

## Tagungsbericht NOVIA-HPLC-Tage 2012

*NOVIA Chromatographie- und Messverfahren GmbH*

Das Anwenderforum für HPLC-Anwender stand auch in diesem Jahr unter dem bewährten Motto „von Anwender für Anwender – Erfahrungsaustausch und Neues rund um die HPLC“.

Am 5. November 2012, trafen sich zahlreiche HPLC-Anwender und Firmenaussteller aus der Chemie- und Pharmaindustrie, sowie die Referenten aus Industrie, Instituten und Universitäten.

Zu Beginn des Forums gab Herr Dr. S. Lamotte (BASF SE) einen kurzen Überblick über die

anhaltenden Trends in der HPLC und im beleuchtete im Besonderen die UHPLC-Entwicklungen im Vergleich zu anderen Phasen.

Ein direkter Vergleich von UHPLC (1,7 $\mu$ m-Partikel) und HPLC (5 $\mu$ m-Partikel bei hohem Druck) lieferte die Erkenntnis einer durchaus vergleichbaren Trenneffizienz und Retentionszeit. Die UHPLC besticht durch Ihre Vorteile bei der Nachweisempfindlichkeit gegenüber der Masseneempfindlichkeit. Vor allem der detaillierte Vergleich von klassischen Partikeln mit sub2 $\mu$ m-Partikeln, der Coreshell-Technologie und den Monolithen lieferte konkrete Aussagen zum Verhalten in Bezug auf Robustheit, maximale Bodenzahl, Druckabfall u.v.m.

Im direkten Anschluss stellte Herr Dr. M. Bioniossek (Uni Freiburg) die HPLC-MS mit kleinen Flussraten vor. Das Arbeiten in minimalen Dimensionen hat Einfluss auf die Fließgeschwindigkeit und das Strömungsverhalten. Um Fehlerquellen zu minimieren muss Totvolumen vermieden und Adsorptionseffekte beachtet werden.

Anschließend hatten die Teilnehmer die Möglichkeit zwischen zwei Workshops zu wählen.

Tipps und Tricks zur LC-MS kamen von Herr Dr. F. Mandel: Nach einer kurzen Einführung in unterschiedliche LC-MS-Techniken folgte in diesem ersten Workshop eine Gruppenarbeit zur Kopplung und Ionisierung, sowie zum qualitativen und quantitativen Arbeiten. Welches MS-System eignet sich für welche Fragestellung am besten? Unter welchen Bedingungen ist ESI oder APCI besser zur LC-MS-Kopplung geeignet? Eine Vielzahl von Fragen führten in der angeregten Diskussion dazu, dass die Workshop-Zeit zu knapp wurde. Die Teilnehmer hatten jedoch in der Kaffeepause Gelegenheit sich intensiv weiter zu unterhalten.



Im parallel laufenden Workshop diskutierte Herr Dr. F. Steiner mit den Teilnehmern über unerwartete Fehlschläge in der HPLC und den Einfluss wichtiger Faktoren, wie der HPLC-Pumpe, den Autosampler, den Säulenthmostat, sowie den Detektor. Suboptimale Mischungen bei Hoch- und Niederdruckgradienten müssen ebenso beachtet werden, wie ein mögliches Gradientenverzögerungsvolumen! „Der Vorheizzeit macht den Unterschied“: mit diesem Statement und der entsprechenden Umsetzung im Laboralltag lässt sich oftmals die Auflösung und Peakform verbessern. Weitere Fragen wie z.B. „Wie wirkt sich die response time auf den Peak aus? Gibt es Faustregeln für die Detektoreinstellung und das Zellvolumen?“ wurden ebenso diskutiert, wie das Berühmte „Wo kommt der denn her?“, wenn mal wieder ein unerwarteter Peak auftaucht.

Im weiteren Verlauf des Forums referierte Herr Dr. J. Maier-Rosenkranz, über die Eigenschaften von fused core-Partikeln und gab einen kritischen Überblick über den Innovationsgrad für die Zukunft, während Herr Dr. T. Teutenberg (IUTA) am Folgetag die 2D-Chromatographie im Detail erläuterte. Die Darstellung der Realisierung eines miniaturisierten Systems sowie die Unterscheidung zwischen heart cut- und comprehensive-2D-Chromatographie brachte den Teilnehmern die Entwicklung in diesem Bereich der HPLC näher.

Später gab es die Möglichkeit sich im Zuge der technischen Neuentwicklungen auf den neuesten Stand zu bringen. 14 Aussteller von unterschiedlichsten Firmen – darunter Marktführer und Spezialanbieter – stellten die Firmen und ihre Produkte vor und standen gerne für Rückfragen zur Verfügung.

Besonders gut besucht war der Workshop „Formale Anforderungen in der HPLC-Analytik vs. analytische Notwendigkeit“, in welchem Herr Dr. S. Kromidas mit den Teilnehmern über formal-betonte Anforderungen seitens Behörden und Organisationen sprach. Nach Dr. Kromidis sind diese behördlichen Vorgaben nicht alle sinnvoll. Andererseits würden durchaus sinnvolle Vorgaben wegen starrer interner Vorgaben häufig nicht genutzt.

Zu Beginn des zweiten Tages gab es einen Troubleshooting-Workshop der besonderen Art. Zu Besuch kamen Peaky und Chromy – den HPLC-Tipp-Lesern aus diversen Tipps wohl bekannt. Peaky und Chromy beschrieben ihren Weg durch die Säule. Die Teilnehmer maßen sich hier im Wettkampf, wer die meisten Fehler, die die beiden in ihren Dialog einbauten, erkannte. Highlight des Tages waren die Chemielaboranten im ersten Ausbildungsjahr der Provalids GmbH, die eine pantomimische Darstellung typischer Fehler in der HPLC-Analytik zeigten. Zum Abschluss durften die Teilnehmer über eine eigens hierfür programmierte X-Box Kinect-Software ein vorher definiertes Chromatogramm „in die Luft“ malen. Die Software erkannte die Bewegungen der Teilnehmer, visualisierte das „gemalte“ Chromatogramm und wertete schließlich das beste Chromatogramm aus. Das Siegerteam wurde mit einer HPLC-Torte kulinarisch belohnt.

„Wo können potenzielle Verunreinigungen in Arzneimitteln herkommen und was muss man hierbei bei der Entwicklung einer chromatographischen Methode beachten?“ Dieser Fragestellung ging Herr Dr. Jochen Kirschbaum von Analytical Services in seinem Workshop nach, gab Einblicke in die Strategie der Methodenentwicklung und zeigte mittels HPLC-MS- und HPLC-MS/MS-Kopplungen Möglichkeiten zur Strukturaufklärung potenzieller Verunreinigungen auf.

Die diesjährigen HPLC-Tage boten einen weiteren Workshop mit Herr Dr. S. Kromidas: „Was sagt mir dieses Chromatogramm? – 1x1 der Fehlererkennung“! Anhand realer Chromatogramme wurde mit den Teilnehmern darüber diskutiert, wie man zu wichtigen Informationen gelangt: Die bewusste Wahrnehmung von Retentionszeit, Peakfläche und Peakhöhe offenbart Veränderungen, die man als Substanzspezifisch bzw. -unspezifisch entlarven kann.

Spezialdetektoren für die Forschung und Entwicklung von Arzneimitteln wurden von Herr Dr. M. Pfeffer (Bayer Schering Pharma) vorgestellt. Der Vergleich von Funktionsprinzipien, sowie spezielle Charakteristika (u.a. Linearität, Empfindlichkeit, Präzision, Einfluss der mobilen Phase) wurden erörtert. Zudem wurden interessante Möglichkeiten zur Detektion von Komponenten aufgezeigt, die mit konventionellen Detektoren oft unerkant bleiben. Zahlreiche Beispiele aus der Praxis sowie eine Übersicht zu den Vorteilen und Limitationen eines jeden Detektors rundeten den Vortrag ab.

Frau Dr. Therese Koal hielt den letzten Vortrag der diesjährigen Veranstaltung. In Ihrem Vortrag zur standardisierten HPLC und UHPLC-MS/MS schlug sie die Brücke zwischen der forschungs-orientierten und der klinisch-orientierten Anwendung dieser Analysentechniken für Targeted Metabolomics. Sie kam zu dem Fazit, dass künftig eine zwingende Notwendigkeit zur analytischen Standardisierung durch Kits und Referenzmaterialien unabdingbar ist.

Alles in Allem erlebten die Teilnehmer zwei fachlich interessante und abwechslungsreiche Tage, an welchen der Erfahrungsaustausch wie jedes Jahr eine wichtige Rolle innehatte, um auf dem aktuellen Stand der Entwicklungen zu sein.