

Erlaubte Änderungen in HPLC Methoden aus der Europäischen Pharmakopöe (Ph.Eur.)

Eine Vielzahl verschiedener Faktoren können Ergebnisse beeinflussen, die unterschiedliche Labore mit den gleichen Methoden bestimmen. Beispielsweise spielen Unterschiede im Systemverweilvolumen von HPLC-Systemen verschiedener Marken oder Hersteller eine Rolle, die zu Änderungen in der Trenneffizienz und so der Auflösung führen können. Auch verschiedene stationäre Phasen zeigen starke Unterschiede ihrer chromatographischen Eigenschaften durch Variation in Packungsqualität, spezifische Oberfläche und Oberflächenbeladung, Porengröße, als auch Partikelform und -Einheitlich-

keit, selbst wenn die Materialien formal zur gleichen Klasse gehören (z.B. C18). Aus diesen Gründen ist es Laboratorien erlaubt Änderungen in den Parametern ihrer isokratischen und Gradiententrennungen durchzuführen um ihre Analysen auf ihre Bedingungen zu optimieren, Reproduzierbarkeit und Produktivität zu erhöhen oder eine Trennung der Analyten erst möglich zu machen.

Wir stellen hier eine hilfreiche Übersicht der erlaubten Änderungen in HPLC Methoden der europäischen Pharmakopöe (European Pharmacopoeia Ph. Eur., Chapter 2.2.46) für Ihre Arbeit zur Verfügung:

Isokratische Elution

Säulenlänge	± 70%
Innerer Durchmesser der Säule	± 25%
Partikelgröße	- 50%
Flussrate	± 50% (bezogen auf den ID der Säule)
Injektionsvolumen	<i>Kann reduziert werden, wenn Präzision und Detektionslimits erreicht werden</i>
Zusammensetzung der mobilen Phase	± 30% (relativ für das im Überschuss eingesetzte Lösemittel) oder ± 2% absolut (was immer größer ist)
pH der mobile Phase	± 0.2 pH Einheiten (± 1.0 pH Einheiten für nicht-ionisierbare Analyten)
Pufferkonzentration	± 10%
Säulentemperatur	± 10°C
Detektionswellenlänge	± 3 nm

Gradient Elution

Säulenlänge	± 70%
Innerer Durchmesser der Säule	± 25%
Partikelgröße	<i>Keine Änderung erlaubt</i>
Flussrate	<i>Anpassung erlaubt um lineare Fließgeschwindigkeit bei neuem Säulen ID zu erhalten</i>
Injektionsvolumen	<i>Kann reduziert werden, wenn Präzision und Detektionslimits erreicht werden</i>
Zusammensetzung der mobilen Phase	<i>Kleine Änderungen erlaubt wenn Systemeignungsvoraussetzungen erreicht werden, die Retentionszeiten der Analyten in einem Bereich von ± 15 % liegen und die Elutionskraft der finalen mobilen Phase nicht schwächer ist.</i>
pH der mobile Phase	<i>Keine Änderung erlaubt</i>
Pufferkonzentration	<i>Keine Änderung erlaubt</i>
Säulentemperatur	± 5°C
Detektionswellenlänge	<i>Keine Änderung erlaubt</i>
System-Verweilvolumen	<i>Gradientenzeitpunkte können angepasst werden um Unterschiede zwischen Systemen zu kompensieren</i>