

***HPLC UND IONENCHROMATOGRAPHIE
(EINFÜHRUNG IN DIE GERÄTETECHNIK)***

1. Aufbau und Funktionsprinzip einer HPLC - Anlage

1.1st Einführung:

Der Name Chromatographie geht auf die frühen Anfänge dieser Technik zurück, bei denen verschiedene Farbstoffgemische getrennt wurden. Tswett, der als Begründer der modernen Chromatographie gilt, benutzte ab 1906 als erster die Begriffe Chromatographie und Chromatogramm. Chromatographie bedeutet wörtlich "Farbschreibung".

Nach einer längeren Entwicklung entstand in den letzten Jahrzehnten die modernste Form der chromatographischen Trenntechnik, die Hochleistungs- bzw. Hochdruckflüssigkeitschromatographie. Die Abkürzung HPLC kommt aus dem Englischen (**H**igh **P**erformance (**P**ressure) **L**iquid **C**hromatography).

1.1st1st Prinzip der Chromatographie

Bei allen chromatographischen Verfahren werden Stoffgemische in Einzelkomponenten aufgetrennt. Allen Chromatographiearten ist gemeinsam, daß ein Lösungsmittel (oder Gas), die mobile Phase, an einer unbeweglichen stationären Phase vorbeiströmt. Besitzen die Komponenten unterschiedliche Affinität zur stationären bzw. mobilen Phase, können sie getrennt werden. Komponenten, welche schwächer an die stationäre Phase gebunden werden, werden von der mobilen Phase stärker mitgerissen und verlassen die stationäre Phase früher. Umgekehrt wandern Probenbestandteile, welche stark an die stationäre Phase gebunden werden, langsamer.

1.1st2nd Anwendungsgebiete der HPLC

Die HPLC ist ein sehr vielseitig einsetzbares Analyseninstrument. Anwendung findet die HPLC unter anderem in folgenden Bereichen:

Lebensmittelanalytik
Umweltüberwachung
Klinische Chemie
Medizinische Forschung
Biochemie
Prozesskontrolle in verschiedenen industriellen Zweigen

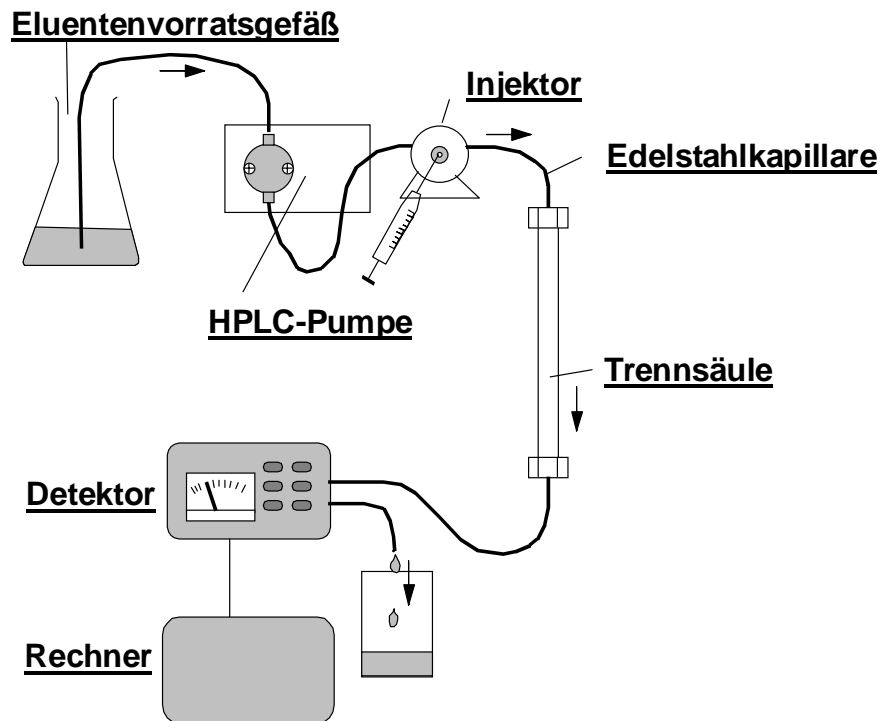
Gegenüber der Gaschromatographie hat die HPLC folgende Vorteile: Es können Substanzen untersucht werden, die nicht flüchtig sind bzw. nicht unzersetzt verdampfbar sind. Meistens sind die Trennzeiten bei der HPLC geringer. Die Gaschromatographie bleibt, trotz der Fortschritte der HPLC in den letzten Jahren, eine unverzichtbare und vielseitige Analysetechnik.

1.2nd Geräteaufbau:

1.2nd1st Aufbau einer HPLC - Anlage:

Ein HPLC - Gerät besteht im allgemeinen aus folgenden Teilen:

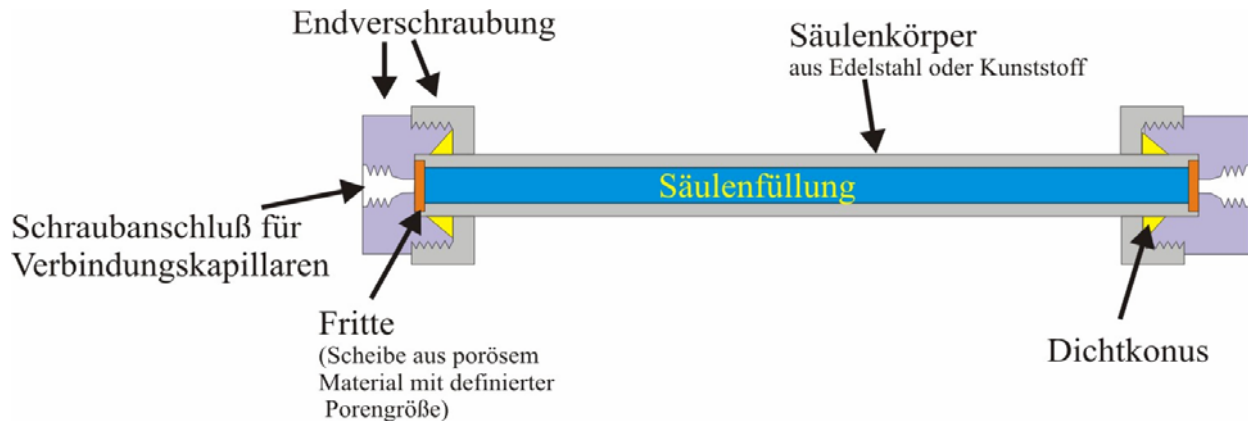
- Kolbenpumpen
- Probengeber mit Injektor
- Trennsäule
- Detektor
- Rechner zur Steuerung der Anlage und zur Datenauswertung



1 Schema eines HPLC - Systems

1.2nd2nd Die Trennsäule

Trennsäulen für analytische Zwecke sind meist Stahlrohre mit einem Innendurchmesser von 2-5mm, die mit der stationären Phase gefüllt sind. An das Material des Rohres werden besondere Anforderungen gestellt. Es muß korrosionsbeständig sein, hohen Drücken standhalten und chemisch inert gegenüber den zu trennenden Substanzen sein. Es werden auch Trennsäulen aus Glas oder Kunststoff verwendet. Da die meisten Säulenfüllungen empfindlich gegen Druckstöße sind, sollte die Förderrate der Pumpe nicht abrupt geändert werden.



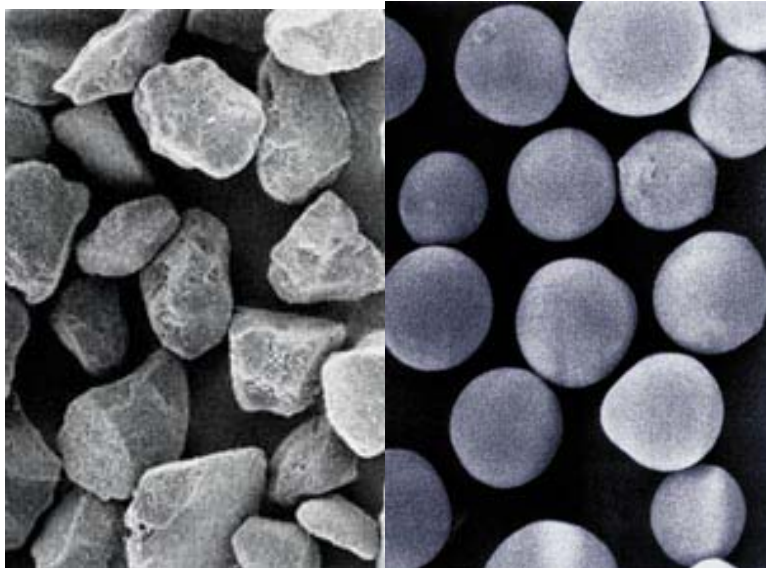
1 Aufbau einer HPLC - Trennsäule

1.2nd3rd Säulenfüllmaterialien:

Das am meisten verwendete Füllmaterial für Trennsäulen ist chemisch verändertes Kieselgel. Kieselgel besteht aus dreidimensional vernetztem SiO_2 , wobei die freien Enden durch OH-Gruppen abgeschlossen werden. Hergestellt werden Silicagele durch saure Hydrolyse von geeigneten Siliziumverbindungen wie z.B. Natriumsilikat. Es entsteht dabei Monokieselsäure, die durch Kondensation (= Wasserabspaltung) Polykieselsäure bildet.

Meistens wird in der HPLC kein reines Kieselgel verwendet, sondern chemisch modifiziertes. Durch ein geeignetes Reagenz wird an die freien OH-Gruppen ein organischer Rest angekoppelt. Die meistens verwendeten Säulenfüllmaterialien sind sogenannte Reversed Phase Kieselgele. (Bei der klassischen Chromatographie wird als stationäre Phase polares, chemisch nicht verändertes Kieselgel verwendet und als mobile Phase ein unpolares Lösungsmittel. Bei Reversed - Phase Materialien werden Kohlenwasserstoffketten an die OH-Gruppen gebunden, wodurch das Kieselgel unipolar wird. Als mobile Phase werden polare Lösungsmittelgemische verwendet.) Reversed Phase Säulen zeigen gegenüber den normalen Kieselgelfüllungen höhere Trennleistungen und höhere Belastbarkeit.

Da die Trennleistung einer Säule mit sinkender Teilchengröße der stationären Phase zunimmt, haben die heute verwendeten Säulenfüllmaterialien eine Korngröße zwischen $4\mu\text{m}$ und $10\mu\text{m}$ bei einer engen Korngrößenverteilung. Da die Teilchen in einer Säule dicht gepackt sind, ergeben sich hohe Strömungswiderstände, so daß bei den üblichen Fördermengen der mobilen Phase von 0,5-2ml/min Drücke zwischen 80 und 200bar entstehen.

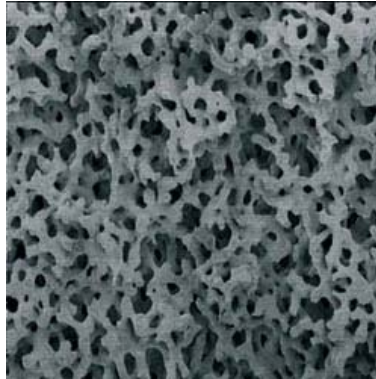


1 REM - Aufnahmen von irregulärem und sphärischem Kieselgel (Quelle: Merck Chrombook 2004)

1.2nd3rd1. Neuere Entwicklungen

.1.1.1.1. Monolithische HPLC - Säulen

Monolithische Säulen bestehen nicht aus einzelnen Partikeln sondern aus einem einzelnen makroporösem Kieselgel - Block. Die Porengröße beträgt 2µm. Dieses Säulenmaterial ermöglicht einen höheren Durchfluss, da der sich aufbauende Druck deutlich geringer ist. Aus den höheren Durchflüssen ergeben sich, gegenüber vergleichbaren konventionellen Säulen bis zu 5-fach kürzere Analysenzeiten.



1 Monolithisches Kieselgel (Quelle: Merck Chrombook 2004)

.1.1.1.2.1. Kapillar - Säulen

Von Kapillar - HPLC spricht man bei Verwendung von HPLC Säulen mit weniger als 500 µm Durchmesser. Die Kapillar-Säulen zeichnen sich durch erhöhte Nachweisempfindlichkeit und geringen Lösungsmittelbedarf aus. Da in Säulen mit geringerem Durchmesser die Probe weniger verdünnt wird, eluieren die Probenbestandteile konzentrierter und gelangen in konzentrierter Lösung in die Detektorzelle – eine Empfindlichkeitssteigerung ist die Folge. Allerdings muss bei sehr geringem Säulendurchmesser das HPLC - System angepasst werden. Um ein Überladen der Säulen zu vermeiden muss das Injektionsvolumen drastisch verringert werden was die Empfindlichkeitssteigerung relativiert beziehungsweise limitiert.

.1.1.1.3.1. Kleinstpartikel

Ein weiterer Ansatz die Leistungsfähigkeit der HPLC zu steigern ist die Verwendung kleinerer Partikel für die Säulenfüllung. Hier werden zur Zeit statt der üblichen 5µm-Partikel Partikel mit 1µm Korngröße verwendet. Ein Verkürzung der Analysenzeiten bei reduziertem Lösungsmittelverbrauch und gesteigerter Empfindlichkeit ist die Folge. Auch bei diesem Ansatz muss das System angepasst werden was mit Kosten verbunden ist.

1.2nd4th Chromatographiearten

Je nach Art der Wechselwirkung zwischen stationärer Phase, mobiler Phase und Probenkomponenten unterscheidet man folgende wichtige flüssigchromatographische Verfahren:

1.2nd4th1. Adsorptionschromatographie:

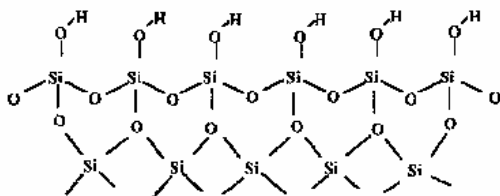
Als stationäre Phase dient ein relativ polares Material mit großer spezifischer Oberfläche (als Adsorbens wird meistens Silicagel verwendet, wobei die auf der Oberfläche sitzenden Silanolgruppen die aktiven Zentren darstellen). Als mobile Phase werden Lösungsmittel verwendet, die gegenüber der stationären Phase unpolar sind. Polare Substanzen werden stärker an die stationäre Phase adsorbiert und eluieren später als unpolare Stoffe. Die Methode wird angewendet: zur Trennung unterschiedlich polarer organischer Substanzen.

1.2nd4th2. Chromatographie mit Phasenumkehr (Reversed Phase Chromatographie):

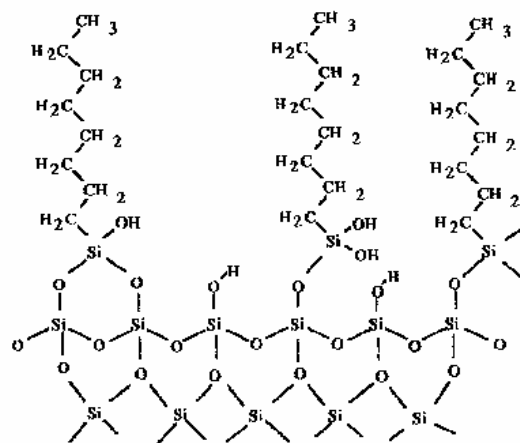
Hier sind die Verhältnisse genau umgekehrt wie bei der Adsorptionschromatographie. An die Silanolgruppen des Silicagels werden chemisch unpolare Alkanreste (C2 bis C18) gebunden. Der Eluent ist polar und besteht meistens aus einem Gemisch von Methanol oder Acetonitril und Wasser. Die Methode wird ebenfalls zur Trennung unterschiedlich polarer Moleküle angewendet.

Gegenüber der "normalen" Adsorptionschromatographie besitzt die reversed Phase Chromatographie einige Vorteile: Höhere Trennleistung und Reproduzierbarkeit. Die Trennsäulen lassen sich mit größeren Stoffmengen belasten.

Kieselgeloberfläche mit Silanolgruppen



**Chemisch Modifiziertes Silikagel
Reversed-Phase Material (C8-Typ)**



1 Schema von chemisch modifiziertem Kieselgel

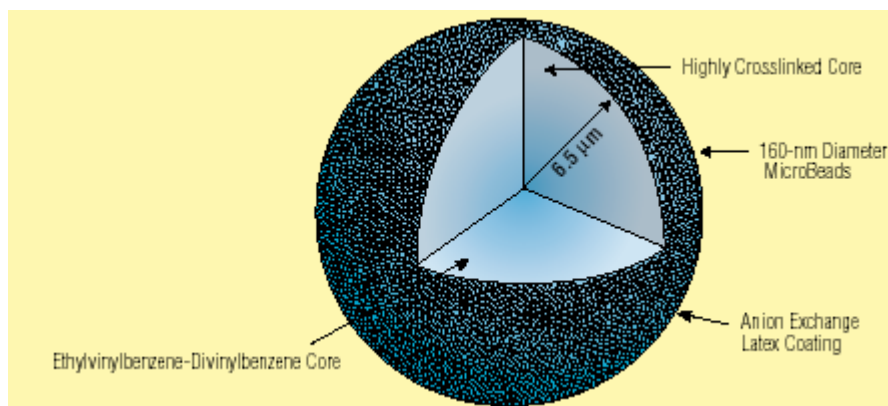
1.2nd4th3. Chromatographie an chemisch gebundenen Phasen:

Durch geeignete chemische Umsetzungen lassen sich an die Silanolgruppen des Silicagels organische Reste koppeln. Auf diese Weise lassen sich die Eigenschaften der Trennsäulen in weiten Bereichen gezielt verändern. Die Reversed Phase Chromatographie stellt den wichtigsten Spezialfall dieser Technik dar.

1.2nd4th4. Chromatographie an Ionentauschern (Ionenchromatographie)

Zur Trennung von Ionen werden Ionenaustauscherharze verwendet. Die Harze bestehen aus einer Trägermatrix aus Polymeren (häufig quervernetzte Kunststoffe auf der Basis von Styrol, Ethylvinylbenzol, Methacrylat, oder Vinylalkohol) an die ionische Gruppen (für Anionen organische Amine – für Kationentauscher SO_3^- oder COO^-) gebunden sind. Die im Praktikum meist eingesetzte Anionentrennsäule AS4A-SC ist mit $13\mu\text{m}$ großen Kunststoffpartikeln (aus Ethylvinylbenzol das mit Divinylbenzol quervernetzt ist) gefüllt. Auf die Oberfläche dieser Partikel sind 160nm große amminierte Latexpartikel aufgebracht. Diese komplexen Partikel haben gegenüber direkt amminierten Kunstharzen und Silicagelen folgende Vorteile:

- Schnelle Austauschprozesse und damit hohe chromatographische Effizienz durch die dünne Schicht der Latexpartikel
- Hohe mechanische und chemische Stabilität der Trennsäule
- Schwell- und Schrumpfungprozesse werden reduziert



1 Partikel für Anionentrennsäulen (Quelle: Dionex – Prospekt für Säule AS4A-SC)

1.2nd4th5. Sonstige

Es gibt noch eine Reihe von anderen speziellen Chromatographiearten, die durch andere physikalisch-chemische Wechselwirkungen zwischen mobiler Phase, stationärer Phase und Probenmolekülen eine Trennung der Probenkomponenten bewirken.

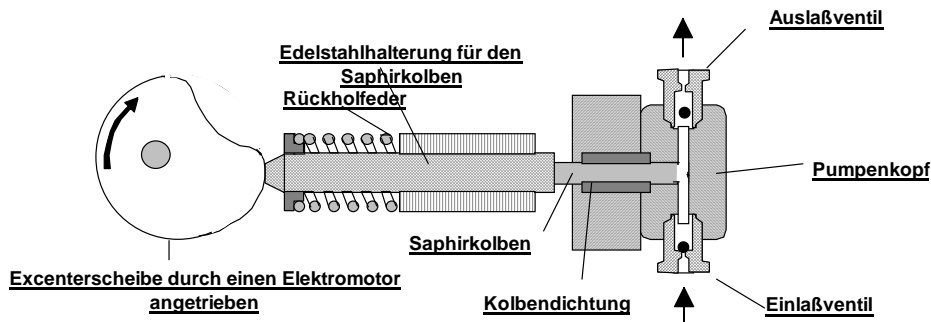
Eine industriell wichtige Abart der HPLC ist die präparative HPLC. Mit ihr können Substanzen in größerem Maßstab gereinigt werden, die auf andere Art und Weise nicht leicht voneinander trennbar oder sehr instabil sind. (z.B. Trennung der seltenen Erden, Reinigung und Trennung von Proteinen und Peptiden, Medikamentenaufreinigung).

1.2nd5th Die Kolbenpumpe

Die HPLC - Pumpe hat die Aufgabe, die mobile Phase durch die Trennsäule zu fördern. Folgende Forderungen werden an eine derartige Pumpe gestellt:

1. Ausreichende Förderleistung
2. Geringe Pulsation, um eine stabile Detektion zu erreichen.
3. Konstante Förderleistung, um die Trennungen reproduzierbar zu machen
4. Geringes Innenvolumen, um schnelle Gradientenbildung zu ermöglichen
5. Druckstabilität, da je nach Säulenfüllung hohe Drücke bis 400bar auftreten können.

Der überwiegend eingesetzte Pumpentyp ist die Kurzhub-Kolbenpumpe. Da die Pumpen hohen Belastungen ausgesetzt sind, unterliegen sie starkem Verschleiß.



1 Aufbau einer Kurzhubkolbenpumpe

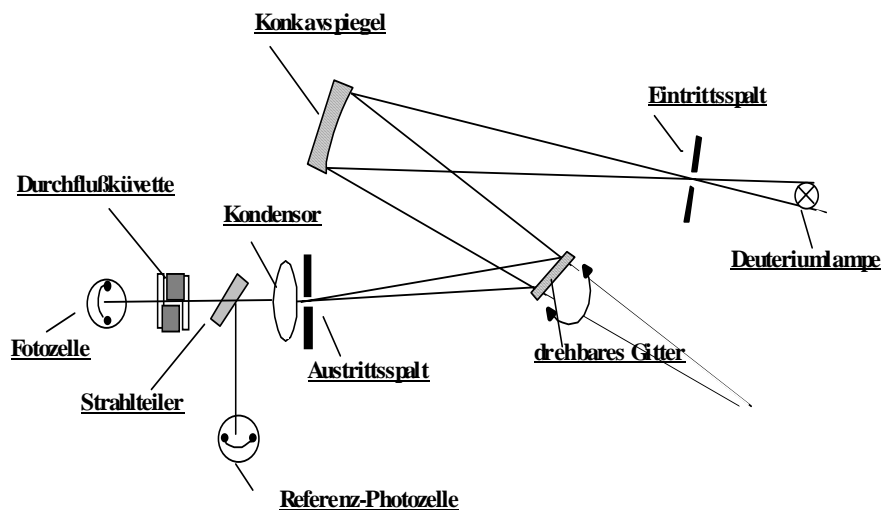
Zur Dämpfung der störenden Pulsation werden meist zwei Pumpen verwendet die phasenverschoben arbeiten

1.2nd6th Detektoren

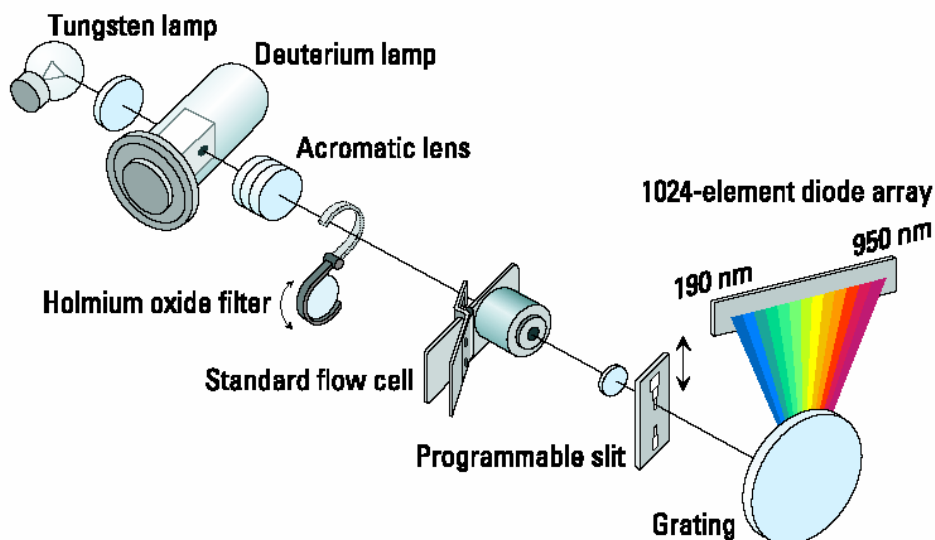
Der Detektor erfährt Änderungen in der Zusammensetzung der mobilen Phase. Hierzu werden meßbare physikalisch-chemische Eigenschaften der Probenkomponenten, wie Brechungsindex, Lichtabsorption, Fluoreszenz, Leitfähigkeit, ... in elektrische Signale umgewandelt. Die Signale werden dann von einem Schreiber oder Rechner registriert.

1.2nd6th1. UV-VIS Detektoren

Die wichtigsten Detektoren der HPLC sind die UV- VIS Detektoren. Es gibt Festwellenlängen-Detektoren, Detektoren mit variabler Detektionswellenlänge und Diodenarraydetektoren zur Erfassung eines größeren Wellenlängenbereichs. UV-VIS Detektoren messen die Schwächung der UV-VIS Strahlung durch Probenkomponenten bei einer Wellenlänge.



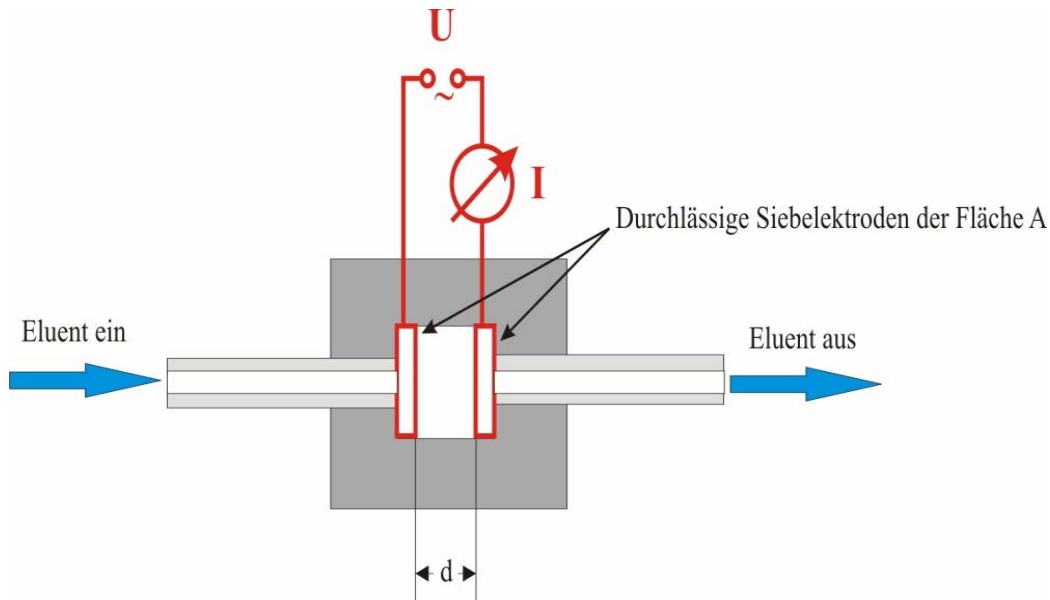
1 Prinzip eines HPLC-UV-Detektors mit variabler Wellenlänge



1 Schema eines Diodenarraydetektors (Quelle: Agilent – Prospekt: Agilent 1200 Series Detectors)

1.2nd6th2. Leitfähigkeitsdetektoren mit Supressorsystem

Für die Ionenchromatographie werden vor allem Leitfähigkeitsdetektoren eingesetzt. Sie messen die elektrische Leitfähigkeit des Eluats. Leitfähigkeitsmesszellen bestehen aus zwei flächigen Elektroden die in die zu messende Elektrolytlösung tauchen. Legt man nun eine Wechselspannung an die Elektroden an fließt ein Strom der von dem spezifischen Widerstand des Elektrolyten und der Dimensionierung der Zelle abhängt.



1 Funktionsschema eines Leitfähigkeitsdetektors

Für den elektrischen Widerstand einer Leitfähigkeitsmesszelle gilt:

$$R = \frac{U}{I} \quad \text{und} \quad R = \frac{\rho \cdot d}{A}$$

- 1 R: Widerstand in Ohm
- 2 U: Spannung in Volt
- 3 I: Strom in Ampere
- 4 A: Elektrodenfläche in cm²
- 5 d: Elektrodenabstand in cm
- 6 ρ : spezifischer Widerstand

Für die spezifische Leitfähigkeit gilt.

$$\chi = \frac{1}{\rho} \quad (\text{in Siemens/cm})$$

Um zu einer konzentrationsabhängigen Größe zu kommen führt man die molare Leitfähigkeit ein:

$$\Lambda = \frac{\chi}{c} \quad (c: \text{Konzentration in mol/cm}^3)$$

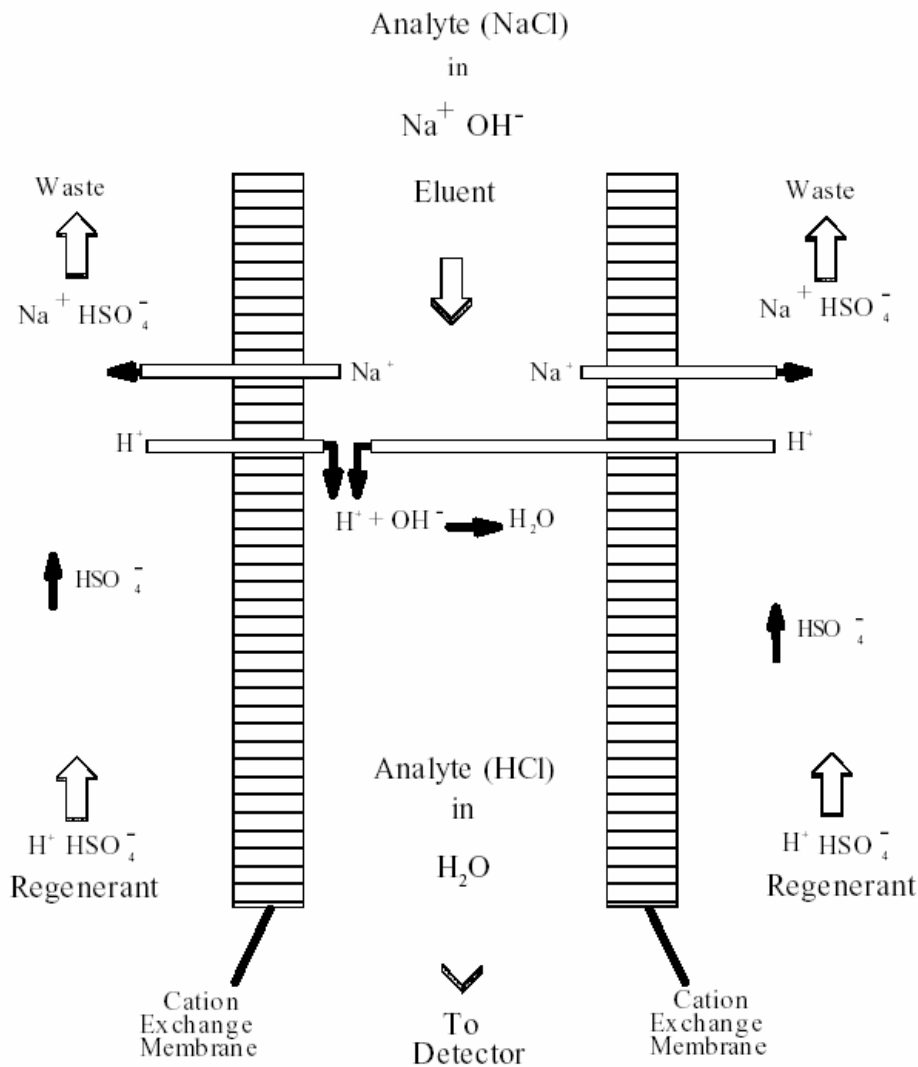
wobei sich die molare Leitfähigkeit aus einem anionischem und kationischem Anteil zusammensetzt:

$$\Lambda = \Lambda_+ + \Lambda_-$$

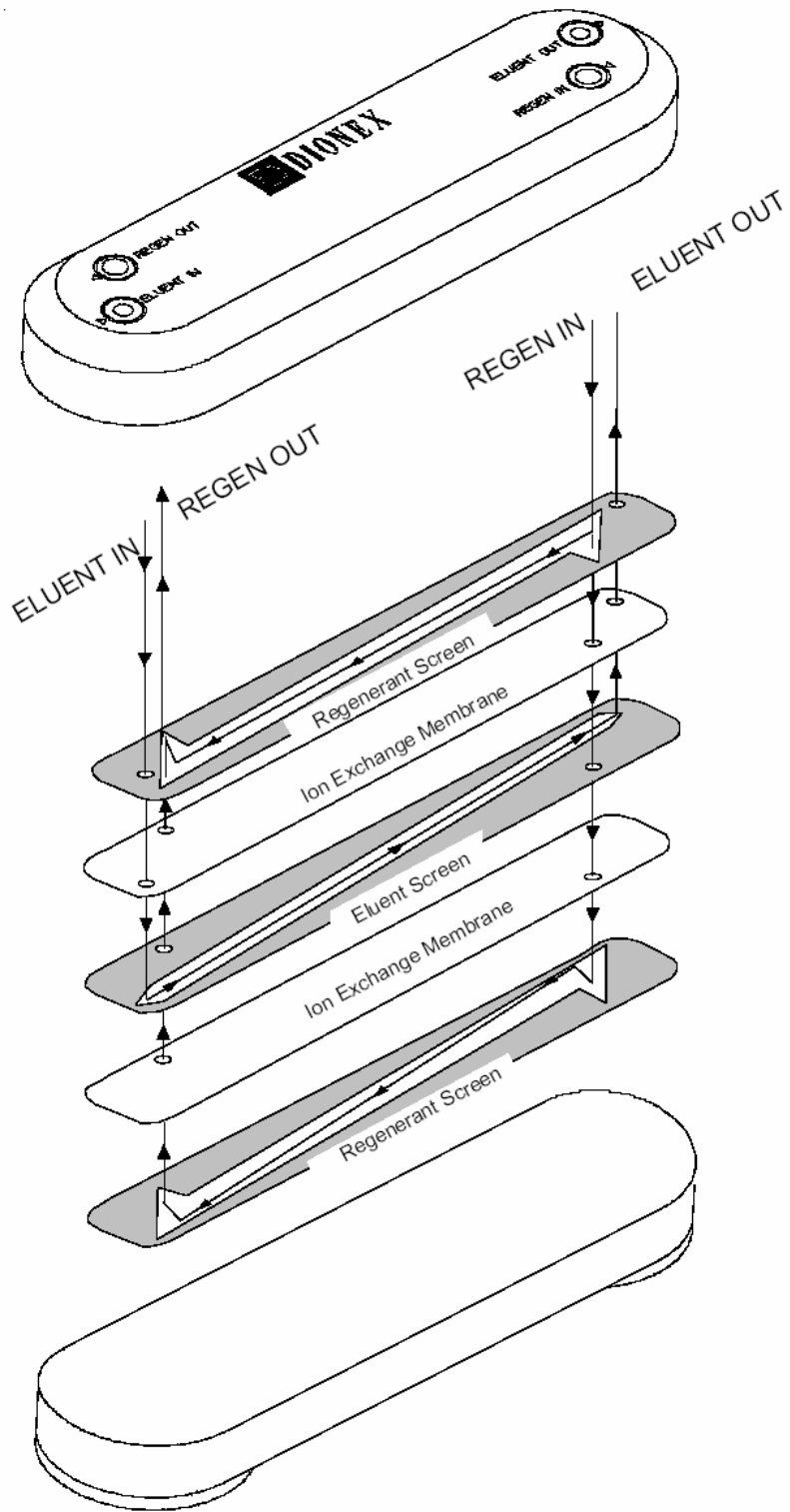
Da die molare Leitfähigkeit nach dem Kohlrauschen Quadratwurzelgesetz (für starke Elektrolyte) selbst von der Konzentration abhängig ist werden in Tabellenwerken die molaren Leitfähigkeiten für unendliche Verdünnung

angegeben. Da die elektrolytische Leitfähigkeit stark Temperaturabhängig ist müssen Leitfähigkeitsmesszellen thermostatisiert werden.

In der Ionenchromatographie werden als Eluenten wässrige Elektrolytlösungen eingesetzt (Für Anionentrennungen meist Alkalilaugen, Boraxlösungen oder Natriumcarbonatlösungen). Diese Elektrolytlösungen besitzen selbst eine hohe Eigenleitfähigkeit, so dass die Empfindlichkeit des Leitfähigkeitsdetektors für die Analyten stark herabgesetzt ist. Durch so genannte Suppressorsysteme kann man die Grundleitfähigkeit des Eluenten stark vermindern und die gesuchten Ionen empfindlich detektieren. Als Suppressoren werden Ionentauscher hoher Kapazität verwendet um die störenden Ionen aus dem Eluenten zu entfernen. Bei Anionentrennung werden Kationenaustauscher in der H⁺ - Form verwendet um die Alkaliionen des Eluenten gegen H⁺ Ionen auszutauschen. Aus H⁺ Ionen und OH⁻ bildet sich Wasser mit sehr geringer Eigenleitfähigkeit. Die Anionen liegen nach dem Suppressor als Säuren vor und können so empfindlich detektiert werden. (Anmerkung: Borsäure und Kohlensäure sind sehr schwache dissoziierte Säuren und erhöhen die Grundleitfähigkeit kaum. So können Salze dieser Säuren als Eluenten in der Anionenchromatographie verwendet werden.) Folgendes Schema zeigt das Funktionsprinzip des im Praktikum verwendeten Membransuppressors.



1 Funktionsschema eines Membransuppressors für die Anionenchromatographie (Quelle: Dionex – Handbuch für AMMS III)



1 Explosionszeichnung eines Membransuppressor (Quelle: Dionex – Handbuch für AMMS III)

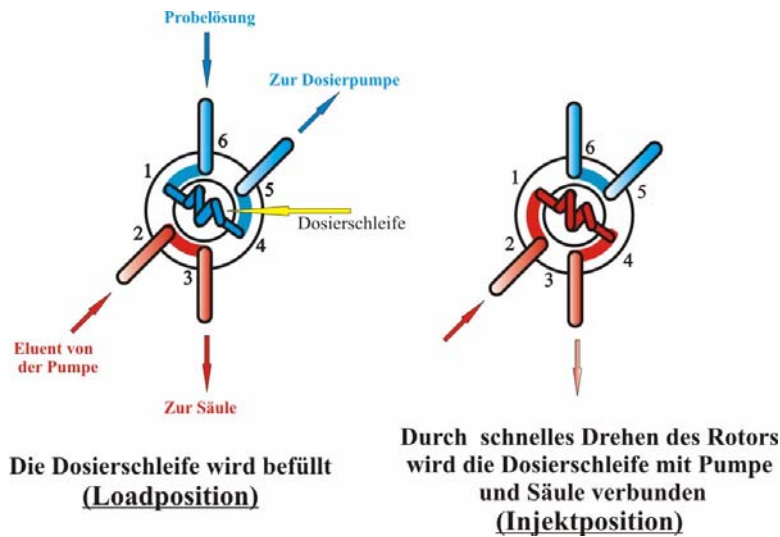
1.2nd7th Injektoren

Injektoren für die HPLC müssen hohen Drücken standhalten und eine exakt reproduzierbare Probenmenge auf die Trennsäule bringen können. Hierzu werden heutzutage nur noch Injektoren mit Dosierschleife verwendet.

Funktion:

Injektoren bestehen aus einem 6-Wegventil und der Injektionsschleife. Das Ventil kann zwischen zwei Positionen hin und hergeschaltet werden.

- I. Befüllen der Schleife (Load-Position): In der ersten Position kann die Schleife mit Probe befüllt werden, wobei Pumpe und Trennsäule direkt miteinander verbunden sind. Die Probenaufgabe erfolgt entweder manuell mittels Spritze oder mit automatischen Probengebern.
- II. Analysenbetrieb (Injekt-Position): Durch das Umschalten des Ventils in die Arbeitsposition wird die Schleife zwischen Pumpe und Säule geschaltet und die Probe wird durch den Eluenten auf die Säule befördert. Um stärkere Druckstöße zu vermeiden, sind Injektionsventile zügig zwischen den beiden Positionen zu schalten. Bei automatischen Systemen erfolgt die Umschaltung beispielsweise pneumatisch.



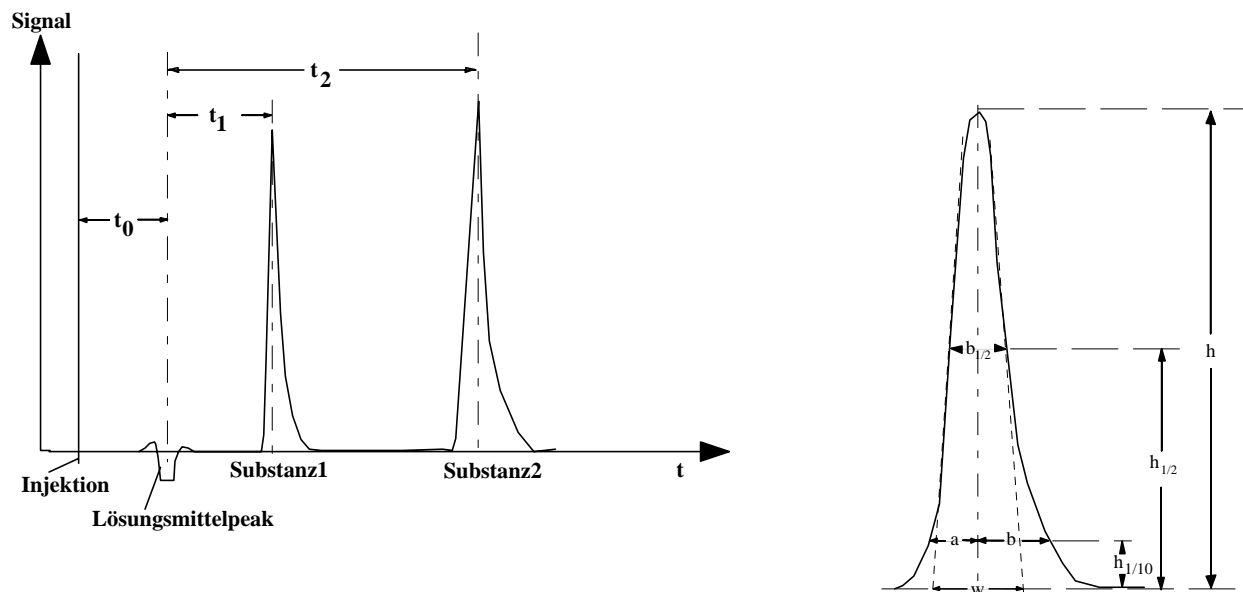
1 Funktionsschema eines HPLC-Injektionsventils

2. Die Auswertung von Chromatogrammen.

2.1st1st Qualitative Auswertung

2.1st1st1.Zweidimensionale Chromatogramme

Bei einfachen Detektoren besteht die analytische Information aus zwei Dimensionen nämlich dem Detektorsignal (z.B. der Extinktion, Leitfähigkeit oder dem Brechungsindex) und der Zeit. Anhand der Rückhaltezeiten (Retentionszeiten) können die im Probengemisch enthaltenen Substanzen identifiziert werden (unter gleichen Bedingungen: d.h. gleiche Säule, gleiche Eluentenzusammensetzung und gleiche Förderrate der Pumpe). Die Retentionszeit setzt sich aus der Totzeit und der Netto-Retentionszeit zusammen. Die Totzeit ist diejenige Zeit, die Substanzen, die nicht mit der stationären Phase wechselwirken, benötigen, um in den Detektor zu gelangen. Die Totzeit kann angenähert durch die Zeit des Lösungsmittelpeaks ersetzt werden.



t_0 : Totzeit

t_i : Retentionszeit von Substanz 1,2,3,.....

t_i' : Nettoretentionszeit der Substanz 1,2,3,.....

h : Höhe des Peaks

$h_{1/2}$: Halbwertshöhe

$h_{1/10}$: 10% der Höhe

$b_{1/2}$: Halbwertsbreite

w : Basisbreite

a : Abstand von der aufsteigenden Flanke zum Zentrum des Peaks (bei $h_{1/10}$ zu bestimmen)

b : Abstand vom Zentrum des Peaks zur fallenden Flanke (bei $h_{1/10}$ zu bestimmen)

2.1st1st2.Dreidimensionale Chromatogramme

Um sehr komplexe Proben untersuchen zu können, kann es notwendig sein mit Hilfe von Diodenarraydetektoren oder Massenspektrometern zusätzlich zur Zeit noch spektrale Informationen zur sicheren Identifikation von

Substanzen zu gewinnen.

2.1st2nd Quantitative Auswertung

Bei allen Verfahren, bei denen ein zeitabhängiger Massen- bzw. Stoffmengenstrom auftritt, wird zur Quantifizierung die Peakfläche verwendet. Die Peakfläche ist im linearen Arbeitsbereich des Verfahrens der Konzentration bzw. Stoffmenge direkt proportional. Man vergleicht daher die Peakflächen von Standardlösungen bekannter Zusammensetzung mit den entsprechenden Peakflächen der Probenchromatogramme.

2.1st3rd Beurteilung der Trennleistung einer Säule:

Zur Beurteilung der Güte einer Trennung können außer den Brutto-Retentionszeiten noch folgende Parameter herangezogen werden:

Der Kapazitätsfaktor k gibt an, in welchem Verhältnis die Aufenthaltszeiten der Substanz in stationärer und mobiler Phase stehen.

$$k'_i = \frac{t'_i}{t_0} = \frac{t_i - t_0}{t_0}$$

Die relative Retention α ist ein Maß für die Selektivität und das Auflösungsvermögen des Trennsystems.

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{t_2 - t_0}{t_1 - t_0} \quad \text{mit } k'_2 > k'_1$$

Für zwei benachbarte Peaks gilt:

$\alpha = 1$: Keine Trennung möglich:

$\alpha = 1,5$: Trennung ist für quantitative Bestimmungen ausreichend.

Relative Retentionen über 1,5 gehen auf Kosten der Analysenzeit. Oft kann die Trennung dann noch optimiert werden.

Um die Trennleistungen zweier Säulen vergleichen zu können, können aus einem Chromatogramm die effektive Bodenhöhe und die effektive Bodenzahl einer Säule, bezogen auf eine bestimmte Substanz berechnet, werden.

Effektive Bodenzahl:

$$N_{\text{eff}} = 16 \cdot \left(\frac{t_i}{w} \right)^2 = 5,54 \cdot \left(\frac{t_i}{b_{1/2}} \right)^2$$

Wenn die Säulenlänge L bekannt ist läßt sich die effektive Bodenhöhe:

$$H_{\text{eff}} = \frac{L}{16} \cdot \left(\frac{w}{t_i} \right)^2 = \frac{L}{5,54} \cdot \left(\frac{b_{1/2}}{t_i} \right)^2$$

2.1st3rd1. Peakverbreiterung und Peakasymmetrie:

Theoretischen Überlegungen zufolge müßte ein chromatographischer Peak die Form einer Gaußkurve haben. Dies ist in der Praxis jedoch nie der Fall. Es treten in den meisten Fällen asymmetrische Peaks auf, wobei meist das Ende des Peaks verbreitert ist. Ein Maß für die Peakasymmetrie ist der Quotient aus den Abständen zwischen Peakende - Peakzentrum und Peakzentrum - Peakanfang, gemessen in 10% der Peakhöhe.

$$A_s = \frac{b}{a}$$

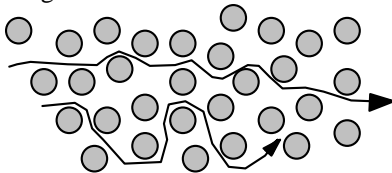
Man nennt diesen Effekt Tailing. Gute Trennsäulen haben einen A_s -Wert kleiner als 2,5

Gründe für extremes Tailing:

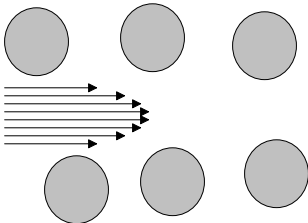
- Überladung der Trennsäule mit Probe
- Schlecht gepackte Trennsäulen
- Totvolumina im Trennsystem
- Schlecht an das Analysenproblem angepaßtes Trennsystem (falsche Säule und /oder falscher Eluent).

Eine Peakverbreiterung wird durch verschiedene Effekte hervorgerufen:

1. Streudiffusion: Beim Durchströmen der stationären Phase nehmen die Probenmoleküle unterschiedlich lange Wege.



2. Strömungsverteilung: In der Mitte von Strömungskanälen ist die Geschwindigkeit der mobilen Phase größer als am Rand der Kanäle.



3. In nicht durchströmten Poren der stationären Phase bewegen sich die Moleküle langsamer. Die Moleküle können nur durch Diffusion wieder in die strömende mobile Phase gelangen.

Um diese Effekte zu minimieren, müssen Säulenfüllmaterialien eine möglichst geringe Korngröße und Korngrößenverteilung haben.

3. Literatur

Handbücher der verwendeten Geräte: System Gold von Beckman

Dionexsäulen und Suppressoren

Ionenchromatographie Joachim-Weiss Wiley-VCH ISBN: 3527287027

Praxis der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie Veronika R. Meyer Salle+Sauerländer ISBN: 3-7935-5452-X

<http://www.chromolith.com>

<http://www.dionex.com>

<http://www.agilent.com>