

Benutzerdokumentation PSS POLEFIN GPC/SEC Säulen



PSS Polymer Standards Service GmbH
 In der Dalheimer Wiese 5
 55120 Mainz, Deutschland
 Tel.: +49-6131-96239-0
 Fax: +49-6131-96239-11
 e-Mail: info@pss-polymer.com
 Internet: www.pss-polymer.com

© PSS GmbH

Alle Rechte vorbehalten. Kein Teil dieser Publikation darf ohne vorherige schriftliche Genehmigung der PSS GmbH reproduziert, in einem Datenabfragesystem gespeichert oder in irgendeiner Form, sei es elektronisch, mechanisch, durch Fotokopie, Aufzeichnung oder auf andere Weise übertragen werden.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|----|
| 1. Einleitung..... | 3 |
| 1.1 Spezifikationen | 3 |
| 1.2 Lösungsmittelkompatibilität..... | 3 |
| 1.3 Modifier..... | 5 |
| 2. Säuleneinbau..... | 5 |
| 2.1 Vorbereitung des GPC/SEC-Systems..... | 5 |
| 2.2 Flussrate..... | 5 |
| 2.3 Temperatur..... | 5 |
| 2.4 Kapillarverbindungen | 6 |
| 2.5 Verschraubungen | 6 |
| 2.6 Herstellung der Verbindung zwischen dem Injektor und der Säule..... | 6 |
| 2.7 Herstellung der Verbindung zwischen den Säulen einer Säulenkombination | 7 |
| 2.8 Herstellung der Verbindung zwischen der Säule und dem Detektor..... | 7 |
| 2.9 Test der Säulenperformance..... | 7 |
| 3. Verwendungshinweise | 9 |
| 3.1 Vorbereitung des Eluenten | 9 |
| 3.2 Umspülen auf andere kompatible Lösemittel | 9 |
| 3.2.1 Wechsel zwischen Lösungsmitteln mit ähnlichen Polaritätsindizes (z.B. Säule in Xylol, neuer P.I. 2.0 – 5.0)..... | 10 |
| 3.3 Probenvorbereitung | 10 |
| 4. Pflege und Wartung | 11 |
| 4.1 Lagerung | 11 |
| 4.2 Troubleshooting..... | 12 |
| 4.3 Säulenreparatur..... | 12 |
| 4.3.1 (Teilweise) Ausgetrocknete Säulen..... | 12 |
| 4.3.2 Teilweise verstopfte Säulen | 13 |
| 4.4 Wechseln der Fritten..... | 14 |
| 5. Bestellinformationen | 15 |
| 6. Support..... | 15 |

1. Einleitung

Vielen Dank, dass Sie sich für den Kauf einer PSS POLEFIN Säule entschieden haben. PSS Säulen sind Qualitätsprodukte hergestellt für die unmittelbare Verwendung. Lesen Sie bitte diese Gebrauchsanleitung sorgfältig durch, um die Lebensdauer Ihrer Säule zu verlängern und eine optimale Leistung zu erzielen. Achten Sie bitte besonders auf Warnhinweise Δ und Tipps und Tricks.

Jede PSS Säule hat eine eindeutige Seriennummer und wurde in dem Eluenten, in welchem sie geordert wurde bezüglich Ihrer Performance getestet. Die Testbedingungen und -ergebnisse finden Sie auf dem beigefügten Analysenzertifikat (CoA). Bitte bewahren Sie dieses sorgfältig auf.

Applikationsunterstützung sowie zusätzliche Informationen zu diesem und anderen PSS Produkten finden Sie im PSS Katalog „Referenzmaterialien und LC-Säulen“ sowie auf den folgenden Webseiten:

www.pss-polymer.com - www.psscolumselector.com - www.pss-shop.com

1.1 Spezifikationen

PSS POLEFIN Säulen sind mit hochporösen speziell für die HT-GPC entwickelten Poly(styrol-co-divinylbenzol)-Partikeln gefüllt. Sie werden standardmäßig in Xylol ausgeliefert und bezüglich der Bodenzahl mit butyliertem Hydroxytoluol (BHT) getestet.

| Säulentyp | Maximaler Gebrauchsdruck pro Säule bar / psi | Maximaler Gebrauchsdruck für Säulenkombinationen aus 3 Säulen bar / psi | Maximale Anwendungs- temperatur | Theoretische Böden/m BHT in Xylol |
|-----------------------------------|---|---|---------------------------------------|---|
| POLEFIN 10μ | 40 / 580 | 80 / 1160 | 210°C | >30.000 |
| POLEFIN 20μ | 40 / 580 | 80 / 1160 | 210°C | >15.000 |
| POLEFIN Prep | 40 / 580 | 80 / 1160 | 210°C | >10.000 |

1.2 Lösungsmittelkompatibilität

PSS POLEFIN ist gut verträglich mit einer großen Anzahl an Lösungsmitteln und zeigt eine optimale Performance in Eluenten deren Polaritätsindizes (P.I.) im Bereich P.I. = 2.0 - 5.0 liegen. Ein Wechsel verträglicher Eluenten ist problemlos möglich, wenn man den Anweisungen dieser Benutzerdokumentation folgt.

Für Eluenten außerhalb des genannten Polaritätsbereiches sind andere PSS Säulenmaterialien in der Regel besser geeignet, da sie eine bessere Balance zwischen den Polaritäten von Probe, mobiler und stationärer Phase gewährleisten. Diese Balance ist Voraussetzung für eine rein größenbasierte Trennung. Weitere Informationen finden Sie unter dem Stichwort „Magisches Dreieck“ auf der PSS Webseite.

| Eluent | P.I. | T °C | Eignung | Empfohlene Alternative |
|------------------------|------|------|--------------|---------------------------|
| Aceton | 5.1 | 25 | ● Ungeeignet | PSS GRAM, PSS PolarSil |
| Acetonitril | 5.8 | 25 | ● Ungeeignet | PSS GRAM, PSS PolarSil |
| Benzol | 2.7 | 25 | ● Möglich | PSS SDV |
| Tetrachlorkohlenstoff* | 1.6 | 25 | ● Ungeeignet | PSS SDV |
| Chloroform* | 4.1 | 25 | ● Möglich | PSS SDV |
| Chlornaphthalin* | | 210 | ● Gut | |
| Cyclohexan | 0.2 | 25 | ● Ungeeignet | PSS SDV |
| Dekalin | | 150 | ● Gut | |
| Dichlorethan* | 3.5 | 25 | ● Möglich | PSS SDV |
| Dichlormethan* | 3.1 | 25 | ● Möglich | PSS SDV |
| Dimethylacetamid | 6.5 | 70 | ● Ungeeignet | PSS GRAM, PSS PolarSil |
| Dimethylformamid | 6.4 | 70 | ● Ungeeignet | PSS GRAM, PSS PolarSil |
| Dimethylsulfoxid | 7.2 | 70 | ● Ungeeignet | PSS GRAM, PSS PolarSil |
| Dioxan | 4.8 | 25 | ● Möglich | PSS SDV |
| Ethanol | 5.2 | 25 | ● Ungeeignet | PSS GRAM, PSS PolarSil |
| Ethylacetat | 4.4 | 25 | ● Möglich | PSS SDV |
| Hexafluorisopropanol* | | 40 | ● Ungeeignet | PSS PFG |
| n-Methylpyrrolidon | 6.7 | 70 | ● Ungeeignet | PSS GRAM, PSS PolarSil |
| m-Kresol | | 100 | ● Gut | |
| Methanol | 5.1 | 25 | ● Ungeeignet | PSS SDV |
| Methyl Ethyl Keton | 4.5 | 25 | ● Möglich | PSS SDV |
| o-Chlorphenol* | | 100 | ● Gut | |
| o-Dichlorbenzol* | 2.7 | 150 | ● Gut | |
| Tetrahydrofuran | 4.2 | 25 | ● Möglich | PSS SDV |
| Toluol | 2.3 | 25 | ● Möglich | PSS SDV |
| Trichlorbenzol* | | 160 | ● Gut | |
| Trichlorethan* | | 25 | ● Möglich | PSS SDV |
| Trifluorethanol* | | 40 | ● Ungeeignet | PSS |
| Xylol | 2.5 | 25 | ● Gut | |
| Wasser | 10.2 | 25 | ● Ungeeignet | PSS SUPREMA, PSS PROTEEMA |

* Zur Verhinderung von Korrosionsproblemen bei chlorierten oder fluorierten Eluenten empfehlen wir die Verwendung von Silber/Titan-Fritten (P/N299-2003).

Mischlösemittel können mit PSS POLEFIN Säulen betrieben werden, wenn die empfohlenen P.I.-Bereiche nicht überschritten werden.

1.3 Modifier

Es ist möglich durch Zusatz eines Modifiers wie butyliertem Hydroxytoluol (BHT) die chromatographische Trennung zu verbessern, ein Tailing zu reduzieren oder das Lösemittel zu stabilisieren.

2. Säuleneinbau

Beim erstmaligen Einbau der Säule sollte diese im Eluenten betrieben werden, in dem sie geliefert wurde, um Bodenzahl und Rückdruck zu bestimmen. Dies ist jedoch nicht zwingend erforderlich.

2.1 Vorbereitung des GPC/SEC-Systems

Entfernen Sie eventuell vorhandene Säulen und lagern Sie diese gemäß Herstellerangaben. Falls erforderlich, spülen Sie das GPC/SEC-System vom aktuellen Lösemittel auf das benötigte Lösemittel um. Achten Sie beim Umstellen darauf, dass die Lösemittel miteinander mischbar sind und das neue Lösemittel mit den Gerätekomponenten kompatibel ist. Informationen zur Lösemittelkompatibilität der Geräte entnehmen Sie bitte der Gerätedokumentation. Verbinden Sie anschließend den Injektor direkt mit dem Detektor unter Verwendung geeigneter Kapillaren und Verbinder (siehe auch 2.5).

2.2 Flussrate

Die optimale Flussrate und das in der Säule befindliche Lösemittelvolumen (Säulenvolumen) sind abhängig von den Säulendimensionen.

| Säulen- dimension | Typische Flussraten ml/min (Min. – Max.) | Optimale Flussrate ml/min | Säulenvolumen ml |
|----------------------|---|------------------------------|---------------------|
| 50mm x 8.0mm | 0.3 - 2.0 | 1.0 | 2.5 |
| 300mm x 8.0mm | 0.3 - 2.0 | 1.0 | 15 |
| 50mm x 20mm | 1.0 – 12 | 6.25 | 15 |

Vermeiden Sie plötzliche Belastungen, wie z.B. drastische Veränderungen der Flussrate. Zur Inbetriebnahme wählen Sie zunächst einen Pumpenfluss von 0.0 ml/min und schalten Sie die Pumpe ein. Steigern Sie die Flussrate in kleinen Schritten, z.B. nach jeweils 15 sec. um $\frac{1}{4}$ der optimalen Flussrate, bis Sie die gewünschte Flussrate erreichen.



Auch wenn die Flussrate noch im erlaubten Bereich liegt, darf der Säulendruck den empfohlenen Maximaldruck nicht überschreiten.

2.3 Temperatur

Bei der Verwendung viskoser Eluenten bewirkt eine Erhöhung der Temperatur eine Verringerung der Eluentenviskosität und somit des Gegendruckes. Gleichzeitig verbessert eine Temperaturerhöhung i.A. die Auflösung. Die maximale Arbeitstemperatur von PSS POELFIN Säulen beträgt 210°C, die Anwendungstemperatur sollte mindestens 10°C unterhalb des Lösemittelsiedepunktes liegen.

Um die Säule auf höhere Arbeitstemperaturen zu bringen stellen Sie zunächst eine geringe Flussrate ein und heizen Sie die Säule mit einer Rate von weniger als 2°C/min bis die gewünschte Temperatur erreicht ist. Nach dem Erreichen der gewünschten Temperatur kann die gewünschte Flussrate eingestellt werden. Zum Abkühlen der Säule wählt man eine geringe Flussrate, schaltet den Säulenofen ab und lässt die Säule abkühlen.

2.4 Kapillarverbindungen

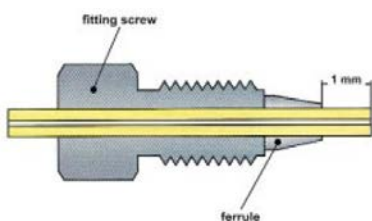
Zur Erzielung bestmöglicher Ergebnisse verwenden Sie bitte Kapillaren aus rostfreiem Stahl mit einem Außendurchmesser von 1/16" als Verbindungen zwischen Injektor, Säulen und Detektoren. Der Innendurchmesser der Kapillaren sollte für Mikrosäulen 0.007", für analytische Säulen 0.010" und für HighSpeed und präparative Säulen 0.020" betragen. Für eine optimale Trennleistung sollten kurze, maschinengeschnittene Kapillaren verwendet werden. Diese gewährleisten einen guten Sitz der Kapillare im Säulenfitting und minimieren Totvolumina und Bandenverbreiterungen.

- ⚠ Kunststoffkapillaren, z.B. aus PEEK, werden im Allgemeinen nicht empfohlen, da sie mit vielen der üblicherweise verwendeten Eluenten nicht kompatibel sind oder oberhalb der Temperatur- und Druckwerte betrieben werden müssen.

2.5 Verschraubungen

Verschiedene Säulenhersteller verwenden ähnliche, aber dennoch leicht unterschiedliche Verschraubungen. Wird das nicht beachtet kann die Trennleistung des Systems negativ beeinflusst und im schlimmsten Fall die Säule beschädigt werden. Die besten Ergebnisse erzielt man durch Verwendung von 1/16" Verschraubungen in Verbindung mit einteiligen Schneidringen.

- ⚠ **Hinweis und Warnung:** Die Länge der aus dem Schneidring hervorstehenden Kapillare variiert in Anhängigkeit des Herstellers. Für PSS Säulen beträgt der korrekte Abstand zwischen Schneidring und Kapillarende 1mm (siehe unten).



Überprüfen sie immer die Verbindungen zwischen Injektor und Säule sowie zwischen Säule und Detektor. Wenn Säulen anderer Hersteller durch PSS POLEFIN Säulen ersetzt werden sollten zur Erzielung optimaler Ergebnisse neue Kapillarverbindungen hergestellt werden. Wenn eine erneute Verwendung der anderen Säulen beabsichtigt ist können die alten Verbindungen zusammen mit den ausgetauschten Säulen gelagert werden.

Kunststoffverschraubungen, z.B. aus PEEK, werden im Allgemeinen nicht empfohlen, da sie mit vielen der üblicherweise verwendeten Eluenten nicht kompatibel sind oder oberhalb der Temperatur- und Druckwerte betrieben werden müssen.

2.6 Herstellung der Verbindung zwischen dem Injektor und der Säule

Bitte lassen Sie bei der Installation und dem Test einer neuen Säule Vorsicht walten. Entfernen Sie die Säulenverschlüsse und bewahren Sie diese für den Fall auf, dass Sie die Säulen später lagern wollen. Setzen Sie zum Festziehen der Verschraubungen die Gabelschlüssel an der Kapillarverschraubung und dem sechseckigen Säulenkopf an. Verwenden Sie unter keinen Umständen die am Säulenrohr angebrachten flachen Einfräsungen, um die Verschraubungen festzuziehen.

Verbinden Sie den Säuleneingang mit dem Injektor (bzw. der vorherigen Säule) unter Beachtung der auf der Säule angegebenen Flussrichtung. Verwenden Sie hierzu geeignete Verschraubungen und neue Schneidringe an beiden Enden der Kapillaren. Stellen Sie sicher, dass die Kapillare möglichst weit in den Injektor (bzw. den Säulenkopf) ragt, bevor Sie die Verschraubung anziehen. Beachten Sie, dass Sie die Schraube nicht zu fest anziehen. Die Schraube sollte so fest angezogen sein, dass der Schneidring sich in die Kapillare eingeschnitten hat und keine Leckage auftritt. Übermäßiges Anziehen der Verschraubung ist jedoch unbedingt zu vermeiden.

Um keine eingeschlossene Luft auf die Säule gelangen zu lassen, lösen Sie anschließend die Verschraubung am Säuleneingang ohne diese jedoch vollständig zu entfernen. Stellen Sie an der Pumpe eine niedrige Flussrate ein. Warten Sie bis einige Tropfen Lösemittel austreten bevor Sie die Verschraubung erneut anziehen.

2.7 Herstellung der Verbindung zwischen den Säulen einer Säulenkombination

Für die Verbindungen zwischen den Säulen einer Säulenkombination verwenden Sie bitte die Säulenverbinder, die PSS mit jeder Säule liefert. Diese sind passend vorkonfektioniert, so dass sie den benötigten Abstand von 1 mm zwischen Kapillarende und Schneidring aufweisen. Die Vorsäule wird mit dem Injektor verbunden, die nachfolgenden Säulen werden in der Reihenfolge ansteigender Porengrößen eingebaut. Die letzte Säule vor dem Detektor weist somit die größte Porengröße auf. Bei jeder Verbindung zu einer weiteren Säule sollten Sie den Anweisungen unter 2.6 folgen, damit keine Luftblasen auf die Säule gelangen können.

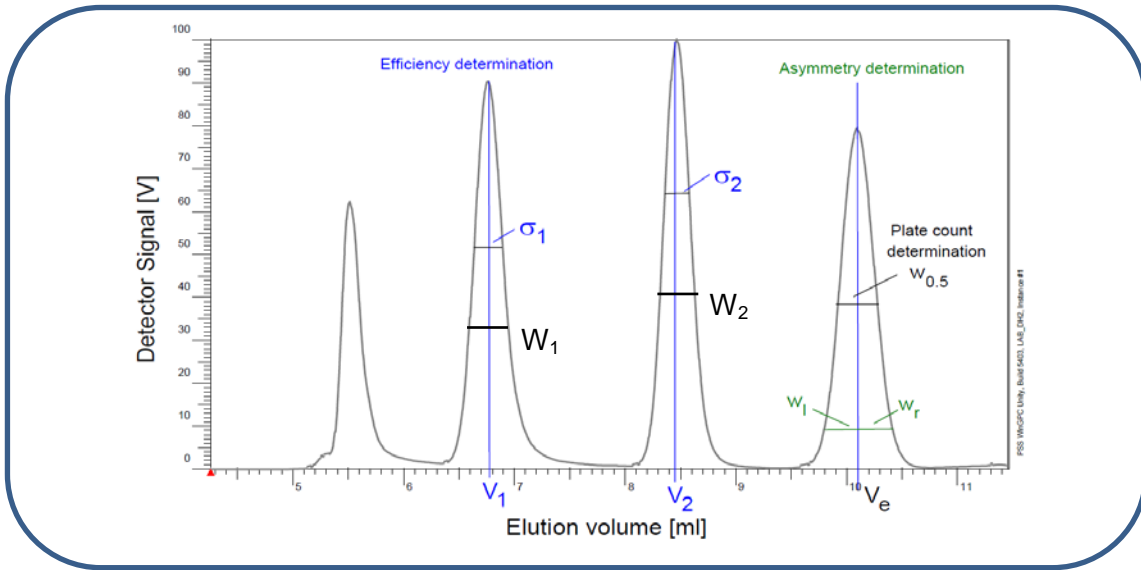
2.8 Herstellung der Verbindung zwischen der Säule und dem Detektor

Verbinden Sie zunächst das Ende der Säule/Säulenkombination mit einer langen 1/16" Kapillare, um den Eluenten in ein Abfallgefäß zu leiten. Pumpen Sie mit der empfohlenen Flussrate etwa 3-4 Säulenvolumina in den Abfall. Kontrollieren Sie dabei alle Verbindungen auf Dichtigkeit. Stoppen Sie den Pumpenfluss, entfernen Sie die Kapillare am Säulenausgang und verbinden Sie nun unter Verwendung geeigneter Verschraubungen und neuer Schneidringe den Säulenausgang mit dem Detektor. Lassen Sie nun die Pumpe mit der gewünschten Flussrate laufen und kontrollieren Sie erneut alle Verschraubungen auf Dichtigkeit. Sobald sich das Detektorsignal stabilisiert hat, sind die Säulen einsatzbereit.

2.9 Test der Säulenperformance

Der korrekte Säuleneinbau lässt sich durch Bestimmung von Bodenzahl und Auflösung und dem Vergleich mit den Werten des mitgelieferten Säulenzertifikats überprüfen. Bodenzahlmessungen spiegeln nicht nur die Leistungsfähigkeit der Säule wider, sondern auch die Bandenverbreiterungen des chromatographischen Systems. Informationen zur Flussrate sowie zu Konzentration und Injektionsvolumen finden Sie in den Abschnitten 2.2 und 3.3.

Zur Überprüfung der Bodenzahl wird eine geeignete niedermolekulare Substanz injiziert. Die dazu notwendigen Testbedingungen entnehmen Sie bitte dem Säulenzertifikat.



Bestimmung der theoretischen Böden N :

$$N = \left(\frac{V_p}{\sigma} \right)^2 = 5.54 \left(\frac{V_p}{w_{0.5}} \right)^2$$

Hierbei ist

- V_p = Elutionsvolumen der Testsubstanz in ml
- σ = Peakdispersion
- $w_{0.5}$ = Peakbreite bei halber Peakhöhe in ml = 2.35σ

$$\frac{\text{Böden}}{\text{Meter}} = \frac{N}{L}$$

L = Säulenlänge in Metern

Bestimmung der Peakasymmetrie A :

$$A = \frac{w_l}{w_r}$$

Anmerkung: Diese Definition der Asymmetrie entspricht der ISO Norm 13885-1. Andere Normen definieren die Asymmetrie invers.

Eine weitere Möglichkeit die Trennleistung eines chromatographischen Systems zu beurteilen bietet die Bestimmung der Auflösung. Um diese zu ermitteln, werden zwei engverteilte Polymerstandards unterschiedlicher Molmasse injiziert.

$$\text{Auflösung} = R_s = \frac{V_2 - V_1}{2(\sigma_1 + \sigma_2)} = \frac{V_2 - V_1}{0.86(w_1 + w_2)}$$

Hierbei sind M_i , V_i , σ_i und w_i das Molekulargewicht, das Elutionsvolumen, die Peakvarianz und die Halbwertsbreite für Peak i .

Da die Auflösung explizit vom Molekulargewichtsunterschied der beiden gewählten Standards abhängt, ist es für den Vergleich der Trennleistung von Säulen günstiger die spezifische Auflösung, R_{sp} , anzugeben.

Diese ist definiert als:

$$\text{Spezifische Auflösung} = R_{sp} = \frac{0.579}{\sigma \cdot D} = \frac{R_s}{\lg\left(\frac{M_1}{M_2}\right)}$$


wobei

$$D = -\frac{d \lg M}{dV} = \text{Steigung der Kalibrationskurve}$$

σ = Peakdispersion gemessen bei der Bodenzahlbestimmung

Tipp: Bei Inbetriebnahme der Säule(n) sollten Bodenzahl, Auflösung und Rückdruck im gewählten Eluenten bestimmt werden. Diese Parameter eignen sich zur Verfolgung der Leistungsfähigkeit des Systems helfen bei einer eventuellen späteren Problemdiagnose.

3. Verwendungshinweise

 Überschreiten Sie nie den maximal empfohlenen Säulendruck.


3.1 Vorbereitung des Eluenten

Verwenden Sie ausschließlich qualitativ hochwertige, partikelfreie HPLC Lösemittel. Wenn nötig, filtrieren Sie das Lösemittel durch einen 0.45µm Filter. Entgasen Sie den Eluenten sorgfältig, wenn möglich mittels eines Online-Entgasers.

Tipp: Bei Verwendung von PSS POLEFIN Säulen für Lichtstreuungsmessungen empfehlen wir die Beschaffung voräquilibrierter Säulen (Lux-Version: Vorsäule P/N 299-2200, analytische Säule P/N 299-2201). Zusätzliche Maßnahmen zur Optimierung des Signal/Rauschverhältnisses müssen eventuell noch ergriffen werden. Eluentfiltration durch 0.2 µm Filter und Verzicht auf Salze und andere Additive im Eluenten können die Performance verbessern.

3.2 Umspülen auf andere kompatible Lösemittel

Verwenden Sie PSS POLEFIN Säulen nur mit kompatiblen Eluenten. Wenn Sie die Säulen in einem anderen als dem bei Lieferung in der Säule befindlichen Lösemittel betreiben wollen, können die Säulen durch vorsichtigen Lösemittelwechsel ohne Verlust der Auflösung umgestellt werden. Möglicherweise dennoch auftretende Veränderungen der Bodenzahlen resultieren meist aus unterschiedlichen Eluentenviskositäten. Sehr häufiger Lösemitteltausch verringert die Lebensdauer der Säule. Es wird daher empfohlen sich in solchen Fällen separate Säulensätze für unterschiedliche Lösemittel anzuschaffen.

 PSS POLEFIN Säulen sind zum Betrieb in sehr polaren Lösemitteln nicht geeignet. Rückstände derartiger Lösemittel, entweder aus der Probe oder aus dem vorherigen Betrieb der chromatographischen Anlage in einem solchen Eluenten, können zu nicht reparablen Säulenschäden führen.

Bevor Sie einen Lösemittelwechsel durchführen stellen Sie sicher, dass das in der Säule befindliche und das gewünschte Lösemittel miteinander vollständig mischbar sind. Ist dies nicht der Fall, ist ein Zwischenschritt über ein mit beiden Lösemitteln mischbares Zwischen-Lösemittel notwendig.

3.2.1 Wechsel zwischen Lösungsmitteln mit ähnlichen Polaritätsindizes (z.B. Säule in Xylol, neuer P.I. 2.0 – 5.0)

3.2.1.1 Spülen Sie die GPC/SEC-Anlage mit dem neuem Lösemittel. Verbinden Sie die Säule/ Säulenkombination mit dem Injektor. Führen Sie vom Säulenausgang eine 1/16" Kapillare in ein Abfallgefäß.

3.2.1.2 Pumpen Sie ca. zwei Säulenvolumina des neuen Lösemittels mit ca. 1/10 der empfohlenen Flussrate durch die Säule/Säulenkombination. Erhöhen Sie danach langsam den Fluss auf etwa 1/2 der empfohlenen Flussrate und pumpen Sie dann weiter das etwa 8-fache Säulenvolumen durch die Säule. Für eine 300mm x 8.0mm Säule sollten Sie für ca. 30 Minuten einen Fluss von 0.1ml/min wählen und dann die Flussrate auf 0.5ml/min steigern.

3.2.1.3 Unterbrechen Sie nun den Lösemittelfluss und verbinden Sie die Säule/Säulenkombination mit dem Detektor.

3.2.1.4 Starten Sie die Pumpe mit einer Flussrate von 0.1 ml/min, gehen Sie auf die gewünschte Säulentemperatur (s. 2.3.) und erhöhen Sie dann die Flussrate schrittweise bis zum gewünschten Wert.

3.2.1.5 Stellen Sie sicher, dass alle Detektoren vollständig gespült und das System ausreichend äquilibriert ist, bevor Sie mit den Messungen beginnen.

3.3 Probenvorbereitung

Die Polymerstandards für die Säulenkalibration und die Proben sollten in dem gleichen Eluenten angesetzt werden, mit dem das GPC/SEC-System betrieben wird. Um "Lösemittel-" oder "Systempeaks" zu vermeiden entnimmt man das Lösemittel für die Probenvorbereitung am besten direkt dem Lösemittelvorrat des GPC/SEC-Systems.

Probenkonzentration und Injektionsvolumen


Die Menge, die ohne Beeinträchtigung der Trennleistung aufgegeben werden kann, hängt von der gesamten Säulenlänge ab und berechnet sich aus dem Produkt der Probenkonzentration und dem Injektionsvolumen. Um die durch das Injektionsband selbst hervorgerufene Bandenverbreiterung gering zu halten sollte man das Injektionsvolumen klein wählen. Nur dann, wenn es notwendig ist, z.B. um die Detektierbarkeit zu verbessern, sollte man die Aufgabemenge variieren. Die nachfolgende Tabelle enthält hierzu erste Richtwerte.

Durch die Injektion hervorgerufene Druckstöße sind zu vermeiden. Für sehr viskose Lösemittel oder Probenlösungen (z.B. bei sehr hochmolekularen Proben) sowie bei Säulenpackungen mit kleinen Partikeln sollten geeignete Schritte unternommen werden, um Druckstöße zu vermeiden. Zu diesen Maßnahmen gehören unter anderem die Verwendung niedrigerer Konzentrationen, größerer Injektionsvolumina, die Verringerung der Flussrate oder die Erhöhung der Säulentemperatur.

| Probe, Molekulargewicht | Konz. g/l | Flussrate ml/min | Inj. Vol. (µl) Säulensatz |
|---|-----------|------------------|------------------------------|
| Säulendimensionen mm (L x ID) | | | |
| 300 x 8.0 | | | |
| 50 x 20 | | | |
| Bodenzahl | 1 | Optimum | 20-200 |
| Engverteilte Stds < 1M Da | 1 | Optimum | 200 |
| Engverteilte Stds > 1M < 3M Da | < 0.5 | Optimum | 200 |
| Engverteilte Stds > 3M Da | < 0.5 | ½ Optimum | 200 |
| Breitverteilte Stds, Proben < 1M Da | 1-3 | Optimum | 200 |
| Breitverteilte Stds, Proben > 1M Da | < 1 | ½ Optimum | 200 |

Stellen Sie immer sicher, dass die Proben vollständig gelöst sind, bevor Sie die Lösungen in das GPC/SEC-System injizieren. Hochmolekulare Proben benötigen für das vollständige Lösen mehrere Stunden und werden daher am besten über Nacht im Eluent gelöst.


Um Verstopfungen zu verhindern sollten die Proben nach dem vollständigen Lösen filtriert werden (0.5µm; für Proben mit Molmassen oberhalb 1M Da, 2.0µm). Bitte beachten Sie, dass neben unerwünschten unlöslichen Bestandteilen potentiell auch Probenkomponenten durch die Filtration entfernt werden können.

 Um Beschädigungen der ersten Trennsäule durch adsorbierbare Probenverunreinigungen zu verhindern, empfehlen wir dringend die Verwendung einer Vorsäule.


4. Pflege und Wartung

4.1 Lagerung

Werden die Säulen innerhalb einer Woche erneut verwendet, ist es nicht notwendig diese einzulagern, vorausgesetzt, der zuletzt verwendete Eluent zersetzt sich nicht und es können auch keine Salze ausfallen. Wenn möglich sollte das GPC/SEC-System bei einer langsamen Flussrate oder im Rezykliermodus betrieben werden.

 Betreiben Sie die Säulen nie ohne Fluss bei erhöhter Temperatur. Wenn Sie die Säulen im Rezykliermodus betreiben, sollten Sie vor dem erneuten Einsatz den im System befindlichen Eluenten gegen frischen Eluenten austauschen.

Alle mit dem Säulenmaterial kompatiblen Lösemittel sind zur Lagerung der Säulen geeignet, empfohlen wird die Lagerung im für die standardmäßige Auslieferung verwendeten Lösemittel Xylol, da dieses bei Raumtemperatur nicht einfriert.

 Ersetzen Sie vor der Einlagerung salz- oder säurehaltige Lösemittel durch reines Lösemittel.

Verschließen Sie die Säulen mit den Verschlusschrauben, um ein Austrocknen zu verhindern und lagern Sie diese an einem kühlen Platz. Niemals jedoch darf das Lösemittel in der Säule gefrieren.

4.2 Troubleshooting

| Problem | Mögliche Ursache | Maßnahmen | Empfehlung |
|--|---|---|---|
| Druckanstieg | Verstopfung Lösemittel-filter | Ersetzen des Filters | Kontrollieren Sie Pumpendichtung und Lösemittelqualität |
| | Verstopfte oder übermäßig angezogene Kapillarverbindung | Ersetzen der Kapillarverbindung | Überprüfen Sie die Probenlöslichkeit, Filtrieren Sie die Proben |
| | Verstopfte Säuleneinlassfritte | Ersetzen der Säuleneinlassfritte | Überprüfen Sie Lösemittelqualität und Löslichkeit der Probe, Filtrieren Sie Lösemittel und Proben |
| | Adsorption der Probe auf der Säule | Ersatz der Vorsäule, Säulenreinigung | Verändern Sie die Analysenbedingungen |
| Druckabfall | Luft oder Undichtigkeit im System | Entgasen des Lösemittels, Dichtigkeitsüberprüfung | Überprüfen Sie den Degasser, ersetzen Sie die undichte Verbindungen |
| Abnehmende Bodenzahl oder Auflösung | Schlechte Verbindungen | Überprüfen und ersetzen Sie wenn nötig die Verbindungen | |
| | Injektorprobleme | Injektorüberprüfung | |
| | Verstopfte Säuleneingangsfritten | Frittenwechsel | |
| | Vorsäule verstopft oder gesättigt Säule beschädigt | Ersatz der Vorsäule Ersatz der Säule | |
| Veränderte Peakform | Säule beschädigt | Überprüfung der Bodenzahl | Ersetzen oder reparieren Sie die defekte Säule |
| | Probenadsorption | Ersatz der Vorsäule, Säulenreinigung | Identifizieren Sie Bedingungen bei denen keine Adsorption stattfindet |
| Kein Peak | Injektorproblem | Injektorüberprüfung | |
| | Detektorproblem | Detektorüberprüfung | |
| | Probenadsorption | Ersatz der Vorsäule, Säulenreinigung | Verändern Sie die Analysenbedingungen |

Bei der Problemanalyse ist es hilfreich unter Weglassung einzelner Systemkomponenten (z.B. Säulen oder Verbindern) eine Serie zielgerichteter Experimente durchzuführen. Hierdurch lässt sich die problemverursachende Komponente leichter identifizieren.

4.3 Säulenreparatur

Zur Erzielung bester Ergebnisse sollte eine Säulenreparatur immer an einzelnen Säulen und unter Verwendung reiner Lösemittel ohne Salze oder Säuren durchgeführt werden. Spülen Sie das Lösemittel dabei immer in den Abfall.

Eine verringerte Leistungsfähigkeit der Säule kann durch eine Verstopfung der Fritten, Probenadsorption oder durch Beschädigung des Säulenbettes verursacht werden, was unter Umständen zu einem zunehmenden Arbeitsdruck führt

4.3.1 (Teilweise) Ausgetrocknete Säulen

Während der Säulenlagerung können geringe Mengen des Lösemittels verdampfen. Dies ist besonders bei langen Lagerzeiten, erhöhten Temperaturen und flüchtigen Lösemitteln der Fall. Es wird daher empfohlen mit flüchtigen Lösemitteln gefüllte Säulen im Kühlschrank aufzubewahren, um ein Austrocknen zu vermeiden. Anzeichen für teilweise verdampftes Lösemittel sind langsamer

Druckaufbau oder ein ständiges Nachregeln der Flussrate durch die Pumpe. In diesen Fällen sollten Sie den Fluss auf 0.1ml/min verringern (um eine Beschädigung des Säulenbettes zu verhindern) und die Säule langsam befüllen, bis am Säulenausgang keine Blasen mehr zu erkennen sind und sich ein konstanter Druck einstellt. Sie können dann die nächste Säule einbauen und erneut wie eben beschrieben verfahren, bis schließlich alle Säulen installiert sind.

Tipp: Wenn Sie einen kompletten Säulensatz einbauen wollen, aus welchem teilweise das Lösemittel verdampft ist, können Sie die jeweils nächste Säule schon hinzunehmen, sobald Lösemittel aus der vorherigen Säule austritt. Anschließend können Sie den kompletten Säulensatz auch in Ihrer Abwesenheit (z.B. über Nacht) konditionieren.

4.3.2 Teilweise verstopfte Säulen

Säulen können partiell verstopfen, wenn sich Partikel in den Fritten oder im Säulenbett festsetzen oder Probenkomponenten an den Fritten oder dem Säulenmaterial adsorbiert werden. Aufgrund der chemisch sehr unterschiedlichen Proben und der damit verbundenen Säulenhistorie gibt es kein einheitliches Vorgehen, welches in allen Fällen zum Erfolg führt. Leider ist die Wiederherstellung einer Säule nicht immer möglich. Es gibt jedoch einige Schritte, die man einzeln oder zusammen anwenden kann, um die Performance der Säule zumindest teilweise wiederherzustellen. Diese Schritte sollte man jedoch an jeder Säule einzeln durchführen, um zu verhindern, dass potentielle Verunreinigungen auf die nächste Säule gelangen.


Spülen Sie die Säule langsam (mit etwa $\frac{1}{4}$ der optimalen Flussrate, mindestens 4 Säulenvolumina) rückwärts. Lassen Sie dabei das Lösemittel in den Abfall laufen. Bauen Sie anschließend die Säule in der korrekten Flussrichtung ein. Steigern Sie die Flussrate langsam um festzustellen, ob der Arbeitsdruck durch die Säulenbehandlung abgenommen hat und die Säule wieder unter Normalbedingungen betrieben werden kann. Wenn sich der Druck wieder in einem akzeptablem Bereich stabilisiert, führen Sie bitte einen Bodenzahltest und wenn gewünscht auch einen Auflösungstest durch. Sollte der Druck immer noch zu hoch sein, können Sie die nachfolgenden Schritte probieren oder einen Frittentausch (4.4) ausführen.

4.3.2.1 Zusammen mit den Maßnahmen in 4.3.2 erhöhen Sie die Säulentemperatur unter Beachtung der Hinweise in 2.3. Spülen Sie die Säule für zehn Säulenvolumina.

4.3.2.2 Wechseln Sie den Eluenten und/oder verwenden Sie Modifier zusammen mit den Maßnahmen in 4.3.2. und gegebenenfalls 4.3.2.1, um zu versuchen alle adsorbierten Komponenten zu lösen bzw. desorbieren und von der Säule zu spülen. Spülen Sie für mindestens zehn Säulenvolumina und leiten Sie das Lösemittel dem Abfall zu.

4.4 Wechseln der Fritten

Die hier beschriebene Prozedur ist geeignet um sowohl die Eingangs- als auch die Ausgangsfritte zu wechseln. Die Eingangsfritte ist besonders anfällig für Verstopfungen.

 Öffnen Sie die Säule nicht, ohne dass Säulenreparaturgel und Fritten zur Hand sind (s. 5).



4.4.1 Entfernen Sie die Säule aus dem System. Verschließen Sie das Ende, dessen Fritte nicht getauscht werden soll, mit einer Blindverschraubung.

4.4.2 Verwenden Sie zwei Schraubenschlüssel. Setzen Sie den ersten Schraubenschlüssel an der flachen Einfräsung des Säulenkörpers an. Den zweiten Schraubenschlüssel setzen Sie am Endfitting (1) an. Lösen Sie langsam das Endfitting und entfernen Sie dieses inklusive dem Fittingadapter (2). Streifen Sie anschließend die Fritte (3) vom offenen Ende des Säulenkörpers. Ein wenig Säulenmaterial bleibt dabei in der Regel an der Fritte hängen, wodurch sich eine Vertiefung am Säulenkopf ergibt. Diese muss später repariert werden.

4.4.3 Kontrollieren Sie visuell das Gelmaterial. Ist dieses sichtbar verunreinigt entfernen Sie vorsichtig bis zu max. 5mm mit einem Spatel. Nehmen Sie danach ausreichend Reparaturgel und rühren Sie mit Aceton eine Paste an. Füllen Sie mittels eines Spatels die Vertiefung mit der Paste. Verwenden Sie einen leichten Überschuss, bis sich ein kleiner Hügel gebildet hat.

4.4.4 Untersuchen Sie den Fittingadapter (2) auf Beschädigungen und ersetzen Sie diesen gegebenenfalls.

4.4.5 Spülen Sie das Endfitting und den Fittingadapter um sicherzustellen, dass diese vollständig sauber und frei von Partikeln sind. Setzen Sie den Fittingadapter in das Endfitting ein, wobei die flache Seite des Fittingadapters zur Säule zeigen muss. Setzen Sie anschließend die Fritte in das Endfitting ein (keine Vorzugsrichtung).

4.4.6 Halten Sie den Säulenkörper in einem Winkel von 45°. Schrauben Sie die Kombination aus Endfitting, Fittingadapter und Fritte auf die Säule und ziehen Sie mit den Fingern fest. Ziehen Sie anschließend unter Verwendung der Schraubenschlüssel um weitere 60° an.

4.4.7 Verbinden Sie die Säule an dem Ende, an welchem die Fritte nicht getauscht wurde, mit dem GPC/SEC-System und spülen Sie drei Säulenvolumina direkt in den Abfall, um sicherzustellen, dass keine Gelpartikel aufgrund von Verunreinigungen bei der Reparatur, einer schlecht sitzenden Fritte oder einer schlecht sitzenden Dichtung mehr austreten.

4.4.8 Bauen Sie die Säule nun in der korrekten Flussrichtung ein, überprüfen Sie den Rückdruck und führen Sie einen Bodenzahltest durch.

5. Bestellinformationen

| Bestellnummer | Beschreibung |
|---------------|---|
| 299-2034 | POLEFIN Säulenreparaturgel |
| 299-2003 | Ag/Ti-Ersatzfritten für Säulen mit 8mm Innendurchmesser 8.0mm (2 Stk./Pkg.) |
| 299-2009 | Schneidringe (10 Stk/Pkg.) |
| 299-2010 | 1/16" Schrauben (10 Stk/Pkg.) |
| 299-2001 | Fittingadapter für Säulen mit 8.0mm ID (2Stk/Pkg) |
| 299-2015 | Säulenverbinder 100mm Länge, 0.010" Innendurchmesser für Säulen mit 8mm Innendurchmesser (5 Stk/Pkg.) |
| 299-2022 | Säulenverbinder 80mm Länge, 0.02" Innendurchmesser für Säulen mit 20mm Innendurchmesser (5 Stk/Pkg.) |
| 299-2024 | Verbindung von Säule zu Detektor oder Injektor, 300mm Länge, 0.01" Innendurchmesser für Säulen mit 8mm Innendurchmesser (2 Stk/Pkg.) |
| 299-2025 | Verbindung von Säule zu Detektor oder Injektor, 300mm Länge, 0.02" Innendurchmesser für Säulen mit 20mm Innendurchmesser (2 Stk/Pkg.) |

Alle Teile erhältlich unter www.pss-shop.com

6. Support

Für Unterstützung bei Applikationen oder Produkten sowie für Rückmeldungen kontaktieren Sie uns direkt unter Angabe der Säule, Seriennummer und Anwendungsdetails unter nachfolgenden Adressen:

Säulensupport E Mail: columnsupport@pss-polymer.com

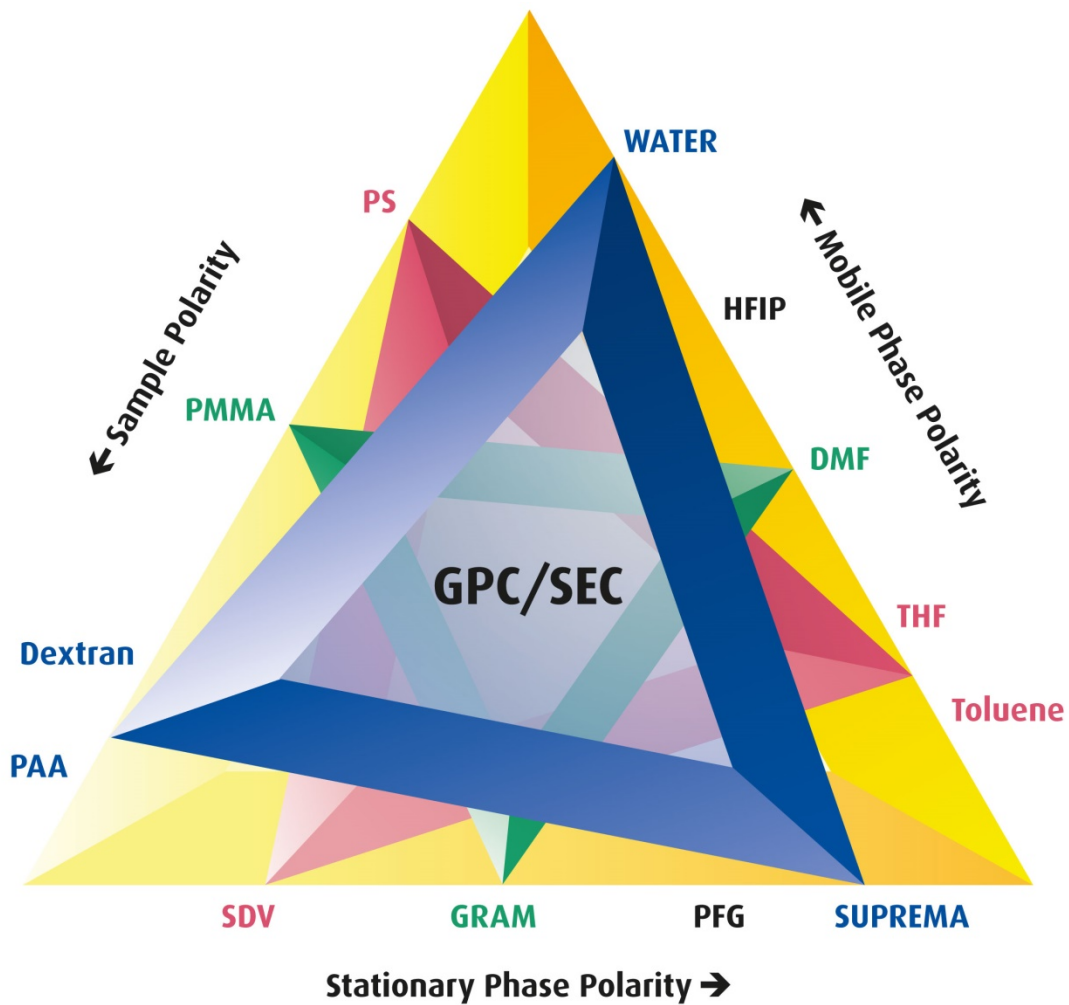
PSS Polymer Standards Service GmbH
In der Dalheimer Wiese 5
55120 Mainz, Deutschland

Polymer Standards Service- USA, Inc.
Amherst Fields Research Park
160 Old Farm Rd, Suite A
Amherst, MA 01002, USA

☎ +49-6131-96239-0
Fax: 49-6131-96239-11
✉ info@pss-polymer.com
www.pss-polymer.com

☎ +1-413-835-0264
Fax: +1-413-835-0354
✉ pssusa@pss-polymer.com

Perfect Separation Solutions



www.pss-polymer.com

www.psscolumselector.com

www.pss-shop.com