

Kompaktphasen optimierte Flüssigchromatographie

Vorteile der Mischbettechnik

Übersicht

Unter „Kompaktphasen (Stationärphasen) optimierter Flüssigchromatographie“, ungenau kurz als „Phasenoptimierte Flüssigchromatographie“ bezeichnet, versteht man eine Methode, bei der analog dem zur Optimierung der mobilen Phase verwendeten Vermischen verschiedener Lösungsmittel unterschiedliche Trägermaterialien kombiniert werden, um auf diese Weise die Selektivität des Gesamtsystems auf ein Optimum einzustellen [1].

Die Methode wurde im Jahre 2003 in einer grundlegenden Arbeit durch Eppert und Heitmann [2] behandelt, später von Nyredy und Szücs durch Verwendung kurzer, seriell gekoppelter Säulen erweitert [3], und schließlich mit einer für

Das chromatographische Phasensystem besteht aus Kompaktphase und Fluidphase.

Erstere wird meist stationär gehalten und als stationäre Phase bezeichnet, letztere wird bewegt (mobile Phase). Zum Erreichen der für ein Trennproblem notwendigen

Phasenselektivität ist häufig eine Optimierung der Zusammensetzung beider Phasen

Voraussetzung. Im Artikel werden die derzeitigen Möglichkeiten zur Optimierung der

Kompaktphase (stationären Phase) beschrieben und ein einfaches, typisches Beispiel

erläutert.

gekoppelte Säulen geeigneten Hardware durch die Firma Bischoff kommerziell angeboten [4].

Die Methode wird so durchgeführt [2], dass im

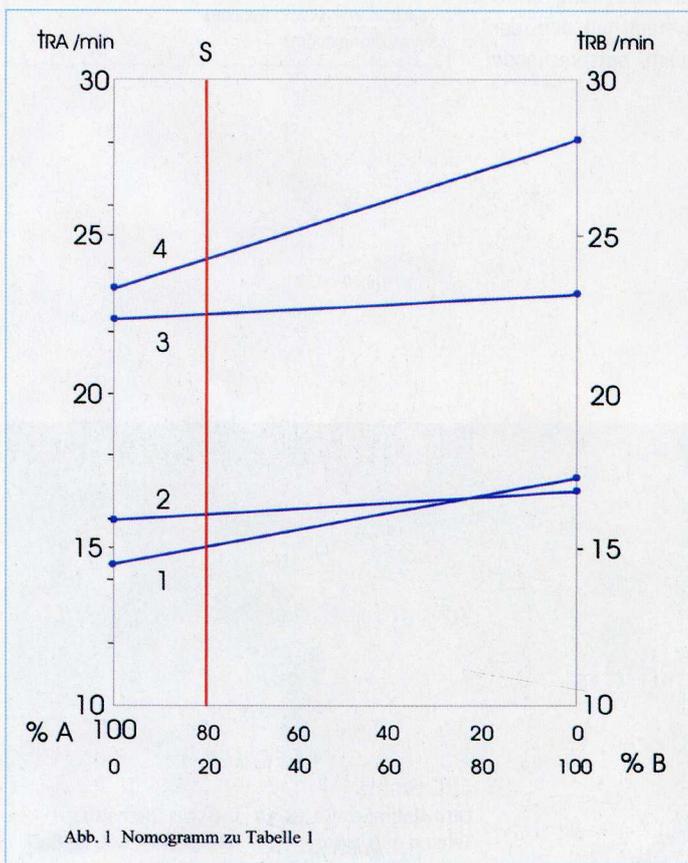


Abb. 1: Nomogramm zu Tabelle 1

1. Schritt zunächst die Retentionszeiten der Probensubstanzen an mehreren Säulen unterschiedlicher Selektivität unter gleichen Elutionsbedingungen und chromatographischen Parametern ermittelt werden. Im

2. Schritt erfolgt dann die Optimierung und Auswahl der geeigneten Trennsäule („Targetsäule“) und im **3. Schritt** wird die im Schritt 2 für die Targetsäule ermittelte optimale Phasenzusammensetzung durch Kombinieren anteiliger Packungs (Träger)mengen realisiert.

Letzteres kann prinzipiell nach zwei Techniken erfolgen [1], [5], indem man eine neue Trennsäule entweder mit der ermittelten Zusammensetzung der in Frage kommenden Trägermaterialien als Mischbett fül-

len läßt [2], oder aber eine Reihe bereits fertig gefüllter Säulensegmente erwirbt und in bestimmtem Verhältnis miteinander in Serie koppelt [3], [4].

Die von uns favorisierte Mischbettechnik [2] ist eine universelle Technik mit dem Vorteil, dass der Anwender nicht wie bei der seriellen Technik (s.u.) auf die begrenzte Anzahl von Trägern eines Segmentkits angewiesen ist, sondern Materialien beliebiger, ihm zum Testen geeignet erscheinender Trennsäulen miteinander kombinieren kann, auch solche, die von unterschiedlichen Herstellern stammen. Beim Ordern der Targetsäule kann er leicht den Säulendurchmesser und/oder die Korngröße und natürlich die Säulenlänge neu festlegen, 1 mm Trennsäulen und Kapillarsäu-

Tab.1: Chromatographische Bedingungen: Trennsäulen: 125 x2 mm, AN/W=6/4, Fluss 0,2 ml/min, UV 230 nm, 20 °C

Peak	Trennsäule A		Trennsäule B		Targetsäule	
	Retentionszeit t_R (min)	Δt_R	Retentionszeit t_R (min)	Δt_R	Retentionszeit t_R (min)	Δt_R
1	14,5		17,3		15,0	
2	16,0	1,5	16,9	0,4	16,2	1,2
3	22,4		23,2		22,5	
4	23,4	1,0	28,1	4,9	24,3	1,8

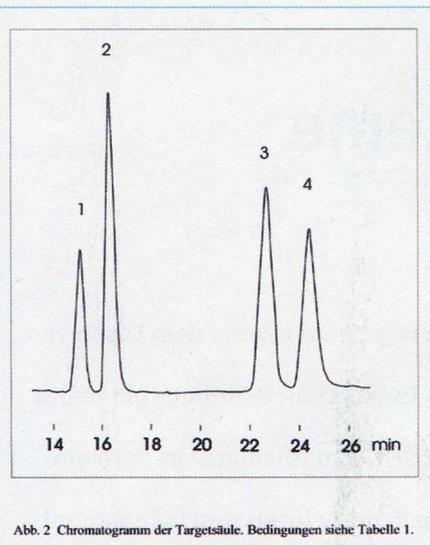


Abb. 2 Chromatogramm der Targetsäule. Bedingungen siehe Tabelle 1.

Abb. 2: Chromatogramm der Targetsäule, Bedingungen siehe Tabelle 1

len eingeschlossen. Gegebenenfalls wird der Anwender die Targetsäule als Refillsäule erwerben und seine Testsäulen zur Verfügung stellen. Das ist kostengünstig, denn in diesem Fall benötigt er für die Targetsäule weder neues Material noch eine Leersäule.

Die Mischbetttechnik bietet sich darüber hinaus für präparative Batch- und Moving-Bed-Verfahren (SMB)[5] an.

In der seriellen Technik verwendet man vom Hersteller in einem Kit bereits vorgefertigte, mit bestimmten Trägern gefüllte Säulensegmente, die der Anwender nach den Ergebnissen seiner durchgeführten Optimierung beliebig zusammenfügen kann. Auf diese Segmente ist er für die Targetsäule angewiesen. Andere Korngrößen oder Säulendurchmesser sowie das Einbeziehen von Trennsäulen verschiedener Hersteller in die Optimierung sind nicht vorgesehen.

Falls Trennoptimierungen nur gelegentlich anfallen, verdient die Mischbetttechnik schon aus Kostengründen den Vorzug. Wenn laufend Optimierungsprobleme zu bearbeiten sind, wird man die Anschaffung eines Kits mit seriell kombinierbaren Säulen überlegen. Für immer wiederkehrende Routineuntersuchungen verursachen solche Säulen allerdings höhere Kosten als konventionelle (aus einem Stück bestehende) Trennsäulen.

Einfach optimieren

Die Trennsäulenoptimierung (Schritt 2) kann man mit Hilfe einer inzwischen kommerziell erhältlichen Software vornehmen oder für einfache

Fälle ein leicht erstellbares Nomogramm verwenden [2]. Die schnell durchführbare manuelle Nomogrammtechnik bietet sich gegenüber dem PC-Verfahren alternativ durchaus an, weil viele Optimierungen, obwohl in der Regel mehrere Trennsäulen getestet werden, auf zwei potentielle Kandidaten hinauslaufen [6], ein Pendant zur mobilen Phase, bei der meist ebenfalls mit binären Mischungen gearbeitet werden kann.

Beispiel

Trennungen eines Pestizidgemisches an zwei mit RP18-Trägern¹⁾ gefüllten Säulen A und B lieferten die zwei rot gedruckten kritischen Paare von Tabelle 1. Auf Säule A war das Paar 3,4 ungenügend getrennt, auf Säule B wurde andererseits das Paar 1,2 gar nicht aufgelöst. Außerdem trat Peakumkehr auf.

Ein nach den Werten der Tabelle gezeichnetes Nomogramm (Abb. 1) zeigt die gegenseitige Abhängigkeit der Peakabstände der kritischen Paare von den zugehörigen Trägermischungen. Das Verschieben der Separationslinie S von links nach rechts ergibt (unter visueller Berücksichtigung der retentionszeitabhängigen Peakbreiten) unmittelbar, dass ein Zusatz von 20% des zu B gehörenden Trägers zum Träger von A eine Grundlinientrennung beider kritischen Paare erwarten lässt (siehe Retentionszeiten in Spalte 3 von Tabelle 1). Abbildung 2 zeigt das Chromatogramm der mit dem ermittelten Trägerverhältnis 80 zu 20 hergestellten Mischbett-Targetsäule.

Literatur

- [1] Glajch J. L. et al.: Journal of Chromatography, 318, 23–39 (1985)
- [2] Eppert G. J. und Heitmann P.: Selectivity Optimization of Stationary Phases, LC GC Europe, 16(10) 698–705 (2003). Download unter www.sepserv.com
- [3] Nyiredy Sz. et al.: Journal of Chromatography A, 1157, 122–130 (2007)
- [4] Bischoff K. et al.: Elements for Separating Substances, WO 2006, 125564
- [5] Eppert G. J.: Flüssigchromatographie, HPLC – Theorie und Praxis, Vieweg/Springer 1997, 323 Seiten, ebenda S. 66
- [6] Lamotte S. et al.: GIT Spezial Separation 29 (1), 26–27 (2009)

Fußnoten

1) C-18-Alkylketten-Träger, unterschiedlich nach Silicageltextur und Silanmodifizierung

▶ KONTAKT

Doz. Dr. habil. Günter J. Eppert
Dipl. Chem. Irene Schinke
 Sepserv Separation Service Berlin
 Tel.: 030/3930991
 Fax: 030/3934925
sepserv.berlin@t-online.de
www.sepserv.com

TLC-MS Interface

Einfache und schnelle Extraktion von der Platte direkt in Ihr MS

Nicht jede Probe kann mit HPLC-MS analysiert werden. Von DC/HPTLC-Platten können Substanzen nun mit dem CAMAG TLC-MS in das MS zur Identifizierung eluiert werden:

- Kein Abkratzen von der DC/HPTLC-Platte
- Semi-automatisierte Bedienung
- Kompatibel zu den gängigsten HPLC-MS-Systemen

www.camag.com/tlc-ms



Weltweit führend in der Planar-Chromatographie



Camag auf der ANALYTICA 2010: Halle A1 · Stand 410