

# Allgemeine Anweisungen zum Gebrauch und zur Pflege der HPLC-Säulen von MZ-Analysentechnik GmbH

Bitte lesen und beachten Sie vor Einbau und Gebrauch der Säule folgende Hinweise, um eine maximale Lebensdauer und Leistung ihrer neuen Säule zu gewährleisten.

## 1. Allgemeine Informationen

Alle von MZ-Analysentechnik GmbH hergestellten Säulen werden individuell nach höchsten Qualitätsstandards hergestellt. Jede Säule wird einzeln auf ihre Qualitätsmerkmale getestet. Das Ergebnis der Testung finden Sie im beigelegten "HPLC-Column Quality Certificate", welches noch weitere Daten über die gelieferte Säule enthält. Bitte bewahren Sie dies zur Dokumentation und für spätere Vergleichszwecke auf.

## 2. Probenvorbereitung

Um eine optimale Peakform zu gewährleisten, sollte die Probe möglichst in der verwendeten mobilen Phase (bzw. mit der Anfangszusammensetzung von Eluent A bei Gradientenelution) oder einem schwächerem Lösungsmittel (d.h. mit weniger Elutionskraft) gelöst werden. Proben sollten vor der Injektion mit einem 0,2–0,45 µm Spritzenvorsatzfilter filtriert werden.

## 3. Schutz der Säule

Um eine maximale Lebensdauer der Säulen zu gewährleisten, ist es empfehlenswert Vorsäulen zu verwenden. Diese Säulen schützen die Hauptsäule vor Verunreinigungen und schwer zu eluierenden Substanzen. Die Vorsäulen sollten, in Abhängigkeit des Verschmutzungsgrades der Proben, in regelmäßigen Abständen ausgetauscht werden.

## 4. Lösungsmittel/Mobile Phase

Bitte benutzen Sie ausschließlich gefilterte und entgaste Lösungsmittel der Reinheitsstufe "HPLC-grade". Die verwendeten Additive (z. B. Ionenpaarergänzen oder Puffer) sollten ebenfalls von höchster Reinheit sein (mind. p.A. Qualität). Bei Benutzung von wässrigen Pufferlösungen ist es empfehlenswert diese stets frisch vor Gebrauch herzustellen. Benutzen Sie keine mobilen Phasen oder Komponenten, welche in der Lage sind die stationäre Phase chemisch anzugreifen bzw. zu zerstören. Pumpen Sie niemals nicht-mischbare Lösungsmittel direkt nacheinander durch die Säule. Ferner ist es empfehlenswert einen online Entgaser zu verwenden. Für Amino-, Cyano-, Diol-, Ion-exchange- und die MZ-Aqua Perfect™ Säule ist der Gebrauch von 100 % wässrigen mobilen Phasen möglich. Bei allen anderen stationären Phasen von MZ-Analysentechnik GmbH sollte der Wassergehalt der mobilen Phase 95 % nicht überschreiten. Für Umkehrphasentrennungen sind typische Eluenten Gemische aus Acetonitril, Methanol oder Tetrahydrofuran mit Wasser oder wässrigen Pufferlösungen. Für Trennungen im Normalphasenmodus sind typische Eluenten Gemische aus Hexan oder Heptan mit aliphatischen Alkoholen (z. B. 2-Propanol oder Ethanol).

## 5. Equilibrierung der Säule

Vor dem Start der Probenmessung sollte die Säule mit dem Eluenten bei gleicher Flussrate und Temperatur der anzuwendenden Methode gespült werden. Die Equilibrierung ist abgeschlossen, wenn die Basislinie keinen Drift mehr aufweist (i.d.R. nach mind. 10 Säulenvolumina).

## 6. pH-Bereich

Alle Säulen von MZ-Analysentechnik GmbH sind im pH-Bereich von pH = 2,0 bis 8,0 stabil. Für Säulen der Serie PerfectSil® Target HD erweitert sich der nutzbare pH-Bereich auf pH = 2,0 bis 11,0. pH-Werte, die diesen Bereich über- bzw. unterschreiten können zu irreversiblen Schäden der Säulen führen.

## 7. Druck

Der maximal zulässige Druck beträgt 400 bar (40 Mpa, 6.000 psi). Um die Lebensdauer der Säulen zu maximieren sollte der Betrieb bei einem Druck oberhalb 300 bar vermieden werden. Für stationäre Phasen mit 300 Å Porenweite beträgt der maximal zulässige Druck 300 bar; für Materialien mit 1.000 Å Porenweite 200 bar. Schnelle und plötzliche Druckschwankungen (Druckstöße) sollten vermieden werden.

## 8. Temperatur

Die maximal zulässige Temperatur beträgt 60 °C. Es ist zu beachten, dass bei erhöhten Temperaturen, in Abhängigkeit vom pH-Wert und Puffersalzen, die Säulenlebensdauer beeinträchtigt werden kann. Veränderungen der Temperatur haben Auswirkungen auf Retentionszeit und Peakform. Die optimale Temperatur für eine erfolgreiche Trennung muss empirisch ermittelt werden.

## 9. Flussrate

Die Flussrate wird durch den zulässigen Gesamtdruck limitiert, der den oben spezifizierten Wert (siehe 7. Druck) nicht überschreiten sollte. Flussraten für analytische Säulen liegen üblicherweise im Bereich von etwa 0,2–2,0 ml/min. In nebenstehender Tabelle sind einige typische Flussraten aufgeführt.

Innendurchmesser	Typische Flussrate
2,1 mm	0,2 ml/min
3,0 mm	0,4–0,5 ml/min
4,0 mm	0,7–0,8 ml/min
4,6 mm	1,0 ml/min

## 10. Lagerung

Alle HPLC Säulen sollten in geeigneten Lösungsmitteln gelagert und die Enden mit geeigneten Kappen verschlossen werden, um ein Austrocknen der Säulen zu verhindern. Lagern Sie die Säulen in kühler Umgebung und frei von Vibrationen. Nutzen Sie für die Lagerung entweder spezielle "Column Storage Cabinets" oder die originale Säulenbox. Spülen Sie die Säule direkt nach der Verwendung mit pH neutralen Lösungsmitteln und lagern Sie die Säule in dem dafür vorgesehenen Lösungsmittel (auch wenn die Säule nur für kürzere Zeit außer Benutzung ist). Für die Aufbewahrung wird der ursprüngliche Eluent empfohlen, der im Testchromatogramm (siehe HPLC-Column Quality Certificate) zu finden ist. Im Allgemeinen sollte das Lösungsmittel zur Aufbewahrung nicht mehr als 50 % Wasser enthalten, um das Wachstum von Bakterien, Algen und Pilzen zu vermeiden. Für Aminopropyl- und Diol-modifizierte stationäre Phasen empfehlen wir 2-Propanol, welches mit der Normalphasen- und der Umkehrphasenchromatographie kompatibel ist.

## 11. Tipps zur Regeneration und Reinigungsprozedur

Verunreinigungen auf der Säule (etwa verursacht durch Probe oder mobile Phase) können zu ungewollten Veränderungen im Chromatogramm führen (Peak splitting, hoher Rückdruck, Veränderungen der Peakform oder der Retentionszeiten). In einigen Fällen können diese Verunreinigungen durch die folgende Reinigungsprozedur wieder abgespült werden. Bitte spülen Sie die Säule hierzu nacheinander mit folgenden Lösungsmitteln:

Regenerationsschema für Umkehrphasen-Säulen (C30-, C18-, C8-, C4-, C1-, Cyano-, Amino-, Diol- und Phenyl-modifizierte Phasen)	Regenerationsschema für Normalphasen-Säulen (Silica-, Diol-, Nitro-, Cyano- und Amino-modifizierte Phasen)
20 Säulenvolumen Wasser/Acetonitril (95:5 v/v) 20 Säulenvolumen Acetonitril 5 Säulenvolumen 2-Propanol 20 Säulenvolumen <i>n</i> -Heptan oder <i>n</i> -Hexan 5 Säulenvolumen 2-Propanol 20 Säulenvolumen Acetonitril Re-equilibrieren der Säule mit der benötigten mobilen Phase	20 Säulenvolumen <i>n</i> -Heptan 5 Säulenvolumen 2-Propanol 20 Säulenvolumen Acetonitril 20 Säulenvolumen Wasser 20 Säulenvolumen Acetonitril 5 Säulenvolumen 2-Propanol 20 Säulenvolumen <i>n</i> -Heptan Re-equilibrieren der Säule mit der benötigten mobilen Phase

Falls es zur Austrocknung einer HPLC-Säulen kommen sollte, können Sie versuchen diese zu regenerieren, indem die Säule mit etwa 10 Säulenvolumen mit dem für die Lagerung empfohlenen Lösungsmittel bei einer Flussrate von 0,1–0,2 ml/min gespült wird. Ein Rückspülen der Säulen ist generell erlaubt, sollte jedoch vorsichtig und bei niedrigen Flussraten durchgeführt werden.