

Was bedeutet HPLC

Hauptsächlich zur Messung von kleinen Molekülen bedient man sich heute in vielen Laboratorien der Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC, engl. **H**igh **P**ressure **L**iquid **C**hromatography). Die Bestimmung mittels HPLC gilt als ein Referenzverfahren für eine Vielzahl von Analyten. Der HPLC-Analyse ist häufig eine Probenvorbereitung vorgeschaltet. Hierbei werden störende Substanzen entfernt. Desweiteren kann anhand von spezifischen Derivatisierungsverfahren das zu bestimmende Molekül selektiv in sehr niedriger Konzentration sichtbar gemacht werden.

In einem technologisch aufwendigen Verfahren werden die Probenbestandteile auf einer speziellen Trennsäule aufgetrennt. In der Trennsäule befindet sich ein modifiziertes Kieselgel, welches in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der mobilen Phase die Probenbestandteile selektiv zurückhält. Die Trennsäulen sind sehr dicht gepackt, sodass Hochleistungspumpen konstante Volumenströme bei einem Druck von ca. 100 bar leisten müssen. Nach einer, für jedes Molekül spezifischen Zeit, passieren die Analyten eine Detektionseinheit. Die am meisten eingesetzten Detektionssysteme in der Vitaminanalytik sind der UV-Detektor und der Fluoreszenz-Detektor. Bei dem UV-Detektor wird die Eigenschaft der Analyten genutzt, eingestrahktes Licht einer definierten Wellenlänge zu absorbieren. Bei der Fluoreszenzdetektion wird die Eigenschaft eines Moleküls genutzt, eingestrahktes Licht einer definierten Wellenlänge in einer anderen Wellenlänge wieder abzustrahlen.

Die Intensität des Detektorsignals wird über einen bestimmten Zeitraum aufgenommen und grafisch dargestellt. Das so erhaltene Chromatogramm zeigt ein charakteristisches Signalmuster, wobei die Fläche unterhalb eines Peaks der Konzentration des jeweiligen Analyten entspricht. Zur Quantifizierung wird die Konzentration der Probe mit einem mitgeführten Kalibrator verglichen. Zur Überprüfung der Qualität werden bei jeder Messreihe Kontrollen mit definierter Konzentration mitbestimmt.

Die Firma ImmuChrom GmbH (www.immuchrom.de) liefert eine Vielzahl von spezifischen HPLC Testkits zur Bestimmung von Vitaminen, Oxidantien und Antioxidantien.

ImmuChrom GmbH
Tiergartenstr. 7
64646 Heppenheim
Tel.: ++49 6252 910084
Fax: ++49 6252 910070
info@immuchrom.de
www.immuchrom.de