

## Einfache Lösung für gestörte Peakformen in HPLC Methoden der Europäischen Pharmakopöe (Ph. Eur.)

Bei der Arbeit mit vorgeschriebenen Methoden kann es, besonders bei früh eluierenden Substanzen, zu Komplikationen mit der Peakform, -Effizienz und Auflösung kommen. Der häufigste Grund hierfür ist die Verwendung eines Probenlösungsmittels mit größerer Elutionskraft als die anfängliche Zusammensetzung der mobilen Phase, wie zum Beispiel reines Methanol oder DMF in Reversed-Phase Analysen. Zum Zeitpunkt der Methodenentwicklung war diese Abweichung im Lösungsmittel noch nicht so bedeutsam

wie heute. Ältere HPLC-Systeme mit großem Verweilvolumen verdünnen das Injektionslösungsmittel bevor dieses die Trennsäule erreicht. In der modernen LC sind Systemvolumina stark reduziert, so dass ein Verdünnungseffekt nicht entstehen kann. Das Resultat sind unreproduzierbare und gestörte Peakformen, da Eluent und Probenlösungsmittel stark voneinander abweichen. Doch bieten gerade moderne Autosampler eine effiziente Lösung, die sogar konform mit den Richtlinien der Pharmakopöe ist.

Wenn alle Probenbestandteile löslich in der anfänglichen Zusammensetzung des Eluenten sind, können Sie eine maßgeschneiderte Sandwich-Injektionsmethode anwenden:

- ziehen Sie einen 2- bis 5-fachen Überschuss schwaches Lösungsmittel (z.B. Wasser oder Puffer in der RP-LC) oder initiale mobile Phase aus einem zusätzlichen Probengefäß in den Injektor
- ziehen Sie ihre Probe nach Anweisungen in Ihrer Pharmakopöe-Methode auf
- ziehen Sie einen weiteren 2- bis 5-fachen Überschuss an schwachem Lösungsmittel oder mobiler Phase auf
- warten Sie für etwa 10–15 Sekunden bevor Sie alles injizieren

Diese Anpassung ändert keine chromatographischen Parameter und führt zu einer Prä-Injektions-Verdünnung der Probe und zu einer Vergrößerung des Proben-Fokussierungseffekts Ihrer Analyten durch isokratische Kompression.

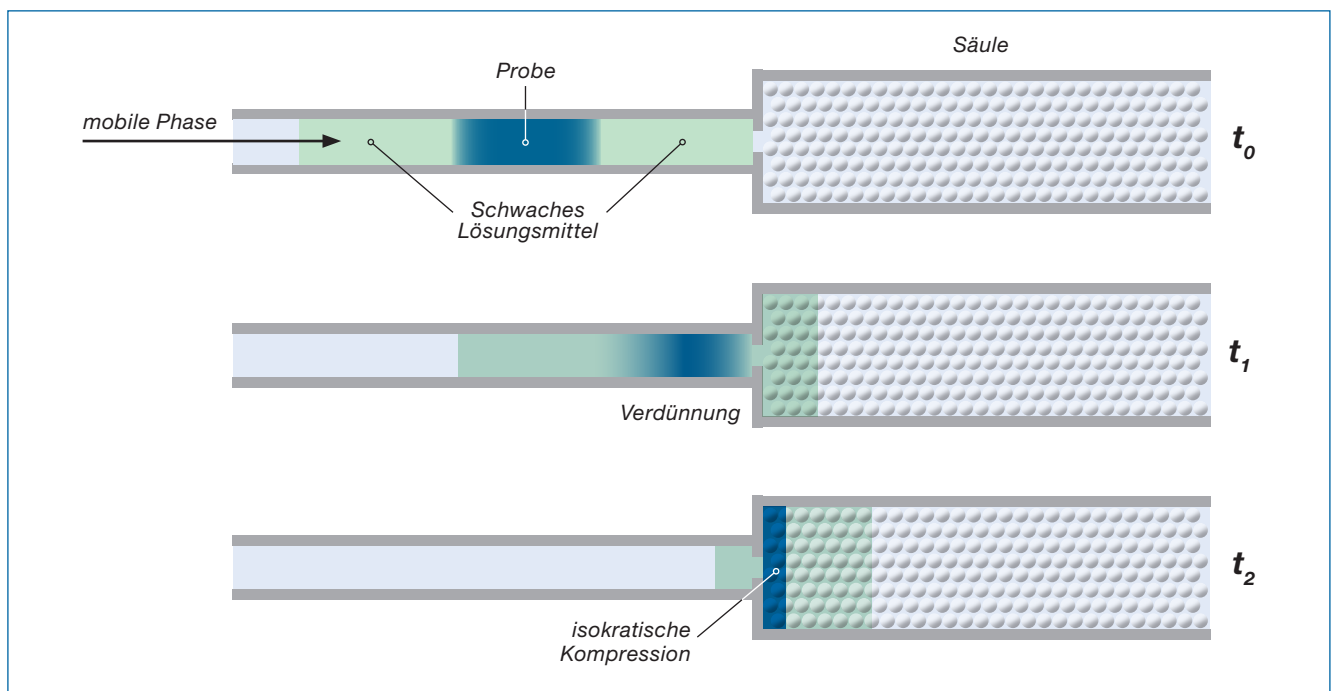


Abbildung 1: Prä-Injektions-Verdünnung und isokratische Kompression mit starkem Probenlösungsmittel in einer Sandwich-Injektionsmethode

In den meisten Softwares für moderne HPLC-Anlagen können Sie entweder Ihre Sandwich-Injektionsmethode einfach programmieren oder diese schon aus den schon vorprogrammierten Methoden des Herstellers auswählen.