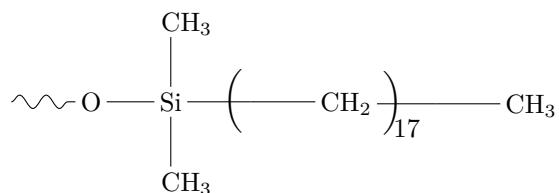


HPLC

In der hochauflösenden Flüssigkeitschromatographie (**HPLC**) wird das Lösungsmittel bei hohem Druck durch eine kleine Säule gepumpt, die 3-10 μm große Teilchen als stationäre Phase enthält.¹ Die Säule ist mit nur wenigen Mikrometer großen Partikeln gefüllt, die eine Trennung von sehr kleiner Mengen($\mu\text{g},\text{ng}$) an Analyt ermöglichen.

Stationäre Phase

Bei dem Versuch wird es 5μ Lichrospher 100RP18e Kieselgel verwendet.



polymere Stationäre Phase mit Octadecylschwanz

Mobile Phase

- Methanol-Wasser Gemisch für Elution
- Polar-Polar Mischung
- Verwendung der sauberer Lösungsmittel erforderlich

UV-Detektor

- Viele Analyte ultraviolettes Licht absorbieren
- Der UV-Detektor gibt ein Signal zur Konzentration des Analytes
- Die (HPLC-Anlage A) verwendet eine intensive Emission bei 280 nm
*Peakwert des Absorptionsspektrums des Koffeins(275nm).*²
- Die HPLC-Anlage B verwendet eine Emission bei 254 nm
*Peakwert des Absorptionsspektrums der Benzoesäure und der Benzoesäuredervaten(250nm).*³
- Die Fließzelle des UV-Detektors besitzt ein Volumen von 20 μl

¹Harris C.D, Lehrbuch der quantitativen Analyse, vieweg Verlag,1997, s. 843

²<http://webbook.nist.gov/cicbook.cgi?ID=C58082&Mask=400#UV-Vis-Spec>

³<http://webbook.nist.gov/cicbook.cgi?ID=C65850&Mask=400#UV-Vis-Spec>

Stufenhöhe als Säuleneffizienz

- kleine Stufenhöhe
=>schmale Peaks
=>bessere Trennung
- Stufenhöhe ist die Proportionalitätskonstante zwischen σ^2 der Bande und der zurückgelegten Strecke (x)
$$\text{Stufenhöhe} = \sigma^2 / x$$
- Diffusionskoeffizient(D) charakterisiert die Geschwindigkeit von der Region hoher Konzentration zur Region niedriger Konzentration
Eine Funktion der Molmenge und der Zeit
- $\sigma^2 = (2Dt) = 2D(x/u_x)$, wobei u_x für lineare Fließgeschwindigkeit steht und x für die in der Säule zurückgelegte Strecke steht
- Bei dem zweiten Teil des Versuches, wird das Verhältnis des Kapazitätsfaktors(Retenzionsfaktor) zum Peak untersucht