.....	250
88 Welches Injektionssystem?.....	252
89 Schutz des Systems	253
90 Retentionszeitshift	254
91 Übertragbarkeit – Downscaling	256
Literatur Mikro-, Nano-LC	258

2.3. Quantitative Auswertung

Teil 1

2.3.1. Praktische Aspekte der Quantitativen Auswertung

2.3.1.1. Peakfläche oder Peakhöhe?.....	259
2.3.1.2. Was beeinflusst die Peakfläche?.....	261
2.3.1.3. Formeln zu den einzelnen Auswertemethoden	262
2.3.1.4. Rechenbeispiele	265

Teil 2

2.3.2. Quantifizierung in der Chromatographie

2.3.2.1. Optimale Trennung – richtige Peakerfassung?	268
2.3.2.2. Wie „denkt“ ein Integrationssystem?.....	273
2.3.2.3. Einstellparameter und ihr Einfluss auf Peakhöhe und Peakfläche	276
2.3.2.4. Was kann man falsch machen?	277

2.3.3. Auswertemethoden

2.3.3.1. Was ist die 100-%-Methode?	278
2.3.3.2. Was ist externe Standardmethode?	278
2.3.3.3. Wozu einen internen Standard?.....	279
2.3.3.4. In welchen Fällen sollte das Additionsverfahren verwendet werden?	281

2.3.4. Gewichtete Regression

2.3.4.1. Wozu einen F-Test, welche Möglichkeiten haben wir noch?	284
2.3.4.2. Wie gewichten wir einzelne Werte?.....	285
2.3.4.3. Wie verwenden wir Excel bei der gewichteten Regression?	287
2.3.4.4. Literatur Quantitative Auswertung	290
2.3.5. Lösungen der Beispiele zur Quantitativen Auswertung.....	291

3. Anhang**3.1. Lösungen der Aufgaben**

3.1.1. Kreuzworträtsel – die Lösung.....	302
3.1.2. HPLC-Quiz – die Lösung	303
3.1.3. Eine HPLC-Geschichte mit Peaky und Chromy – die Lösung.....	306
3.1.4. Komplettierung von Aussagen.....	308
3.1.5. „Passende Paare“	310
3.1.6. „Hat Peaky seine Lektion richtig gelernt?“ – die Lösung	312

**3.2. Aus der Theorie zur Praxis – empirische Formeln, Faustregeln
und einfache Zusammenhänge für den HPLC-Alltag**

314

3.3. Informationsquellen für die Analytik/HPLC.....

325

3.4. Analytik heute.....

333

3.5. Trends in der HPLC.....

338

3.6. Ode an ein totes Pferd.....

344

3.7. Stichwortverzeichnis

346