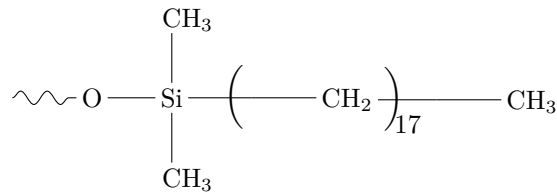


## HPLC

In der hochauflösenden Flüssigkeitschromatographie (**HPLC**) wird das Lösungsmittel bei hohem Druck durch eine kleine Säule gepumpt, die 3-10  $\mu\text{m}$  große Teilchen als stationäre Phase enthält.<sup>1</sup> Die Säule ist mit nur wenige 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 5 $\mu$  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 ein Signal zur Konzentration des Analytes
- Die (HPLC-Anlage A) verwendet eine intensive Emmission bei 280 nm  
*Peakwert des Absorptionsspektrums des Koffeins( 275nm).*<sup>2</sup>
- Die HPLC-Anlage B verwendet eine Emmission bei 254 nm  
*Peakwert des Absorptionsspektrums der Benzoesäure und der Benzoesäurederivaten( 250nm).*<sup>3</sup>
- Die Flieszelle des UV-Detektors besitzt ein Volumen von 20 $\mu\text{l}$

---

<sup>1</sup>Harris C.D, Lehrbuch der quantitativen Analyse, vieweg Verlag, 1997, s. 843

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

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

### Stufenhöhe als Säuleneffizienz

- kleine Stufenhöhe  
=> schmale Peaks  
=> bessere Trennung
- Stufenhöhe ist die Proportionalitätskonstante zwischen  $\sigma^2$  der Bande und der zurückgelegten Strecke (x)  
**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