

Inhaltsverzeichnis

1. Einführung

Seite

Zur Handhabung dieses Buches	11
HPLC – die Entwicklung eines Begriffes	13
Abkürzungen, Symbole	15
Allgemeine Tips für Neueinsteiger	17
Checkliste für die RP-HPLC	23
Einige wichtige chromatographische Begriffe	26

2. Einfache Tests und Entscheidungskriterien

Tip Nr.

01 Was kann ich dem Namen eines Säulenfüllmaterials entnehmen?	29
02 Ist diese C ₁₈ -Säule für meine Probe prinzipiell geeignet?	32
03 Warum kann ich polare Substanzen an der einen C ₁₈ -Säule vernünftig trennen und an der anderen kaum?	35
04 Wie reinige ich schnell eine RP-Phase?	38
05 Wie entgase ich meinen Eluenten am besten?	39
06 Methanol oder Acetonitril?	41
07 Der pH-Wert meines Eluenten ist zu hoch/zu niedrig, was ist zu tun?	43
08 Wie stark sollte der Puffer sein?	44
09 Was sagt mir das Totvolumen einer isokratischen Anlage?	46
10 Übernahme einer Gradientenmethode – der Einfluß der Apparatur	49
11 Arbeitet die Pumpe richtig, präzise oder genau?	51
12 Wie teste ich eine HPLC-Anlage und auch die einzelnen Module?	53
13 Injektion von Substanzen aus wäßrigen Lösungen	56
14 Maximal zulässiges Injektionsvolumen	58
15 Wie kritisch sind Temperaturschwankungen / Temperaturveränderungen? Teil I: Allgemeines, Detektor	60
16 Wie kritisch sind Temperaturschwankungen / Temperaturveränderungen? Teil II: Säule, Trennung	62
17 Wie wähle ich meine HPLC-Anlage bzw. meinen HPLC-Lieferanten aus?	68
18 Ist die vorliegende Methode eine robuste Methode?	72

3. Auftretende Probleme und deren Lösungen

Tip Nr.		Seite
19	Probenvorbereitung – wie kritisch sind welche Fehler?	75
20	Spülen einer HPLC-Anlage	78
21	Schmutz in der UV-Zelle eines Detektors	81
22	Die Lampe ist neu – was ist mit dem Peak los?	83
23	Was sind die Gründe für Druckänderungen bzw. Druckschwankungen?	86
24	Ist der linke oder der rechte Pumpenkopf defekt?	89
25	Basislinienrauschen und Dämpfung	90
26	Die Retentionszeiten sind länger geworden – ist es die Pumpe oder der Eluent?	93
27	Für welchen pH-Wert eignet sich welcher Puffer?	95
28	Eine interessante Alternative zu der Trennung von Säuren und Basen mittels Puffer	97
29	Was sind die Gründe für eine Verschiebung der Retentionszeit?	100
30	Ich habe einen großen Verschleiß an RP-Säulen, was ist zu tun?	103
31	Warum funktioniert mein „Normal-Phase“-System nicht mehr?	105
32	Chemisches Tailing bei Anwesenheit von Metallionen	107
33	Wie vermeide ich Memory-Effekte?	109
34	Wie beeinflussen die Einstellungen am PC meine Auflösung?	111

4. Tips zur Trennungsoptimierung

35	Wie kann ich bei der Injektion für schmalere Peaks sorgen?	116
36	Meine Peaks kommen zu früh – wie kann ich sie in einem RP-System nach hinten verschieben?	118
37	Wie kann ich die Bodenzahl erhöhen?	120
38	Problem Nachweisgrenze: Wie kann ich mehr sehen?	123
39	Wie kann ich schneller trennen?	126
40	Wie kann ich meine Trennung optimieren?	128
41	Totzeit, Kapazitätsfaktor, Selektivitätsfaktor . . . kann ich in der Praxis damit etwas anfangen?	131
42	Welcher Fluß ist optimal für mich?	134

43	Trennung von ionischen Substanzen – wann ist was besser: Endcappte Phasen, inerte Phasen, Phosphatpuffer oder Ionenpaarreagenz? Teil I	136
44	Trennung von ionischen Substanzen – wann ist was besser: Endcappte Phasen, inerte Phasen, Phosphatpuffer oder Ionenpaarreagenz? Teil II	138
45	Wie optimiere ich eine Gradiententrennung?	140

5. Anhang

Abkürzungen aus dem Bereich der Chromatographie	146
Von JUPAC empfohlene Symbole für die Chromatographie	150
Lösungsmittelgemische gleicher Elutionsstärke für die RP	151
UV-Absorptionsbanden einiger typischen Chromophore	152
Tabellenübersicht	154
Lehrbücher über HPLC	156
Adressen von HPLC-Firmen	158
Trends in der HPLC	166