

Der HPLC-Tipp im Oktober

Sind neben Systemeignungstests (SST) weitere Tests notwendig/sinnvoll?

Von Dr. Stavros Kromidas, Blieskastel

Der Fall

Mithilfe von SST's wird überprüft, ob *diese* Methode an *diesem* Gerät „hier und jetzt“ funktioniert. Ob also die Anforderungen an diese Methode erfüllt werden oder eben nicht. Als Forderung gilt beispielsweise ein bestimmter Wert für die Auflösung eines kritischen Paares oder die Bestimmungsgrenze für eine Nebenkomponente. Sind weitere Tests notwendig zumal ja die Zeit immer knapper wird?

Die Lösung

Sicherlich gibt es hier unterschiedliche Vorstellungen. Nachfolgend meine persönliche Meinung und davon ableitend ein Vorschlag: Ein gut designer Test beinhaltet die Information, die ich brauche. Passt er, so ist nichts mehr zu tun. Passt er nicht, so wären zwei Injektionen in der Lage, schnell Ursachenforschung zu betreiben. Voraussetzung ist, dass Sie an der Säule, wenn sie neu eingetroffen ist, bei den Bedingungen Ihres SST eine Injektion mit einer Mischung aus Uracil (oder Kaliumnitrat, Thioharnstoff) Pyridin und Toluol tätigen. Weiter unten erfolgt die Erläuterung. Nehmen wir nun an, dass zu einem späteren Zeitpunkt beim SST die geforderte Auflösung nicht erreicht wird, z. B. aufgrund einer Peakverbreiterung/eines Tailings. Oder aufgrund der Peakverbreiterung wird das Peak/Rauschen-Verhältnis nicht erreicht. Wie kann man die Ursache schnell ermitteln?

1. Mögliche Ursachen hier sind grundsätzlich: Verschlechterung der Packungsqualität, entstandenes Totvolumen in der Apparatur oder zusätzliche ionische Wechselwirkungen. Die Injektion einer neutralen Komponente, z. B. Toluol, und der Vergleich der Bodenzahl einmal wenn die Säule neu ist und einmal jetzt – natürlich bei gleichen chromatographischen Bedingungen und gleichen Einstellparametern – bestätigt eine Verschlechterung der Packungsqualität oder ein aufgetretenes Totvolumen – sollte die Bodenzahl von Toluol abgenommen haben. Bleibt die Bodenzahl und die Peakform bei Toluol OK, die Injektion jedoch von Pyridin verursacht eine asymmetrische Peakform im Vergleich zu der ursprünglichen Injektion an der neuen Säule? Hier offenbart sich eine Veränderung des pH-Wertes oder eine Hydrolyse von funktionellen Gruppen an der stationären Phase: "Bluten" bzw. zusätzliche ionische Wechselwirkungen.

2. Gesetzt den Fall, dass eine Forderung des SST die Einhaltung einer bestimmten Retentionszeit lautet (auf die Sinnhaftigkeit einer derartigen Forderung wird hier nicht eingegangen). Nehmen wir an, dass diese Forderung aktuell nicht erreicht wird. Injizieren Sie eine inerte Komponente, z. B. Uracil, Thioharnstoff oder Kaliumnitrat. Bleibt die Totzeit konstant im Vergleich zu der Injektion von „damals“? Dann liegt die Ursache an einer Veränderung der stationären Phase (Veränderung an der Oberfläche im Sinne der „Chemie“), des Eluenten oder der Temperatur. Ändert sich

die Totzeit, z. B. Zunahme? Dann liegt es an einer Veränderung der Flussrate, z. B. Luft in der Pumpe oder Leckage.

Das Fazit

Eine inerte Komponente, z. B. Uracil, eine neutrale Komponente, z. B. Toluol sowie eine basische Komponente, z. B. Pyridin helfen Ursachen schnell zu finden, falls der SST fehlschlägt: Änderung der Flussrate, Verschlechterung der Packungsqualität/Auftreten eines Totvolumens, Auftreten von zusätzlichen ionischen Wechselwirkungen. Letzteres ist im Falle von basischen Komponenten ein recht häufiger Fall.