



Egal um welche chromatographische Methode es sich genau handelt: Die Quantifizierung eines Analyten erfolgt in der Regel nach einem der unten vorgestellten Verfahren. Alle diese Verfahren beruhen auf einer Kalibrierung mit Stoffen, deren Gehalt genau bekannt ist. Bei der Kalibrierverfahren unterscheidet man zwischen einem **externen Standard** und einem **internen Standard**.

### 1. Externer Standard: Einpunktkalibrierung

**Zu den Abschnitten 1 – 3 (Externer Standard) existiert ein Lernvideo: <https://youtu.be/y9LBGiQrkTI>**



Externe Standardisierung bzw. externer Standard bedeutet, dass die Kalibriersubstanz nicht direkt zur Probe gegeben wird, sondern in einem separaten chromatographischen Lauf, dem Kalibrierlauf, gemessen wird. Hierzu wird eine oder mehrere Kalibrierlösungen bekannten Gehalts X (z.B. Masse, Stoffmenge, Konzentration) chromatographiert und die Peakfläche(n) (seltener: Peakhöhe) gemessen. So kann man einen mathematischen Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Kalibriersubstanz und der resultierenden Signalfäche herleiten. Nachdem man in einem separaten chromatographischen Lauf (Probelauf) die Fläche des Analyten bestimmt hat, kann man mit dem mathematischen Zusammenhang auf den Gehalt an Analyt schließen.

Im einfachsten Fall wird nur *eine* Kalibrierlösung benutzt, man spricht dann von einer **Einpunktkalibrierung**. Sie geht davon aus, dass es einen proportionalen Zusammenhang zwischen Gehalt und Signal gibt und dass eine Lösung mit einem Gehalt von Null, auch tatsächlich einen Signal von Null liefert.

**1.1 Zeichnen Sie einen solchen Zusammenhang, also ein *Kalibrierdiagramm*:**

**1.2 Eine Fluoranthen-Kalibrierlösung mit  $\beta(\text{Fluoranthen}) = 16,49 \text{ ng/mL}$  erzeugt in einem Kalibrierchromatogramm die Fläche von 17184 Flächeneinheiten.**

- a) Welche Konzentration hat eine Fluoranthenprobe, wenn sie einen Peak von 14357 Flächeneinheiten erzeugt?  
Hinweis: Es wurde in beiden Fällen das gleiche Probevolumen injiziert

Berechnung mit dem Dreisatz:

- b) Welche Nachteile ergeben sich durch diese Kalibriermethode. Wie lassen sie sich unter Beibehaltung der Einpunktkalibrierung minimieren?

Statt den Dreisatz zu nutzen kann man auch mit einem **Kalibrierfaktor (f)** rechnen. **Er gibt den Gehalt X (z.B. ng/mL, mmol/L, g, mmol o.ä.) pro Signaleinheiten A (z.B. Flächeneinheiten) an.** Er kann aus den Daten des Kalibrierlaufs berechnet werden. Mit Hilfe von f lässt sich dann der Gehalt der Probe berechnen. Allgemeine Formeln:

$f =$

Gehalt =

Hinweis: Zum Teil wird der Begriff „Kalibrierfaktor“ mit dem Begriff „Responsefaktor“ gleichgesetzt, (siehe unten).

Konkretisierung für Aufgabe 1.1:

## 2. Externer Standard: Zweipunktkalibrierung und Mehrpunktkalibrierung

Setzt man mindestens 2 Kalibrierpunkte und spannt dadurch einen Kalibrierbereich auf, so muss gewährleistet sein, dass der Probepunkt auch wirklich in diesem Bereich liegt. Das heißt das Signal der Probe liegt zwischen dem Minimal- und Maximalwert der Kalibrierpunkte. Auch hier gilt, dass das Ergebnis umso genauer wird, je näher die Kalibrierpunkte am Probepunkt liegen.

Die Auswertung erfolgt über eine über *eine einfache lineare Regression*, d.h. man ermittelt die Geradengleichung einer Ausgleichsgerade. Ist der y-Achsenabschnitt nicht Null, wovon ausgegangen werden muss, ist die Auswertung **nicht** wie bei der Einpunktkalibrierung möglich: Man kann deshalb **nicht** mit jedem einzelnen Kalibrierpunkt ein Ergebnis über den Dreisatz berechnen und dann den Mittelwert aller Ergebnisse bilden.

**2.1:** *Unter den gleichen Bedingungen wurden neben der Probe auch 2 Kalibrierlösungen chromatographiert. Berechnen Sie den Gehalt der Probe!*

### Daten der Chromatographie:

Kalibr\_1: 30 mg/L  $\hat{=}$  17149 AU

Kalibr\_2: 37,5 mg/L  $\hat{=}$  19186 AU

Probe: ?  $\hat{=}$  18901 AU

Der Versuch zur Auswertung als zwei getrennte Einfachkalibrierungen mit jeweils einem der Kalibrierpunkte und anschließender Mittelwertbildung

SCHEITERT:

**Mit Kalibr\_1:**

30 mg/L  $\hat{=}$  17149 AU

x mg/L  $\hat{=}$  18901 AU

$\Rightarrow x \approx 33,0649$  mg/L

**Mit Kalibr\_2:**

37,5 mg/L  $\hat{=}$  19186 AU

x mg/L  $\hat{=}$  18901 AU

x mg/L  $\hat{=}$  36,9429 mg/L

**Mittelwert:**  $\bar{x} \approx 35,004$  mg/L **FALSCH!!!!!!!!!!**

*richtige Berechnung:*

## 3. Die Detektionsempfindlichkeit eines Stoffs wird auch **Responsefaktor** genannt

**3.1:** *Erzeugen 2 mol eines Stoffs Y beim Detektor die Fläche 1000 AU, so beträgt der Kalibrierfaktor  $f(Y) = 0,002$  mol/AU. Erzeugt 1 mol eines anderen Stoffs Z beim Detektor dieselbe Fläche (1000 AU), so beträgt der Kalibrierfaktor  $f(Z) = 0,001$  mol/AU.*

a) *Welcher der beiden Stoffe wird empfindlicher detektiert?*

b) *Die Detektionsempfindlichkeit eines Stoffs wird auch **Responsefaktor (RF, z.T. auch mit f abgekürzt)** genannt. Es handelt sich um die Signaleinheiten (Signalfläche, A) pro Gehalt (X). Geben Sie die entsprechend Formel an und finden Sie die Formel im Tabellenbuch.*

c) *Welchen mathematischen Zusammenhang gibt es zwischen Kalibrierfaktor (f) und Responsefaktor (RF)?*

## 4. Externer Standard: Flächenprozent-Methode (Methode der 100%-Normierung)

Zum Abschnitt 4 (Flächenprozent-Methode) existiert ein Lernvideo: <https://youtu.be/-TeWCzGH4hQ>



### A Einfache 100%-Methode (Flächenprozent-Methode)

Erfasst der Detektor alle Probenbestandteile und geht man davon aus, dass der Detektor alle Komponenten bezüglich ihres Gehalts (z.B. Masse, Stoffmenge, Konzentration) mit gleicher Empfindlichkeit detektiert, so entspricht der prozentuale Gehaltsanteil (z.B. Massenanteil,  $w(X)$ ) einer Komponente dem prozentualen Flächenanteil  $A(X)$  des entsprechenden Peaks an der Gesamtfläche. Die Gesamtfläche wird also gleich 100% gesetzt (100%-Normierung). In der Praxis ist eine annähernd gleiche Detektionsempfindlichkeit für verschiedene Komponenten nur selten gegeben. Beispiele für solche Fälle wären Untersuchungen von Isomerenmischungen oder Gemischen mit chemisch ähnlichen Analyten (z.B. verschiedene Kohlenwasserstoffe). Nutzt man einen UV/VIS-Detektor, kann man z.B. für Aromaten eine Detektionswellenlänge wählen, bei der alle Aromaten ungefähr gleich stark absorbieren, d.h. ungefähr denselben Absorptionskoeffizienten besitzen. Die einfache Flächenprozentmethode nimmt also an, dass die Responsefaktoren und damit auch alle Kalibrierfaktoren für alle Komponenten identisch sind. Will man nur die Gehaltsanteile der Komponenten in der Probe berechnen, ist ein Kalibrierlauf gar nicht nötig. Das heißt der Wert des Responsefaktors (RF) (bzw. des Kalibrierfaktors  $f$ ) bleibt unbekannt.

4.1 Bei der Analyse eines Carbonylgemisches aus Acetaldehyd, Propionaldehyd und Acetons ergaben sich die unten stehenden Peakflächen. Berechnen Sie den Massenanteil  $w(\text{Propionaldehyd})$ , wenn davon ausgegangen wird, dass der Detektor für alle drei Stoffe bezüglich der Analytmasse die gleiche Empfindlichkeit zeigt.

Acetaldehyd:  $A = 54792 \text{ AU}$

Propionaldehyd:  $A = 45480 \text{ AU}$

Aceton:  $A = 70078 \text{ AU}$

### B korrigierte 100%-Methode (Berücksichtigung der unterschiedlichen Detektionsempfindlichkeit).

Werden die einzelnen Komponenten unterschiedlich empfindlich durch den Detektor erfasst, so muss dies noch rechnerisch berücksichtigt werden. Auch hier wird aber davon ausgegangen, dass alle Probenbestandteile erfasst werden, d.h. die Summe aller Gehalte entspricht 100%.

4.2 In einem Kalibrierchromatogramm wurden unten stehende Daten erhalten. Berechnen Sie den Massenanteil  $w(\text{Propionaldehyd})$  im Carbonylgemisch!

#### Kalibrierchromatogramm (Kalibrierlauf)

$\beta(\text{Acetaldehyd}) = 1,5 \text{ g/100 mL}$   $A = 77155 \text{ AU}$

$\beta(\text{Propionaldehyd}) = 0,9 \text{ g/100 mL}$   $A = 48456 \text{ AU}$

$\beta(\text{Aceton}) = 1,3 \text{ g/100 mL}$   $A = 65173 \text{ AU}$

#### Probechromatogramm (Probelauf)

Acetaldehyd:  $A = 54792 \text{ AU}$

Propionaldehyd:  $A = 45480 \text{ AU}$

Aceton:  $A = 70078 \text{ AU}$

Berechnung mit dem Dreisatz:

**Berechnung mithilfe der Kalibrierfaktoren  $f$ :** Der Analytgehalt beträgt  $f(X) \cdot A(X)$ . Der Gesamtgehalt entspricht der Summe aller Einzelgehälter, also  $f_1 \cdot A_1 + f_2 \cdot A_2 + f_3 \cdot A_3 + \dots$ . Der Anteil des Analyts am Gesamtgehalt entspricht also:

Anteil =

Konkretisierung für Aufgabe 4.3:

Zum Abschnitt 5 existiert ein Lernvideo: <https://youtu.be/OpHSOpct-RI>



### Gleichnis: Der Kutscher aus dem alten Arabien hat ein Problem

Ein Kutscher im alten Arabien befördert Zuckersirup und Wasser in ein entlegenes Dorf gegen Geld. Neben seinem Zuckersirupfass steht das Wasserfass. Der Wassergehalt im Wasserfass beträgt zu Beginn der Reise 45 Liter. So macht er sich auf die mehrtägige Reise über holprige Pfade. Dabei geht immer etwas der Ware verloren, immer unterschiedlich viel. Auf der Waage des Basars („Detektor“) wiegt der Zuckersirup diesmal 160 Gewichtsstücke (auch „Einheiten“ genannt), beim Messen des Wassers zeigt die Waage 210 *Einheiten* an. Erschrocken stellt er fest, dass er den Zuckersirupgehalt im Fass nicht notiert hat, das er zu Beginn mitgenommen hatte. Er braucht es jedoch für die Abrechnung.

5.1a) Schätzen Sie mit den zur Verfügung stehenden Daten den Zuckersirupgehalt (in L).

5.1b) Warum kann es sich nur um eine Schätzung handeln, weshalb man auch lieber von „Gehalt an Wasseräquivalenten“ sprechen sollte, anstatt vom „Zuckersirupgehalt“. Ist der bei 5.1a) geschätzte Zuckersirupgehalt eher zu hoch oder eher zu klein? Begründen Sie!

Da erinnert sich der Kutscher an seinen letzten Transport. Er hatte 21 Liter Zuckersirup in sein Fass gefüllt und zusätzlich ein Wasserfass mit 30 Liter Wasser mitgenommen. Als er einige Tage später im Dorf ankam, wog er der Zuckersirup auf der Waage 128 Einheiten, das Wasser hingegen 160 Einheiten. Blöderweise, wurden beim letzten mal aber andere, geringfügig abweichende Gewichtsstücke genutzt, als diesmal.

5.1c) Wie kann er seine Schätzung mithilfe dieser Werte deutlich verbessern? Tipps: Berechnen Sie zuerst die Responsefaktoren (RF). Mit welchem Faktor (= **Methodenfaktor, MF**) muss das Ergebnis von 5.1a) multipliziert werden, um die Schätzung zu verbessern?

5.1d) Begründen Sie, ob das Ergebnis durch die Nutzung abweichender Gewichtsstücke bei der vorangegangenen Messung verfälscht wurde.

### 5.3 Ergänzen Sie die fehlenden Bezeichnungen im folgenden Text

**Zusammenfassung und Analogie zur Chromatographie:** Bei der Kalibrierung mittels *internem Standard* gibt man zu der Probe (Analogie: Kutsche) mit dem Analyten (X, oben: ..... ) eine bekannte, der zu messenden Substanz ähnliche Substanz (S, oben: ..... ), in einer genau bekannten Gehalt hinzu. Diese Substanz dient als *Interner Standard*, da sie sich in der Probe befindet. Ab dem Zeitpunkt der Zugabe bis zur Messung macht der interne Standard alles mit, was auch die Probekomponenten mitmachen.

**Vorteile des internen Standards:** Wenn durch die Probenaufarbeitung oder die Probenauftragung jedes mal unterschiedlich viel Analyt zur Analyse gelangt oder der Detektor aufgrund veränderter Bedingungen, beispielsweise Betriebswärme, in seiner Empfindlichkeit von Lauf zu Lauf nicht exakt konstant ist, werden die Peakfläche der Standardsubstanz (S) und des Analyten (X) um den gleichen Faktor betroffen sein. So kann man mit dieser Kalibrieremethode diese Veränderungen (z.B. Substanzverluste) kompensieren. Insbesondere bei komplizierter oder verlustreicher Probenaufarbeitung, etwa bei Extraktionen, kann ein interner Standard die Genauigkeit wesentlich erhöhen: Individuelle Analyt-Verluste werden durch die Standardsubstanz aufgedeckt und dann rechnerisch berücksichtigt!

Eine Verbindung, die als interner Standard einer Probe zugesetzt wird, ...

- ...darf nicht selbst in der ursprünglichen Probe enthalten sein.
- ...muss im Chromatogramm einen eigenständigen Peak ergeben, d.h. es darf keine Probenkomponente mit gleicher Retentionszeit vorhanden sein.
- ...soll in ihren chemischen Eigenschaften ähnlich dem Analyten sein (damit Substanzverlust vergleichbar ist)

Die Berechnung erfolgt entweder mit dem Dreisatz und Responsefaktoren ODER man nutzt eine vorgefertigte Formel.

#### a) Berechnung mit dem Methodenfaktor

Zuerst wird anhand den Signalen die sich mit der Referenzlösung ergeben haben, berechnet, um welchen Faktor (MF) die Standardsubstanz (S) empfindlicher detektiert wird als der Analyt (X). Dieser Faktor wird **Methodenfaktor** (**MF = relativer Responsefaktor = relativer Kalibrierfaktor**) bezeichnet. Er entspricht, wie der Name schon sagt, dem Verhältnis der Responsefaktoren RF oder Kalibrierfaktoren f:

#### Definition des MF über Responsefaktoren (RF)

#### Definition des MF über Kalibrierfaktoren (f)

(Anmerkung: Manchmal wird nicht zwischen Kalibrierfaktor und Responsefaktor unterschieden. Dann wird der Responsefaktor auch mit f abgekürzt.)

(Anmerkung: Manchmal wird nicht zwischen Kalibrierfaktor und Responsefaktor unterschieden. Dann ist mit „Kalibrierfaktor“ der Responsefaktor gemeint.)

$$MF = \frac{RF(S)}{RF(X)} = \frac{\frac{Signal(S)}{Gehalt(S)}}{\frac{Signal(X)}{Gehalt(X)}} = \frac{Gehalt(X) \cdot Signal(S)}{Signal(X) \cdot Gehalt(S)}$$

$$MF = \frac{f(X)}{f(S)} = \frac{\frac{Gehalt(X)}{Signal(X)}}{\frac{Gehalt(S)}{Signal(S)}} = \frac{Gehalt(X) \cdot Signal(S)}{Signal(X) \cdot Gehalt(S)}$$

Anschließend rechnet man mit den Daten der Probelösung (Signal(X), Signal (S) und Gehalt (S)) aus, welcher Gehalt an X als S-Äquivalente vorhanden ist, beispielsweise mit dem Dreisatz. Das heißt man tut so, als ob X dasselbe wie S ist. Dieses Ergebnis multipliziert man anschließend noch mit dem Methodenfaktor MF.

#### b) Berechnung mithilfe einer vorgefertigten Formel (Doppelbruchformel)

Hier werden alle Daten direkt in folgende Formel eingesetzt und nach dem Gehalt von X in der Probe aufgelöst werden. Als Gehalte können hier auch Massen, Volumina, Konzentrationen oder Anteile benutzt werden.

$$\frac{Gehaltverhältnis(X/S) \text{ in Probe}}{Signalverhältnis(X/S) \text{ in Probe}} = \frac{Gehaltverhältnis(X/S) \text{ in Referenz}}{Signalverhältnis(X/S) \text{ in Referenz}} \quad \text{Der Doppelbruch rechts ist der MF!}$$

### 5.4 Zeigen Sie durch eine Rechnung, dass der Kutscher sein Ergebnis auch mit der Doppelbruchformel erhalten hätte!

**5.5 (ähnlich einer Prüfungsaufgabe, Winter 2010/2011)**

In einer Probe soll der Xylen-Gehalt chromatographisch ermittelt werden. Zur Herstellung der Referenzlösung wurden zuerst 140 µL Xylen in einem 20 mL-Messkolben bis zur Marke mit Lösungsmittel aufgefüllt. 250 µL dieser Xylen-Lösung werden mit 50 µL einer Isodurool-Kalibrierlösung (Volumenkonz. = 10 µL/mL) versetzt. Zur Herstellung einer Probelösung wurden 250 µL der Probe mit 50 µL der Isodurool-Kalibrierlösung versetzt. Nach Einlass in den Chromatographen ergaben sich die unten angegebenen Peakflächen. Berechnen Sie das Volumen und den Volumenkonzentration von Xylen in der ursprünglichen Probe.

| Referenzlösung |            | Probelösung   |            |
|----------------|------------|---------------|------------|
| Substanz       | Peakfläche | Substanz      | Peakfläche |
| Isodurool (S)  | 16072      | Isodurool (S) | 18433      |
| Xylen (X)      | 22035      | Xylen (X)     | 21048      |

a) Ermitteln Sie mit dem Dreisatz aus den Peakflächen der Probelösung das Volumen des Analyten als „Isodurooläquivalente“ (als ob es Isodurool wäre).

b) Rechnen Sie in das Xylenvolumen um. Welche Größe benötigen Sie hierfür?

c) Berechnen Sie die Volumenkonzentration in der ursprünglichen Probe.

d) Weshalb braucht der Verdünnungseffekt durch die Zugabe von Internem Standard nicht berücksichtigt werden?

**Alternative Auswertung mit der Doppelbruchformel: X: Analyt, S: Standardsubstanz**

$$\frac{\text{Gehaltverhältnis (X/S) in Probe}}{\text{Signalverhältnis (X/S) in Probe}} = \frac{\text{Gehaltverhältnis (X/S) in Referenz}}{\text{Signalverhältnis (X/S) in Referenz}}$$

Werte einsetzen und nach Unbekannter auflösen!

Hier berechnen!

6. Interner Standard in einer Mehrpunktkalibrierung

Zum Abschnitt 6 existiert ein Lernvideo: [https://youtu.be/Vw57\\_JbomLo](https://youtu.be/Vw57_JbomLo)



Statt den Methodenfaktor aus nur einem einzigen Kalibrierpunkt (Gehaltsverhältnis) zu bestimmen, kann man ihn auch durch eine Mehrpunktkalibrierung bestimmen. So steht er statistisch auf breiteren Füßen:

**6.1 Ergänzen Sie:**

$$\frac{\text{Gehaltsverhältnis } \frac{X}{S} \text{ in Probe}}{\text{Signalsverhältnis } \frac{X}{S} \text{ in Probe}} = \dots = MF$$

**6.2 Lösen Sie die Doppelbruchformel nach dem Signalverhältnis (X/S) auf und zeigen Sie dadurch, dass es sich um eine Geradengleichung handelt, wenn man auf der x-Achse das Gehaltsverhältnis X/S aufträgt. Wie groß ist die Steigung der Gerade?**

- Anhand des Signalverhältnisses  $A(X)/A(S)$  und der Geradengleichung kann das Gehaltsverhältnis  $X/S$  berechnet werden. Mit dem Gehalt an S lässt sich dann der Gehalt an X berechnen.

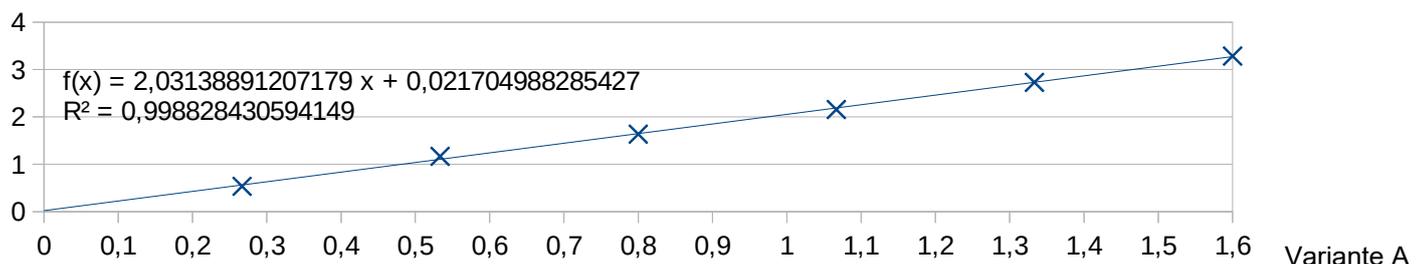
**6.3 Ist der Gehalt an internem Standard (S) in allen Lösungen identisch, so vereinfacht sich die Geradengleichung. Geben Sie die resultierende Form an:**

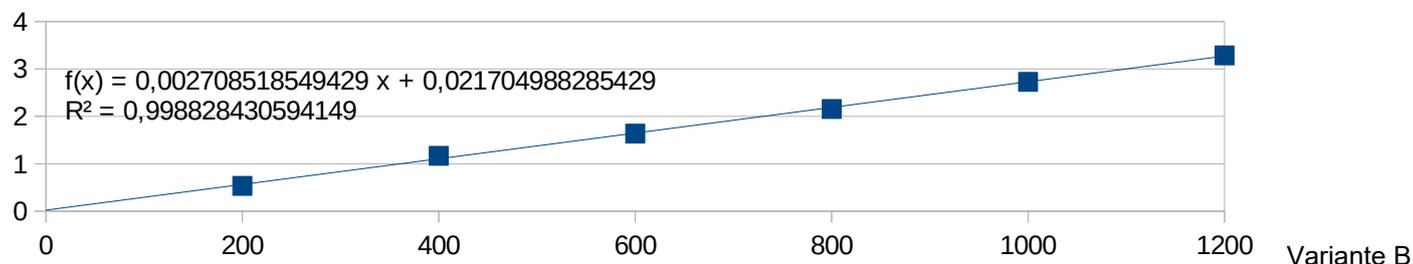
- Der Gehalt des Internem Standard muss nicht mal bekannt sein und fließt nicht in die Berechnung ein!

**6.4 (ähnlich einer Prüfungsaufgabe, Winter 2017/2018)**

Bei der Aufarbeitung und chromatographischen Analyse von 2-Chlorphenol wurde 2-Bromphenol als interner Standard genutzt. Es ergeben sich folgende Daten und zwei alternative Diagrammvarianten:

|            | m(2-Chlorphenol)<br>= m(X) in µg | m(2-Bromphenol)<br>= m(S) in µg | A(2-Chlorphenol)<br>in AU = A(X) | A(2-Bromphenol)<br>in AU = A(S) | Gehaltsverhältnis<br>m(X)/m(S) | Flächenverhältnis<br>A(X)/A(S) |
|------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Kalibr_I   | 200                              | 750                             | 8212                             | 15383                           | 0,266666666667                 | 0,533836052786                 |
| Kalibr_II  | 400                              | 750                             | 16520                            | 14158                           | 0,533333333333                 | 1,16683147337                  |
| Kalibr_III | 600                              | 750                             | 24621                            | 15050                           | .....                          | 1,63594684385                  |
| Kalibr_IV  | 800                              | 750                             | 32910                            | 15265                           | 1,066666666667                 | 2,15591221749                  |
| Kalibr_V   | 1000                             | 750                             | 41001                            | 15024                           | 1,333333333333                 | .....                          |
| Kalibr_VI  | 1200                             | 750                             | 49270                            | 15001                           | 1,600000000000                 | 3,28444770349                  |
| Probe      | ?                                | 750                             | 19717                            | 14735                           | zu bestimmen                   | 1,33810654903                  |





- a) Ergänzen Sie die fehlenden Einträge in der Tabelle und beschriften Sie die Achsen beider Diagramme.
- b) Berechnen Sie die Masse  $m(2\text{-Chlorphenol})$  in der Probe mit beiden Diagrammvarianten A und B.
- c) Ermitteln Sie mithilfe der passenden Geradengleichung den Methodenfaktor (MF) und berechnen Sie damit die Masse 2-Chlorphenol in der Probe anhand der Doppelbruchformel.
- d) Welche Erklärung gibt es dafür, dass das Ergebnis (berechnet in Teilaufgabe c) etwas vom Ergebnis der Teilaufgabe b) abweicht? Welches Ergebnis ist genauer?

#### 7. Weitere Rechenaufgaben zum internen Standard

**Hinweis: Weitere Aufgaben zur Quantifizierung finden sich eingebettet als Teilaufgaben in den Aufgaben zur Prüfungsvorbereitung zu den chromatographischen Verfahren.**

**7.1** Bei einer chromatographische Untersuchung zur Bestimmung eines Analyten (X) wurde mit einem inneren Standard (S) gearbeitet. Dazu wurde eine Referenzlösung mit bekannten Konzentrationen an X (0,0837 mol/L) und S (0,0666 mol/L) angefertigt und die bei der Chromatographie erhaltenen Flächen vermessen (in willkürliche Einheiten). Um die Probe zu analysieren, wurden 10 mL einer Lösung mit  $c(S) = 0,146$  mol/L zu 10 mL Probelösung gegeben und anschließend auf ein Gesamtvolumen von 25 mL verdünnt. Nach einer chromatographischen Trennung wurden auch hier die Peakflächen vermessen. Insgesamt ergaben sich unten stehende Flächen (in nicht weiter spezifizierten Flächeneinheiten). Berechnen Sie die Konzentration  $c(X)$  in der unverdünnten Probe.

|    | Referenzlösung | Verdünnte Probelösung |
|----|----------------|-----------------------|
| S: | A = 347 AU     | S: A = 582 AU         |
| X: | A = 423 AU     | X: A = 553 AU         |

**7.2** Zur Bestimmung von Chinin (X) aus der Rinde des Chinarindenbaums wurden aus 40 Milligramm feingemahlener Rinde das Chinin extrahiert und auf 250 mL Lösung gebracht. Weiterhin wurden 4 Chinin-Kalibrierlösungen hergestellt. Die Bestimmung erfolgte nach jeweiliger Zugabe von 100  $\mu\text{L}$  eines internen Standards (Cincochinidin, = S) zu 5 mL der jeweiligen Lösung mittels UHPLC. Es resultierten folgende Ergebnisse:

| Name       | Interner Standard (S)        | $\beta$ (Chinin) $\mu\text{g/mL}$ | A(IS) | A(Chinin) |
|------------|------------------------------|-----------------------------------|-------|-----------|
| Kalibr_I   | Zusatz von 100 $\mu\text{L}$ | 10                                | 3254  | 4840      |
| Kalibr_II  | einer Cincochinidin-         | 20                                | 2774  | 8249      |
| Kalibr_III | Stammlösung zu je 5          | 30                                | 3754  | 16748     |
| Kalibr_IV  | mL der HPLC-fertigen         | 40                                | 4680  | 27840     |
| Probe      | Lösung                       | ?                                 | 3058  | 9841      |

- a) Bestimmen Sie  $\beta$ (Chinin) in der Probelösung graphisch oder computergestützt.  
 b) Berechnen Sie  $w$ (Chinin) der Chinarinde.

**7.3** In einer Urinprobe wird der Glucoseanteil chromatographisch analysiert. Dazu wird Fructose als interner Standard verwendet. Beim Kalibrierlauf ergaben sich unten stehende Daten (incl. Konzentration). Zu 100 mL Urinprobe wurden 55 mg Fructose gegeben. Das Chromatogramm ergab mit demselben Auftragungsvolumen wie beim Kalibrierlauf unten stehende Peakflächen. Berechnen Sie den Glucosegehalt in Urin.

| Kalibrierlauf                   |              | Urinprobe |              |
|---------------------------------|--------------|-----------|--------------|
| $\beta$ (Fructose) = 0,60 mg/mL | A = 24185 AU | Fructose  | A = 22170 AU |
| $\beta$ (Glucose) = 0,85 mg/mL  | A = 37028 AU | Glucose:  | A = 17395 AU |

Musterlösungen unter [www.laborberufe.de](http://www.laborberufe.de)