

Was ist bei einer Säulenkombination zu beachten?

DR. THORSTEN HOFE, PSS

Problemstellung

Säulenkombinationen sind dann geeignet, wenn Makromoleküle über einen großen Molekulargewichtstrennbereich mit großer Auflösung separiert werden sollen. Auch wenn in einem bestimmten Trennbereich eine möglichst gute Auflösung (z.B. für die Oligomerseparation) verlangt wird, kann eine entsprechende Säulenkombination zusammengestellt werden.

Frage

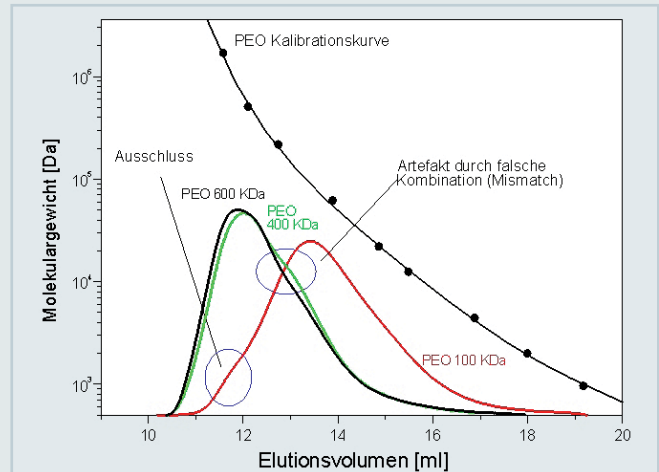
Was ist beim Zusammenstellen einer Säulenkombination zu beachten?

Antwort

Prinzipiell lassen sich durch Kombination von Säulen zwei Ziele erreichen:

- eine bessere Auflösung im vorhandenen Molmassenbereich erhält man durch Kombination von gleichporigen Säulen;
- ein größerer Molmassenbereich bei gleichbleibender Auflösung wird durch die Kombination von unterschiedlichen Einzelporositäts-Säulen zugänglich.

Theoretisch können beliebig viele Säulen in Reihe hintereinander geschaltet werden. Gleichzeitig verlängert sich aber die Analysendauer und der Gegendruck der gesamten Säulenkombination steigt. Bei der Kombination von GPC-Säulen sollten nur Säulen mit gleichem Säulenmaterial/stationärer Phase und mit gleicher Partikelgröße kombiniert werden. Zudem sollten immer nur Säulen von einem Hersteller kombiniert werden, da sich die Polaritäten der Oberflächen in einer Säulenkombination nicht unterscheiden dürfen. Prinzipiell können entweder Einzelporositäten oder Linear/Mixed-Bed-Säulen kombiniert werden. Bei Linear/Mixed-Bed-Säulen sollten allerdings nur Säulen mit gleicher Porosität kombiniert werden. Bei Säulenkombination aus Einzelporositäten sollten diese perfekt aufeinander abgestimmt sein. Bei nicht korrekt abgestimmten Kombinationen werden eventuell Bereiche mit guter und schlechter Auflösung kombiniert, an deren Schnittstelle es zu einer Fehlanpassung (Mismatch) kommen kann (s. Abb. 1). Ausgewählte Standards mit einer breiten Molekulargewichtsverteilung können zur Überprüfung des Säulenmismatch herangezogen werden. Nicht kombiniert werden sollten Linear/Mixed-Bed-Säulen mit Einzelporositäten, da hier die Wahrscheinlichkeit für einen Mismatch besonders hoch ist. Darüber hinaus muss bei der Kombination von Einzelporositäten darauf



1 Beispiel für eine schlechte Säulenkombination. Hier erscheint bei einem Elutionsvolumen von 13 ml eine Schulter, die nicht zur Probe gehört sondern durch Mismatch hervorgerufen wird. Solche Phänomene sind in der Regel nur in an- und absteigenden Flanken zu erkennen, und nicht im Bereich des Maximums.

geachtet werden, dass die Trennleistung der Säulenkombination im gesamten Molekulargewichtsbereich der Proben ausreichend ist, so dass kein hochmolekularer Ausschlusspeak (Schulter) entsteht und im niedermolekularen Bereich ebenfalls genug Auflösung vorhanden ist. Stehen hochmolekulare oder ultrahochmolekulare Polymere im Fokus, so empfiehlt sich eine Kombination mit großporigem Materialien, eventuell noch mit höherer Partikelgröße zur Verringerung von Scherkräften. Bei der Analyse oligomerer Proben sollten kleinporige Säulen mit möglichst kleinen Partikelgrößen kombiniert werden.

Fazit

- Säulenkombinationen aus unterschiedlichen Einzelporositäts-Säulen können den Molekulargewichtstrennbereich erweitern. Die Kombination gleichporiger Säulen verbessert die Auflösung.
- Bei der Kombination von Säulen muss auf eine mismatchfreie Kombination geachtet werden. Am besten verlässt man sich hier auf die Empfehlung der Säulenhersteller.

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

InfoClick

212001

Die nächste Ausgabe beschäftigt sich mit der Säulenlagerung und Inbetriebnahme von Säulen.