

DR. GÜNTER REINHOLD, PSS

Einbau und Lagerung von GPC/SEC-Säulen

Problemstellung Die Trennung in GPC/SEC-Säulen erfolgt aufgrund des zugänglichen und definierten Porenvolumens. Luftblasen auf der Säule oder Austrocknen der Säule schadet der Trennleistung. Deshalb ist es wichtig, dass GPC/SEC-Säulen immer in Lösungsmittel gelagert werden und der Einschluss von Luft beim Einbau vermieden wird.

Frage Was ist beim Einbau von neuen GPC/SEC-Säulen zu beachten und wie sollten sie gelagert werden?

Antwort Neue GPC/SEC-Säulen sollten zeitnah getestet werden. Der Test der neuen Säulen erfolgt am besten in reinem Lösungsmittel (ohne Salzzusatz). Dazu wird die Säule an die gut konditionierte Anlage angeschlossen, aber anfänglich nicht mit dem Detektor verbunden. An der Pumpe wird zunächst eine Flussrate von 0,1 ml/min eingestellt. Bei dieser Flussrate muss innerhalb von maximal fünf Minuten am Ende der Säule Lösungsmittel austreten. Ist dies der Fall wird die Flussrate innerhalb von zehn Minuten über 0,5 auf 1 ml/min erhöht. Ist dies nicht der Fall, dann muss wie unter „Inbetriebnahme einer nicht vollständig gefüllten Säule“ beschrieben, vorgegangen werden. Wichtig ist zu jedem Zeitpunkt eine Beobachtung des Säulendrucks. Größere Druckschwankungen sollten nicht auftreten. Nach 20 Minuten bei 1 ml/min (pro Säule) kann die Säule mit dem Detektor verbunden werden. Wenn möglich wird zur Bestimmung der Bodenzahl die auf dem Säulen-Zertifikat angegebene Substanz verwendet. Je nach Konfiguration der Anlage, kann die Bodenzahl von dem im Zertifikat angegebenen Wert abweichen. Die Asymmetrie des Peaks sollte zwischen 0,7 bis 1,5 liegen. Soll eine Säule längere Zeit nicht benutzt werden, muss diese zunächst mit reinem Lösungsmittel (kein Salzzusatz, nur bei wässrigen Applikationen 0,05% NaN₃-Zusatz) gespült werden. Die Säulen werden anschließend mit den Original-Verschlusskappen fest verschlossen. Säulen mit Wasser als Eluent können bei Raumtemperatur gelagert werden, Säulen mit THF als Eluent sollten im Kühlschrank gelagert werden.

Inbetriebnahme einer nicht vollständig gefüllten Säule:

Wurde eine Säule längere Zeit nicht benutzt ist zu prüfen, ob Lösungsmittel an den Säulenenden verloren gegangen ist. Dazu wird die Säule an der konditionierten Anlage angeschlos-



1 Elutionsprofile für BHT (Bodenzahltest) auf einer ausgetrockneten und nicht richtig wieder gefüllten Säule (rot) im Vergleich zu einer richtig konditionierten Säule (grün). Durch Kanäle in der Säule eluiert BHT deutlich früher und breiter.

sen (die Detektoren werden dabei nicht angeschlossen) und entgegen der Flussrichtung bei einer Flussrate von 0,1 ml/min betrieben. Jetzt sollte die Zeit gemessen werden bis Eluent am Säulenende austritt. Tritt Lösungsmittel aus, wird die Säule richtig eingebaut und mit der doppelten Zeit in Flussrichtung gespült (ebenfalls bei 0,1 ml/min). Tritt beispielsweise nach fünf Minuten entgegen der Flussrichtung Eluent aus der Säule, wird zehn Minuten in Flussrichtung gespült. Dann wird der Fluss jede Minute um 0,1 ml/min erhöht bis 1 ml/min erreicht ist. Der Detektor wird nach weiteren zwölf Minuten Spülzeit (pro Säule) angeschlossen und die Bodenzahl wird gemessen. Sollte nach 40 Minuten bei 0,1 ml/min Fluss noch kein Eluent am Säulenkopf ausgetreten sein, wird weitere 80 Minuten mit 0,1 ml/min gespült, danach wird die Säule in Flussrichtung angeschlossen und wie oben beschrieben der Fluss auf 1 ml/min erhöht.

Fazit

- Der korrekte Einbau von Säulen stellt sicher, dass die beste Trennleistung erhalten wird.
- Säulen sollten niemals in Salzlösungen gelagert werden. Beim Lagern sollten die Säulen fest verschlossen sein.
- Nach dem Einbau sollte die Bodenzahl und die Asymmetrie der Säulen bestimmt werden.

+49 (0) 61 31 / 9 62 39 - 31

InfoClick

216962

Die nächste Ausgabe beschäftigt sich mit dem Umstellen von Säulen auf ein anderes Lösungsmittel.