

Anwendung der Methodologie des Upti-Select kits.

Die Methode, die ich erklären werde, erlaubt jedem Anwender zu kennen, welche C18 er brauchen soll.

Oft als Entwickler bin ich mit dem Problem konfrontiert und kaufe einige verschiedene C18, die zu der gleichen Familie gehören (siehe Tchapla-poster in mein web site www.laubscherlabs.com unter References in der 2. Kolonne unter Tchapla-poster.)

1) Stationäre Phase Uptisphere C18:

Es gibt ein kit von 5 stat. Phase Uptisphere, nämlich:

Uptisphere ODB: apolare Phase zu mittelpolare (70 – 80% in Chromatographie benutzt)

Uptisphere HDO: mittelpolar und mit 100% H₂O brauchbar

Uptisphere NEC: sehr polare Phase, um Komponenten, die mit dem Solventfront zusammenkommen

Uptisphere HSC: stark apolare Phase bei pH bis 10 anwendbar

Uptisphere TF: erlaubt nach Form des Moleküles zu trennen.

Da die 5 stationnären Phasen in allen Gruppen des Tchapla poster anwesend sind, haben wir entschlossen, ein Kit mit den 5 Phasen zu machen.

Das einzige Problem ist: mit welchen Eluentkonzentrationen sollen wir analysieren?

Dafür haben wir eine Methodologie entwickelt, die uns in wenig Zeit erlaubt, die richtige stationnäre Phase mit dem richtigen Eluent Ratio zu finden.

2) Anwendung der Methodologie:

Meine Erklärung wird mit Methanol etabliert werden. Es läuft genauso mit Acetonitrile

Säule Uptisphere ODB 250 x 4.6 mm 5 µm nehmen

Eluent: Methanol/Wasser, dessen Konzentration in org. Mittel nicht kleiner als 60 % und grösser als 80 % sein darf. (siehe mathematische Gleichung für eine Linearität)

Substanz in die Säule injizieren und die letzte Retentionszeit in Sekunden aufschreiben (Tx oder RP-value)

Säule spülen und Injektion eines Standard-Gemisches von 5 Komponenten, der von uns hergestellt worden ist und zum Kit gehört.

Die 5 Retentionszeiten in Sekunden aufschreiben

Dann einen k'-Wert zwischen 8 und 12 auswählen, k ist ein Retentionsfaktor, der für die Linearität verantwortlich ist.

Die verschiedenen Werte, nämlich Tx, k' und T1, T2, T3, T4 und T5 in eine Rechnungstabelle, mit einem CD geliefert, einsetzen und % Wasser-Anteil auch einsetzen, und dann Return oder Enter.

Die Rechnungstabelle gibt uns an, mit welchen Konzentrationen von organischen Lösungsmitteln von unserem Eluent wir die Analysen durchführen sollen

Somit werden wir 5 verschiedenen Eluenten mit MeOH und 5 mit Acetonitrile herstellen.

Wir bekommen also 5 Chromatogramme mit MeOH und 5 Chromatogramme mit Acetonitrile (ein Chromatogram pro stationäre Phase)

Jetzt werden wir sofort wissen, ob unsere Substanz trennbar mit einer C18 sein kann.

Unter den 10 verschiedenen Chromatogrammen sollen wir einen haben, der uns eine richtige Trennung anbietet.

Wenn es nicht gibt, dann muss man eine andere stationäre Phase wählen, z.B. C8, PH, CN, etc...

Wenn wir eine richtige Trennung mit einer von den 5 verschiedenen C18 Polaritäten bekommen, dann bleibt es nur übrig, eine Optimierung zu machen, nämlich mit einem Gradient, Kürzerer Säule, Erwärmung der Säule, etc...

Ein ist aber sicher, wir kennen die genaue stationäre Phase C18, die brauchbar für meine Analyse ist.

Natürlich ist Uptisphere die stationäre Phase, die uns erlaubt hat, die richtige Selektivität zu finden.

Aber, nachher kann ich die entsprechende stationäre Phase der äquivalenten Familie auswählen, da ich vielleicht mit Inertsil ODS3 validiert bin. Wenn meine Methodologie anzeigt, es solle ein Uptisphere ODB sein, dann kein Problem mit Inertsil ODS 3 oder X-Tera etc...