

## Der HPLC-Tipp im November

### Ist es vorteilhaft für mich, *diesen* Parameter zu erhöhen?

Dr. Stavros Kromidas, [www.kromidas.de](http://www.kromidas.de)

#### Der Fall

Selten sind Eigenschaften eindeutig nur als positiv oder als negativ zu bezeichnen. So hat ein Ferrari zweifelsohne Vorteile. Wenn ich allerdings mit diesem Vehikel und mit meinen vier Kindern und mit meiner Schwiegermutter und mit unserem Hund Mitte August nach Griechenland fahren will, wird es gelinde gesagt mindestens „interessant“... Genauso verhält es sich mit Änderungen. Sie bescheren selten nur „gute“ oder nur „schlechte“ Ergebnisse, so auch in der HPLC: Wenn ich einen Parameter verändere, ergeben sich je nach Betrachtungsweise bzw. Anforderungen Vor- oder eben Nachteile. Nachfolgend eine Auflistung von sechs physikalischen Parametern mit einer differenzierten Betrachtung deren Auswirkungen. Beim HPLC-Tipp im Februar werden wir uns mit sechs chemischen Parametern befassen.

#### Die Lösung

Was	Nachteile	Vorteile
Erhöhter Druck	Pumpe steigt häufig(er) aus, erhöhte Gefahr von Leckagen, Lebensdauer der Säule nimmt ab, größerer Verschleiß an Dichtungen	Ab ca. 800 bar (UHPLC-Trennungen) mögliche Änderung der Polarisierbarkeit von polaren Molekülen und somit Änderung der Selektivität, häufig Verbesserung
Erhöhung des Flusses	Erhöhung des Druckes (siehe dort), Abnahme der Peakfläche bei konzentrationsabhängigen Detektoren, Abnahme der Auflösung bei isokratischen Trennungen	Abnahme der Retentionszeit, Erhöhung des Gradientenvolumens bei Gradientenläufen und folglich (oft) Verbesserung der Auflösung/Peakkapazität
Erhöhung der Säulenlänge	Längere Retentionszeiten, Erhöhung des Druckes (siehe dort)	Erhöhung der Effizienz (Bodenzahl), beste Möglichkeit für eine ultimative Peakkapazität
Erhöhung des Säulennendurchmessers	Breite(re) Peaks, Abnahme der Empfindlichkeit, höherer Eluentenverbrauch, längere Retentionszeiten, Verschlechterung der Trennung bei Gradientenläufen	Abnahme des Druckes, durch die erhöhte Menge an stationärer Phase in der Säule größeres Porenvolumen, was bei der SEC/GPC (Ausschlusschromatographie) enorme Vorteile mit sich bringt
Erhöhung des Partikeldurchmessers	Bei isokratischen Trennungen evtl. merkliche, bei Gradiententrennungen eher marginale Verschlechterung der Trennung aufgrund von	Robuste(re) Säulen und geringerer Druck, somit erhöhte Lebensdauer der Säule, preisgünstiger, geringe Korngrößenverteilung, somit

	Peakverbreiterung	homogenere Packung und folglich symmetrische(re) Peaks
Größeres Verweilvolumen beim Gradienten (dwell/delay volume)	Längere Retentionszeiten	Ein solches kann (nicht Muss!) Auflösung, Peakform, Selektivität, Elutionsreihenfolge beeinflussen – in welche Richtung auch immer...

## Das Fazit

Man sollte die Auswirkungen bei der Veränderung eines Parameters in Gänze betrachten und den für die aktuelle Fragestellung sich ergebenden Vor- bzw. Nachteil erkennen. Es seien hier nur drei Beispiele genannt:

- *Größerer Innendurchmesser*; betreibe ich RP-HPLC oder SEC?
- *Längere Säule*; für eine komplexe Probe/Matrix ein unabdingbares „Muss“, die lange Retentionszeit muss in Kauf genommen werden; für 3-5 Peaks ist eine lange Säule vermutlich die „falsche“ Wahl
- *Höherer Druck und somit geringe Lebensdauer der Säule*; zwar eine richtige Aussage, bedenke jedoch: Was in der Regel „zählt“ ist nicht die Lebensdauer der Säule absolut sondern die Anzahl der Trennungen pro Zeiteinheit

(PS. Übrigens: Meine Frau ist an jenem August geflogen...)