



# Anleitung zum Gebrauch und zur Pflege von HPLC-Säulen

## 1. HPLC

### 1.1 Einführung

Die HPLC-Säulen der VDS optilab Chromatographietechnik GmbH sind auf Basis moderner Technologie mit hochstabilen und klassierten Träger-materialien gefüllt. Die absolut stabilen Säulenfüllungen garantieren, bei korrekter Anwendung, eine lange Standzeit der Trennsäulen.

Die in dieser Anleitung enthaltenen Informationen und Empfehlungen sind erstellt worden um Ihnen zu zeigen wie die HPLC-Säule schonend behandelt werden kann; sie sind aber nicht als absolut zu betrachten. Bitte folgen Sie den Hinweisen um eine maximale Säulenleistung und -lebensdauer zu erhalten.

Wenn Sie Fragen haben kontaktieren Sie bitte VDS optilab direkt oder Ihren lokalen VDS optilab Händler. Gerne nehmen wir Ihre Hinweise, Kommentare oder Kritiken zu diesem Leitfaden auf.

Erste Arbeiten nach Erhalt der Säule:

- Überprüfen Sie ob die gelieferte Säule auch der bestellten Säule entspricht
- Überprüfen Sie ob die Säule beschädigt ist, z.B. vom Transport
- Gegebenenfalls überprüfen Sie die Trennleistung

Alle VDS optilab HPLC-Säulen werden im Testlösungsmittel (Eluent) konditioniert geliefert, Abweichungen werden gesondert auf dem Testreport vermerkt.

Um eine hohe Qualität zu gewährleisten ist jede VDS optilab HPLC-Säule individuell produziert und getestet worden. Die Säule wird mit einem Testchromatogramm ausgeliefert, welches die Testbedingungen, die Füllmaterial Charge, die Seriennummer und das Herstellungsdatum enthält.

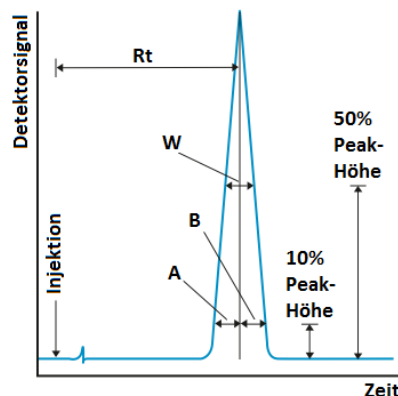
**Bitte beachten: Mit dem Erhalt der HPLC-Säule beginnt die Zeit der Gewährleistung.**

Wenn Sie die Säule testen verwenden Sie bitte die gleichen Testbedingungen wie im Testchromatogramm angegeben. Bitte beachten Sie, dass die chromatographische Leistung von dem gesamten HPLC-System abhängt. Die Qualitätskontrolle der HPLC-Säulen erfolgt bei optimalen HPLC-Konditionen um Bandenverbreitung und "extra Säuleneffekte" zu minimieren.

Verwendete Formeln zur Berechnung der theoretischen Bodenzahlen (Säulenleistung) und Peak Asymmetrie:

Säulenleistung:  $N(0,5) = 5,54 (Rt/W_{0,5})^2$

Peak Asymmetrie:  $As = B/A$



### 1.2 Kapillaren und Verschraubungen

Kapillaren und Verschraubungen tragen hauptsächlich zum Totvolumen in der HPLC-Anlage bei:

- Peakverbreitung (Bandenverbreitung)
- schlechte Peakform

#### Kapillaren

Der Einsatz unterschiedlicher Kapillaren wird bestimmt durch: Applikation, Flussgeschwindigkeit, Rückdruck

Chemische Beständigkeit:

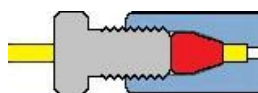
- |                    |  |
|--------------------|--|
| Edelstahl (SS316): | Hohe Säure- und Halogen-Konzentrationen vermeiden                          |
| PEEK:              | Hohe Säurekonzentrationen, Chlorierte Lösungsmittel und 100% THF vermeiden |
| Titan:             | Elektrochemische Potentiale bei Verbindung mit anderen Metallen beachten   |

Bitte beachten Sie generell die chemische Beständigkeit der eingesetzten Materialien, die mit dem Eluenten in Berührung kommen!

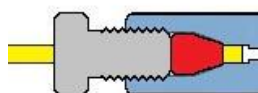
#### Verschraubungen

Alle VDS optilab HPLC-Säulen sind mit einem Säulenkopf-Innengewinde vom Typ 10-32 versehen. Sie können mit allen 1/16" AD Kapillaren verbunden werden, unter der Verwendung von z.B. Edelstahl- bzw. Polymer-Verschraubung und -Schneidring, bzw. Polymer Fingertight-Fittings, etc. .

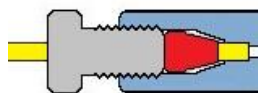
Bitte achten Sie auf eine korrekte Schneidring-Position. Falls Sie vorher Säulen eines anderen Typs verwendet haben und sich der Schneidring in die Kapillare in einer definierten Position eingeschnitten hat, kürzen Sie bitte die Kapillare etwas und erneuern Sie den Schneidring.



korrekte Verschraubung



Kapillare sitzt zu hoch / Totvolumen



Schneidring sitzt zu hoch / Undichtigkeit

Eine große Auswahl an passenden Kapillaren und Verschraubungen finden Sie in unseren Zubehör-Katalogen.

### 1.3 Säuleninstallation

Stellen Sie sicher, dass das Lösungsmittel in der Säule mit dem von Ihnen verwendeten Eluenten mischbar ist. Spülen Sie die Anlage mit dem filtrierten und entgasten Eluenten. Verbinden Sie den Säuleneingang mit dem Injektor. Der Säulenausgang wird in ein Abfallgefäß geleitet. Beachten Sie dabei bitte die auf der Säule angegebene Flussrichtung. Spülen Sie jetzt die Säule mit einem Fluss von 0,05 bis 0,4 ml/min (je nach ID der Säule) ca. 3-5 min. Danach verbinden Sie den Säulenausgang mit dem Detektor und betreiben die Säule mit der normalen Flussrate und spülen Sie ca. 10 Säulenvolumen durch die Säule. Die Basislinie sollte ruhig sein und nicht mehr driften. Nun ist die Säule einsatzbereit.



Aufbau der VDS optilab HPLC-Säule (Edelstahl)

## 2. Analytische HPLC-Säulen auf Kieselgelbasis

### 2.1 HPLC-Phasen

Normalphasen			
SiOH	Silica	OH	Diol-modifiziertes Silica
CN	Cyano-modifiziertes Silica	NH <sub>2</sub>	Amino-modifiziertes Silica

Umkehrphasen			
C30	C30-modifiziertes Silica	C18	C18-modifiziertes Silica
C8	C8-modifiziertes Silica	C6	C6-modifiziertes Silica
C4	C4-modifiziertes Silica	C2	C2-modifiziertes Silica
C1	C1-modifiziertes Silica	Phenyl	Phenyl-modifiziertes Silica
Phenyl-Hexyl	Phenyl-Hexyl-modifiziertes Silica	CN-RP	Cyano-modifiziertes Silica
NH <sub>2</sub> -RP	Amino-modifiziertes Silica		

Ionenaustauscherphasen			
NH <sub>2</sub>	Amino-modifiziertes Silica	PEI	PolyEthylenImin-modifiziertes Silica

HILIC Phasen			
HILIC	Silica	HILIC-OH	Diol-modifiziertes Silica
HILIC-AM	Amino-modifiziertes Silica		

### 2.2 Gebrauch und Behandlung von HPLC-Säulen

Die von der VDS optilab Chromatographietechnik GmbH produzierten HPLC-Säulen:

- sind unempfindlich gegen Druck- und Flussschwankungen sowie gegen Stöße.
- können in jede Richtung betrieben werden, so dass ein Säulenrückspülen bei Säulenschaltungen und Säulenregeneration möglich ist.
- sind bei normaler Beanspruchung mit organisch-wässrigen Eluenten über einen langen Zeitraum stabil und behalten damit ihre Trennleistung.

Voraussetzung dafür ist jedoch stets die sachgemäße Anwendung. Darunter verstehen wir, dass:

- die HPLC-Säulen nur für den vorgesehenen Anwendungszweck verwendet werden.
- keine Schmutzpartikel und/oder irreversibel absorbierbare Kontaminationen auf die HPLC-Säule gelangen.
- stets Eluenten mit hoher Qualität und Reinheit angewendet werden.

Die Lebensdauer aller Trennsäulen auf Kieselgelbasis wird beeinträchtigt und verkürzt sich durch:

- die Anwendung wässriger Pufferlösungen.
- das über- oder unterschreiten des zulässigen pH-Wertes der mobilen Phase. Informationen zu diesen pH-Werten finden Sie in den Produktinformationen der jeweiligen Trennphasen.
- den Betrieb von Normalphasen mit wässrigen Eluenten.
- die Anwendung bei Temperaturen > 60°C (Phase wird zerstört). Gilt für alle modifizierten Phasen.
- die Beschaffenheit der injizierten Proben.

Schmutzteilchen sind der größte Feind aller HPLC-Säulen. Diese entstammen meist der HPLC-Anlage, dem Eluenten und der Probe (Relikte der Probenmatrix). Selbst eine kurzzeitige Benutzung der HPLC-Säule ohne Eluentenfilter und ohne Guardsäule zwischen HPLC-Pumpe und Injektionsventil, sowie ohne Vorsäule, kann die HPLC-Säule erheblich schädigen. Auch matrixbedingter kolloidaler Schmutz aus der Probenextraktion führt sehr schnell zu einer Verschmutzung der Vorsäule bzw. des Säuleneingangfilters und damit einer Erhöhung des Säulendrucks. Der Aufwand, der zum Schutz der HPLC-Säule betrieben wird, zahlt sich in der Lebensdauer der HPLC-Säule aus.

Daraus ergeben sich nachfolgende Grundsätze für einen sicheren Analysenablauf:

- Verwenden Sie, wenn möglich, Eluentenfilter und Guardsäulen zwischen HPLC-Pumpe und dem Injektionsventil.
- Filtrieren Sie Proben stets über einen Mikrofilter.
- Setzen Sie immer zum Schutz der HPLC-Säule eine Vorsäule ein. Ein häufiger Vorsäulenwechsel hilft Probleme zu vermeiden.
- Beachten Sie stets den Säulendruck und seine Veränderung. Undichtigkeiten bewirken einen Druckabfall, Verschmutzungen auf dem Säuleneingangfilter eine Druckerhöhung.
- Eine mangelnde Inertheit des Phasenmaterials (nicht endcappbare acide Zentren, Metall-Kontaminationen) bei RP-Phasen kann Ursache sein für eine Säulenkontamination und damit schlechte Peakformen. Wenden Sie möglichst RP-Phasen mit einer hohen Reinheit des Silicagels an.
- Bei der Lokalisierung von Störungen erreichen Sie am ehesten Ihr Ziel, wenn Sie zunächst die Eluentenfilter und die Guardsäule auf Durchlässigkeit überprüfen und dann die Suche auf die Vorsäule und die Trennsäule ausdehnen.
- Konditionieren Sie die HPLC-Säule für das zu lösende Trennproblem. Durch eine gute Konditionierung kann die Trennleistung deutlich erhöht werden.
- Bei NH<sub>2</sub>-Phasen sollte ein Umspülen vom RP- auf NP-Modus vermieden werden. Falls es doch notwendig ist, sollte mit THF zwischengespült werden.

Maximaler Arbeitsdruck

Standard HPLC-Säulen	bis 400 bar
UHPLC-Säulen	bis 900 bar

Abweichend davon gilt für:

Füllmaterial mit 300A Porenweite	bis 300 bar
Füllmaterial mit 1000A Porenweite	bis 200 bar

Säulenparameter				
Säulengröße	ID	Flussrate	Volunen*	Füllmenge*
	(mm)	(ml/min)	(ml)	(g)
Präparativ	62	182	754,7	454
Präparativ	50	118	490,9	295
Präparativ	40	75,6	314,2	189
Präparativ	32	48,4	201,1	121
Präparativ	25	29,5	122,7	73,8
Semipräparativ	20	18,9	78,5	47,3
Semipräparativ	16	12,1	50,3	30,2
Semipräparativ	10	4,7	19,6	11,8
Semipräparativ	8	3,0	12,6	7,6
Analytisch	4,6	1,0	4,15	2,5
Analytisch	4	0,76	3,14	1,89
Analytisch	3	0,43	1,77	1,06
Mikro	2	0,19	0,785	0,473
Mikro	1	0,047	0,196	0,118
Nano	0,5	0,012	0,049	0,0295

\* bezogen auf 250mm Länge und 2,5g Füllmaterial für die Säule 250x4,6mm

### 2.3 Lagerung der HPLC-Säulen

Grundsätzlich wird bei allen HPLC-Säulen die Lagerung im ursprünglichen Eluenten (Lieferung der Säule) empfohlen. Die Lagertemperatur sollte 15-30°C betragen. Keine Eluenten die Pufferlösungen enthalten zur Lagerung verwenden. Auch Methanol ist für eine Langzeitlagerung (> 3 Tage), wegen möglicher Verunreinigungen mit Metallionen (z.B. Eisen(III)), nicht geeignet. Die Säulen sollten mit den Verschlussstopfen fest verschlossen werden um ein Austrocknen zu verhindern.

Zusätzlich gelten folgende Regeln:

NP-Phasen	Lagerung auch in n-Hexan oder Toluol möglich. Keine polaren Lösungsmittel (z.B. Eluenten mit H <sub>2</sub> O), keine Lösungsmittel mit niedrigem Siedepunkt (z.B. THF oder Dichlormethan) verwenden.	
HILIC-Phasen	Neben dem ursprünglichen Eluenten kann auch Acetonitril:Wasser (80:20) verwendet werden.	
NH <sub>2</sub> -Phasen	Ein Umspülen vom RP-Modus auf NP-Modus wird zur Lagerung nicht empfohlen.	
PEI-Phase	<b>Kurze Zeit (über Nacht)</b>	<b>Lange Zeit (mehrere Tage)</b>
	a) Methanol	a) Acetonitril
	b) 2M Na-acetat-Lsg. (pH 6)	b) 0,1% Na-azid in 1M KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -Lsg.
	c) 2M (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Lsg. (pH 6)	c) 0,1% Na-azid in 2M Na-acetat-Lsg. (pH 6)
	d) 2M KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -Lsg. (pH 6)	

## 2.4 Regeneration einer HPLC-Säule

Sollte eine analytische HPLC-Säule bei der Lagerung ausgetrocknet sein so spülen Sie die Säule mit ca. 10 Säulenvolumen des Lagereluenten bei einer Flussrate von 0,1-0,2 ml/min.

Wenn man eine Säule regenerieren möchte ist es wichtig die Ursache der Probleme vorher zu lokalisieren. Häufig hilft es schon einen frischen Eluenten zu verwenden, der über einen 0,2 bzw. 0,45µm-Membranfilter filtriert wird.

### Normalphasen (NP-Phasen)

- Spülen mit ca. 5 Säulenvolumen n-Hexan/Iso-Propanol (80/20)
- Spülen mit ca. 10 Säulenvolumen Tetrahydrofuran um un- und mittelpolare organische Verbindungen zu entfernen
- ggf. in umgekehrter Flussrichtung mit Tetrahydrofuran bei 25% der ursprünglichen Flussrate spülen
- Anschließend die HPLC-Säule in ursprünglicher Flussrichtung mit n-Heptan konditionieren

### Umkehrphasen (RP-Phasen)

- Spülen mit ca. 10 Säulenvolumen Acetonitril/Wasser (10/90) um Puffer zu entfernen
- Spülen mit Methanol um polare organische Verunreinigungen zu entfernen
- Spülen mit Acetonitril um mittelpolare organische Verunreinigungen zu entfernen
- Spülen mit Tetrahydrofuran um unpolare organische Verunreinigungen zu entfernen
- ggf. in umgekehrter Flussrichtung mit Tetrahydrofuran bei 25% der ursprünglichen Flussrate spülen

Bei hartnäckiger Verunreinigung

- Spülen mit Wasser (2-3 Tropfen Phosphorsäure/l) zum Entfernen sauer dispergierbarer Substanzen bis ein Druckminimum erreicht ist
  - Um alkalisch dispergierbare Substanzen zu entfernen ca. 50µl Triethylamin injizieren und mit H<sub>2</sub>O spülen bis ein Druckminimum erreicht ist
  - Anschließend die HPLC-Säule in ursprünglicher Flussrichtung mit dem verwendeten Eluenten konditionieren
- (Mischbarkeit der Lösungsmittel beachten!)**

### Ionenaustauscherphasen

NH<sub>2</sub>-Phase

- je nach Anwendung im NP- oder RP-Mode wie oben angegeben regenerieren

### PEI-Phase

- Spülen mit ca. 10 Säulenvolumen 2M Natriumacetat-Lösung (pH 7-8)
- Spülen mit ca. 5 Säulenvolumen dest. Wasser
- Spülen mit ca. 10 Säulenvolumen 10%iger Essigsäure
- Spülen mit ca. 5 Säulenvolumen dest. Wasser
- Spülen mit ca. 5 Säulenvolumen DMSO/dest. Wasser (50/50)
- Konditionieren auf den Arbeitspuffer **(Mischbarkeit der Lösungsmittel beachten!)**

### HILIC-Phasen

- Spülen mit ca. 10 Säulenvolumen der polarsten im Arbeitseluenten verwendeten Komponente
- Spülen mit ca. 20 Säulenvolumen Methanol/dest. Wasser (50/50)

#### **alternativ**

- Spülen mit ca. 10 Säulenvolumen Dichlormethan/Methanol (95/5)

## 3. Präparative HPLC-Säulen

Besonderheiten bei präparativen Säulen

- Die Säule sollte vor der Nutzung mit mind. einem Säulenvolumen der mobilen Phase konditioniert werden.
  - Das Betreiben der Säulen gegen die angegebene Flussrichtung sollte vermieden werden, mit der Ausnahme Ablagerungen auf der Eingangsfritte zu entfernen.
  - Bedingt durch das große Volumen der mobilen Phase bei der Nutzung der präparativen Säulen sollte auf die Toxizität und Entflammbarkeit geachtet werden.
  - Maximaler Arbeitsdruck
- |                 |         |
|-----------------|---------|
| 16 bis 20mm ID: | 350 bar |
| > 25mm ID:      | 200 bar |

Ein höherer Arbeitsdruck kann die Packung zerstören oder zu Undichtigkeiten führen.

## 4. Polymer-Säulen

### 4.1 Polymerphasen

	<b>pH- Bereich</b>	<b>max. Temp.</b>	<b>max. Druck</b>	<b>Flussrate</b>
<b>Kationenaustauscher</b>				
CarbEx II H-Form 9µm	1-3	90°C	100 bar	1,0ml/min
CarbEx II Ca-Form 9µm	5-9	90°C	100 bar	1,0ml/min
CarbEx II Pb-Form 9µm	5-9	90°C	100 bar	1,0ml/min
Optigel CH-Org. Säuren 8µm		90°C	100 bar	1,0ml/min
Optigel CH-Wein 8µm		90°C	100 bar	1,0ml/min
<b>Anionenaustauscher</b>				
Optigel ZAO-Wein 7µm	2-8	70°C	100 bar	1,0ml/min

### 4.2 Gebrauch und Behandlung von Polymer-Säulen

Die neue Säule sollte mit mind. einem Säulenvolumen der mobilen Phase bei einem Fluss von 0,2-0,3 ml/min konditioniert werden. Den Druck stets langsam ansteigen oder abfallen lassen (über ca. 2 min). Vor allem sollte ein plötzlicher Druckanstieg vermieden werden, der die Packung komprimieren und als Resultat ein Peak tailing und einen Verlust der Trennleistung hervorrufen könnte.

Wenn die Säule temperiert werden soll, die Temperatur langsam steigern.

Wenn organische Modifier im Eluenten verwendet werden, dann sollte die Säule mit maximal 5% Modifier im Eluenten bei 0,1ml/min gespült werden bis die Basislinie stabil ist, dann kann die gewünschte Modifier-Konzentration eingesetzt werden. Dadurch wird ein schnelles Quellen der Phase verhindert und auch ein daraus resultierender zu hoher Druck, bzw. ein zerstören der Polymerteilchen.

Verwendete Eluenten:

	<u>Eluenten</u>	<u>Organ. Modifier</u>
CarbEx II H-Form 9µm	5mM H2SO4-Lsg. H3PO4-Lsg.	max. 10% Acetonitril; Ethanol; Isopropanol
CarbEx II Ca-Form 9µm	doppelt dest. H2O	wie oben
CarbEx II Pb-Form 9µm	doppelt dest. H2O	wie oben
Optigel CH-Org. Säuren 8µm	doppelt dest. H2O	wie oben
Optigel CH-Wein 8µm	5mM H2SO4-Lsg.	wie oben
Optigel ZAO-Wein 7µm	5mM H2SO4-Lsg.	wie oben

#### **Vermeiden Sie:**

CarbEx II H-Form 9µm	Methanol, Salze, Basen, Metallionen, Amine und andere organische Lösungsmittel pH >3 in H2O
CarbEx II Ca-Form 9µm	Methanol, Säuren, Basen, andere Salze
CarbEx II Pb-Form 9µm	Methanol, Säuren, Basen, andere Salze
Optigel CH-Org. Säuren 8µm	Methanol, Säuren, Basen, andere Salze
Optigel CH-Wein 8µm	Methanol, Salze, Basen, Metallionen, Amine und andere organische Lösungsmittel pH >3 in H2O
Optigel ZAO-Wein 7µm	Methanol, Säuren, Basen, andere Salze

Um Löslichkeitsprobleme zu vermeiden die Proben in der mobilen Phase lösen und über ein 0,45µm-Membranfilter filtrieren.

### 4.3 Lagerung der Polymersäulen-Säulen

Lagerung im ursprünglichen Eluenten.

### 4.4 Reinigung der Phasen

CarbEx II H-Form 9µm	1) Spülen mit 5% Acetonitril in 5mM H2SO4-Lsg. 2) Spülen mit 30% Acetonitril in 5mM H2SO4-Lsg.
CarbEx II Ca-Form 9µm	Spülen mit Acetonitril/doppelt dest. Wasser (30/70)
CarbEx II Pb-Form 9µm	Spülen mit Acetonitril/doppelt dest. Wasser (30/70)
Optigel CH-Org. Säuren 8µm	Spülen mit Acetonitril/doppelt dest. Wasser (30/70)
Optigel CH-Wein 8µm	1) Spülen mit 5% Acetonitril in 5mM H2SO4-Lsg. 2) Spülen mit 30% Acetonitril in 5mM H2SO4-Lsg.
Optigel ZAO-Wein 7µm	Spülen mit Acetonitril/doppelt dest. Wasser (30/70)

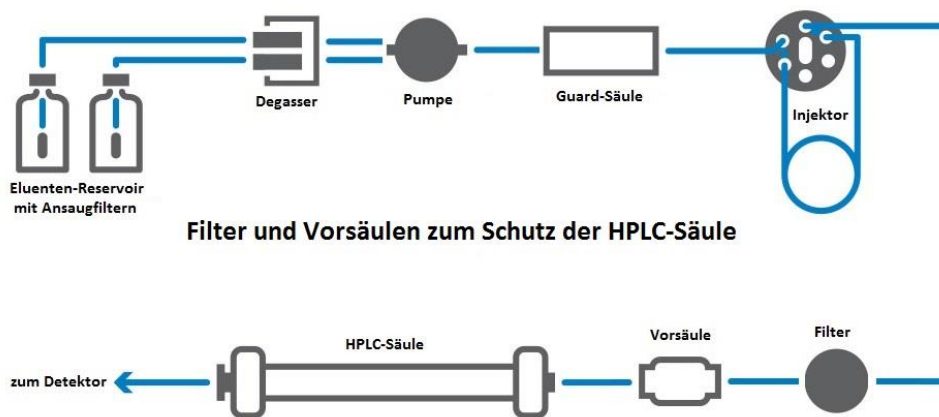
#### 4.5 Regeneration der Phasen

CarbEx II H-Form 9µm	Spülen mit 25mM H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Lsg.
CarbEx II Ca-Form 9µm	Spülen mit 0,1M Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -Lsg.
CarbEx II Pb-Form 9µm	Spülen mit 30% Acetonitril in 0,1M Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -Lsg. (pH 4,0)
Optigel CH-Org.Säuren 8µm	Spülen mit 0,1M Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -Lsg.
Optigel CH-Wein 8µm	Spülen mit 25mM H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Lsg.

Optigel ZAO-Wein 7µm	1) Spülen 60min mit dest. Wasser bei 0,3ml/min 2) Spülen 120min mit 0,1M NaOH bei 0,3ml/min (Änderung des Gegenion in OH-) 3) Spülen 60min mit dest. Wasser bei 0,3ml/min 4) Spülen 60min mit 0,1M HCl bei 0,3ml/min (Änderung des Gegenion in Cl-)
----------------------	--

#### 5. Schutzmaßnahmen für Säulen

a) Spritzenfilter	für die Probenfiltration
Membranfilter	für die Vorfiltration des Eluenten
Lösungsmittelsaugfilter	für die Eluentenfiltration
Inlinefilter	für die Filtration zwischen Injektor und Säule
b) Vorsäulen und Vorsäulenkartuschen	zum Schutz der Hauptsäule
c) Säulentest Standards	zur Überprüfung der Säulenleistung
d) Eluenten-Entgaser	zur Eluentenengasung



#### Produktempfehlungen:

##### Spritzenfilter:

VDS optilab bietet eine große Auswahl an 17 u. 30 mm HPLC-Spritzenfilter zur Probenfiltration an. Bitte fordern Sie dazu unseren Probenflaschen-Katalog an.

##### Degasser:

Den optimalen Degasser für Ihr HPLC-System bieten wir Ihnen gerne auf Anfrage an.

##### Lösungsmittelsaugfilter:

z.B. PP-Lösungsmittelsaugfilter für 1/8" Schläuche, Pack á 50 Stück, Art.-Nr.: 3210.1200

##### Guard-Filter zwischen Pumpe und Injektor:

z.B. Guard-Filter-Kit: Filterhalter und 5 Filterkartuschen 10x4,0 mm, Art.-Nr.: 1546.4100K1-FK

##### In-Line-Lösungsmittelfilter zwischen Injektor und HPLC-Säule:

Eine sehr große Auswahl an In-Line-Lösungsmittelfiltern und Lösungsmittelsaugfiltern finden Sie in den VDS optilab Zubehör-Katalogen.

##### Vorsäulenkartuschenkopf zum Aufschrauben auf die Säule:

- für 5 mm lange Kartuschen mit 2,0, 3,0, 3,9, 4,0 und 4,6 mm ID, Art.-Nr.: 15020508K05
- für 10 und 20 mm lange Kartuschen mit 2,0, 3,0, 3,9, 4,0 und 4,6 mm ID, Art.-Nr.: 15020508

##### Vorsäulenkartuschenhalter (freistehend):

- für 10 mm lange Kartuschen mit 2,0, 3,0, 3,9, 4,0 und 4,6 mm ID, Art.-Nr.: 1546.4100K1
- für 20 mm lange Kartuschen mit 2,0, 3,0, 3,9, 4,0 und 4,6 mm ID, Art.-Nr.: 1546.4100K2

Die entsprechenden Vorsäulen finden Sie in unserer HPLC-Säulen Preisliste.

## 6. Leitfaden Fehlersuche

a) Basislinie (unruhig oder Drift) → Gleichgewicht mit dem Eluenten noch nicht hergestellt → Eluent verunreinigt → Temperaturprobleme	Einlaufzeit der Säule verlängern frischen Eluenten benutzen Säule temperieren
b) breite Peaks → Mischung und/oder Diffusion vor/nach der Säule → Großes Probenvolumen	Totvolumen durch Kapillaren minimieren Injektionsmenge reduzieren
c) Doppelpeaks → großes Totvolumen; Packung gesackt  → Kieselgel wird aufgelöst durch zu hohen pH-Wert des Eluenten → fehlerhafte Verschraubungen/Verbindungen	teilweise blockierte Säuleneingangssiebe oder -fritte / Siebe bzw. Fritte reinigen oder austauschen ggf. neue Säule verwenden pH-Stabilität der Phase beachten / neue Säule verwenden  Verschraubung erneuern
d) Peaktailing → Säule überladen	Injektionsmenge reduzieren
e) ungenügende Trennung → Elutionskraft des Eluenten zu hoch → Phase nicht geeignet → durch Säulentemperatur oder Flussrate → Belegung der Phasen-Oberfläche mit z.B. Fetten, Ölen, Lipiden aus der Probe → Protonierung der NH <sub>2</sub> -Gruppen durch saure Puffer	Eluentenzusammensetzung ändern andere Phase/Modifikation verwenden Parameter verändern Verunreinigungen durch Probenvorbereitung entfernen / Säule nach Anleitung (s.o.) reinigen Spülen mit schwach basischen Lösungen im Eluenten
f) hoher Rückdruck → Partikel auf Edelstahlsiebe oder Fritte  → Belegung der Trennphasenoberfläche → ausgefallene Puffersalze → verstopfte Kapillaren	Eluenten austauschen / Säule rückspülen / Siebe oder Fritte austauschen / Inline-Filter verwenden Säule spülen (siehe 2d), eventuell DMF injizieren Löslichkeit der Puffersalze beachten / Säule spülen (siehe 2d) Kapillaren austauschen
g) Drift der Retentionszeiten → bei reinen Silica-Phasen  → bei modifizierten Phasen	Wassergehalt des Eluenten stabilisieren durch Zusatz z.B. von definierten Hydrat-Salzen oder Dioxan Eluenten verwenden die nicht die gebundenen Gruppen entfernen oder neue Säule verwenden

---

### Notizen: