



# NUCLEOGEL® GPC Säulen

**Bitte beachten:** Allen HPLC-Säulen von MACHEREY-NAGEL liegt ein Zertifikat bei, dem spezifische Daten und Testergebnisse der Säule entnommen werden können. Mit jeder NUCLEOGEL® GPC Säule haben Sie ein Qualitätsprodukt auf Basis eines mechanisch stabilen Polymers erworben. Diese Säulen sind speziell für den Einsatz in der chromatographischen Hochleistungsanalytik entwickelt worden. Bei sorgfältiger und sachgerechter Verwendung können beste Trennergebnisse und eine lange Lebensdauer erzielt werden. Diese Produkte können zur Ausschlusschromatographie (Gelpermeationschromatographie, GPC) zahlreicher wasserunlöslicher Substanzen eingesetzt werden. Alle GPC-Trennsäulen sind gemäß den allgemeingültigen Prinzipien und Arbeitstechniken der Hochleistungs-Flüssigchromatographie, speziell der Gelpermeationschromatographie zu verwenden. Der korrekte Ablauf der Methodik und insbesondere die Prüfung der Leistungsfähigkeit des kompletten Trennsystems, also Trennsäule und Chromatographie-Anlage sowie die Anpassung der Trennbedingungen an die Erfordernisse der jeweiligen Problemstellung liegt in der Verantwortung des Kunden und ist durch den jeweiligen Anwender sicherzustellen. MACHEREY-NAGEL übernimmt keine Garantie oder Gewährleistung für die erfolgreiche Durchführung von Applikationen oder Trennungen. Falls Sie nach dem Lesen dieser Anleitung noch Fragen haben sollten, wenden Sie sich bitte an unseren Service/technische Produktberatung.

**Inhaltsübersicht**

- Sicherheitshinweise
- Beschreibung der Säulen
- Installation
- Vorsäulen
- Probe
- Eluent
- Flussrate und Druck
- Temperatur
- Detektion
- Equilibrierung
- Säulenaufbewahrung
- Behebung möglicher Fehler
- Säulenregenerierung
- Zusammenfassung

**Sicherheitshinweise**

Beachten Sie die allgemeinen Gefahrenhinweise für die jeweiligen Mobilphasensysteme (z. B. Tetrahydrofuran, Toluol) und treffen Sie beim Arbeiten entsprechende Schutzmaßnahmen, z. B. Augenschutz gegen austretende Flüssigkeiten bei plötzlichem Bruch von Kapillarverbindungen. Bitte führen Sie verbrauchte GPC-Säulen gemäß den landesspezifischen Umweltrichtlinien einer fachgerechten Entsorgung zu. Gewährleisten Sie, dass die Trennsäulen nur von dem dafür zuständigen Fachpersonal eingesetzt werden. Lassen Sie GPC-Säulen nicht in die Hände von Kindern gelangen. Jegliche Garantie oder Gewährleistung von MACHEREY-NAGEL erlischt, falls durch unsachgemäße Verwendung oder Behandlung (insbesondere das Öffnen der Säule und Freilegen des Säulenbettes) Folgeschäden auftreten.

**Beschreibung der Säulen**

Als stationäre Phase enthalten die NUCLEOGEL® GPC Säulen eine weitgehend quervernetzte Polystyrol-Divinylbenzol-Polymermatrix (PS/DVB). Die makroporösen, sphärischen Partikel dieser Matrix unterliegen durch eine optimierte Polymervernetzung nahezu keiner Schrumpfung beim Wechsel von polaren zu unpolaren organischen Lösemitteln. Dennoch sollten die Hinweise für einen Eluentenwechsel beachtet werden (siehe Eluent).

**Installation**

Der Einbau der GPC-Säulen sollte unter Berücksichtigung der Flussrichtung, die auf dem Säulenetikett vermerkt ist, erfolgen. Sie werden mit gerätetypischen 1/16" Kapillaren und Verschraubungen angeschlossen, die zur Vermeidung von Totvolumen möglichst kurz sein sollten. Für komplexe Trennungen können mehrere Säulen in Serie über ein Kapillarverbindungsstück (kurze Kapillare mit Anschlusschrauben und Ferrules, siehe [www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)) gekoppelt werden. Dabei ist eine Reihenfolge mit abnehmender Porengröße vorteilhaft.

**Vorsäulen**

Zum Schutz und zur Verlängerung der Lebensdauer der Säulen, insbesondere bei stark matrixbelasteten Proben, sind Vorsäulen empfehlenswert. Die Filterelemente und das Sorbens der Vorsäule halten Verunreinigungen aus der Probe oder dem Eluenten zurück. Der Anschluss der Vorsäule an die Trennsäule erfolgt mittels Kapillarverbindungsstück. Ein Wechsel der Vorsäule ist erforderlich, sobald eine Erhöhung des Säulendruckes und/oder eine Verschlechterung der Trennleistung beobachtet wird.

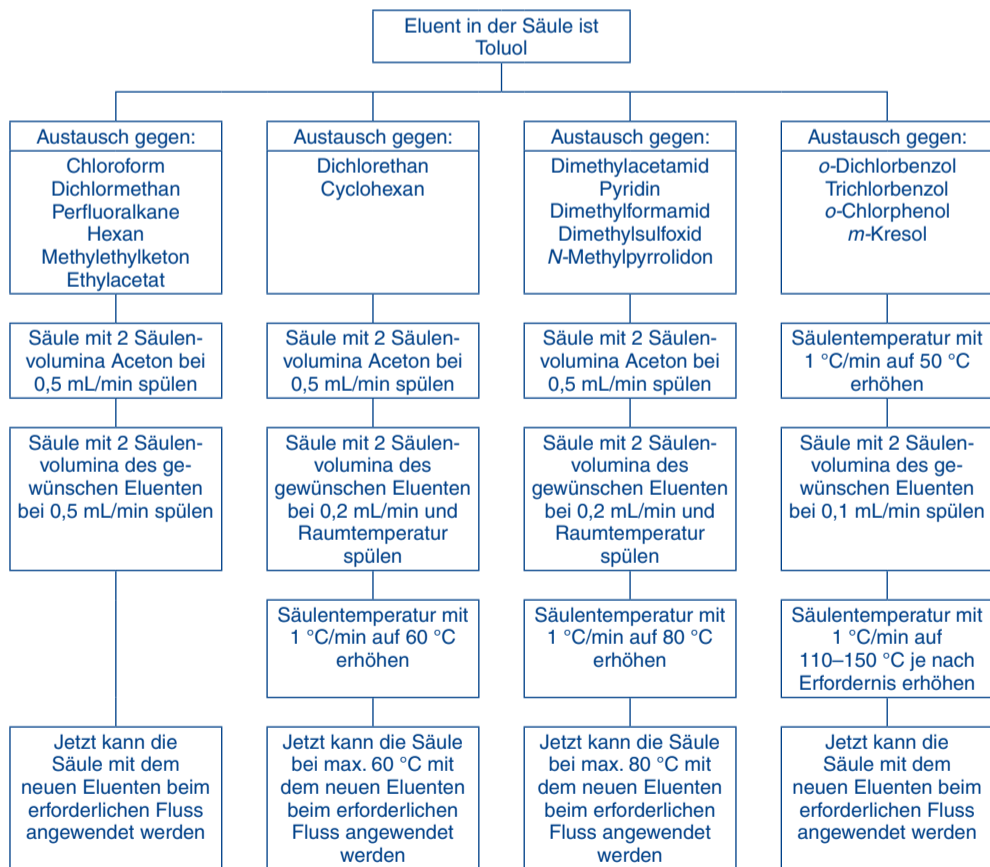
**Probe**

Die Probe wird in der Regel im Eluenten gelöst und vor der Aufgabe auf die Säule durch die Verwendung eines Spritzenvorsatzfilters (z. B. CHROMAFIL® Xtra PET, 0,45 µm, 25 mm, REF 729220) gereinigt. Falls trotz Filtration noch trübe Lösungen in die Säule injiziert werden, kann das die Lebensdauer der Säule beträchtlich verkürzen. Die optimalen Probenvolumina und -konzentrationen sind von der individuellen Applikation abhängig und sollten bei einer Applikationsentwicklung empirisch ermittelt werden. Proben mit einer breiten Molekulargewichtsverteilung können in der Regel mit höherer Konzentration injiziert werden als Proben mit enger Verteilung. Auch kann die Beladbarkeit durch mehrere in Reihe geschalteter Säulen erhöht werden.

**Eluent**

Die GPC-Säulen werden mit dem Eluenten Toluol ausgeliefert. Als mobile Phasen werden meist Toluol, Tetrahydrofuran, Chloroform oder o-Dichlorbenzol eingesetzt. Die Verwendung von nicht-stabilisiertem Tetrahydrofuran (z. B. HPLC Qualität) ist nicht empfehlenswert, da die Bildung von Peroxiden die Oberflächeneigenschaften des Polymers ändern kann, was zu Peak tailing und zur Adsorption polarer Analyten führt. Je nach Anwendung sind weitere Eluenten möglich (siehe Abbildung). Der Austausch von Toluol gegen Tetrahydrofuran kann ohne Zwischenspülung bei einer reduzierten Flussrate (0,5 mL/min für die ersten 2 Säulenvolumina) erfolgen. Beim Eluentenwechsel gegen andere Lösemittel müssen jedoch folgende Hinweise beachtet werden:

**Hinweise für einen Eluentenwechsel**



1 Säulenvolumen (300 mm Länge x 7,7 mm ID Säule) ≈ 14 mL

Wenn die Säule bei erhöhter Temperatur angewendet wurde und auf Raumtemperatur abgekühlt werden soll, reduziert man die Flussrate auf 0,1 mL/min und erniedrigt die Temperatur langsam mit etwa 1 °C/min bis auf Raumtemperatur.

Die Eluenten sollten stets durch eine 0,2–0,45 µm Membran filtriert und entgast werden.

**Flussrate und Druck**

Als optimale Flussrate wird für analytische Säulen mit 7,7 mm ID 1 mL/min empfohlen. Für Eluenten niedriger Viskosität (< 0,6 cP) beträgt die maximale Flussrate 3 mL/min für Säulen mit 10 µm, und 2 mL/min für Säulen mit 5 µm Partikelgröße. Eluenten mit höherer Viskosität sollten bei niedrigeren Flussraten und/oder höheren Temperaturen verwendet werden. Die Flussraten sollten in kleinen Schritten geändert und abrupte Druckschwankungen vermieden werden. Auf keinen Fall sollte der maximale Säulendruck von 150 bar überschritten werden. Wir empfehlen den Rückdruck regelmäßig zu überprüfen. Wenn bei der Benutzung der Säule unter normalen Flussraten ein erhöhter Rückdruck resultiert, deutet dieses im Allgemeinen auf eine Verunreinigung des Packungsmaterials hin, die entfernt werden muss (siehe Behebung möglicher Fehler).

**Temperatur**

Säulentemperaturen bis zu 150 °C sind möglich. Die optimalen Temperaturen sind von der Anwendung und dem Eluenten abhängig. Sie sollten mindestens 30 °C unter dem Siedepunkt des Eluenten liegen, damit eine einwandfreie Detektion gewährleistet ist. Der Temperaturanstieg auf die Arbeitstemperatur bzw. das Abkühlen auf Raumtemperatur sollte in Schritten von ca. 1 °C/min erfolgen.

**Detektion**

In der GPC werden vorrangig refraktometrische Detektoren benutzt. Mit den Säulen können aber auch spektral-photometrische, massenspektrometrische und elektrochemische Detektoren benutzt werden. Bei der Verwendung elektrochemischer Detektoren muss berücksichtigt werden, dass einige Arbeitselektroden keine erhöhten Temperaturen erlauben. Falls eine höhere Empfindlichkeit erforderlich ist, können Nachsäulenderivatisierungen mit einem geeigneten Detektor für die Reaktionsprodukte eingesetzt werden.

**Equilibrierung**

Bevor Proben gemessen werden können, muss die Säule mit dem Eluenten bei gleicher Flussrate und Temperatur der anzuwendenden Methode gespült werden (siehe auch Eluent). Die Säule ist equilibriert, wenn die Basislinie des Detektors keine Drift mehr aufweist (i. d. R. nach 10 Säulenvolumina).

**Säulenaufbewahrung**

Für die Aufbewahrung wird der ursprüngliche Eluent Toluol empfohlen (Lagertemperatur: 15–30 °C). Auch die weiteren Eluenten, außer nicht-stabilisiertes Tetrahydrofuran, sind möglich. Säulen, die mit Dimethylformamid oder Lösemitteln ähnlicher Polarität betrieben werden, sollten in diesen Eluenten gelagert werden. Stellen Sie bitte sicher, dass die Verschlusschrauben fest schließen, da ansonsten das Packungsmaterial austrocknen und beschädigt werden kann.

**Behebung möglicher Fehler**

Das folgende Schema beschreibt typische Symptome eines Leistungsverlustes und deren Ursache. Alle Säulen unterliegen den strengen Richtlinien und Kontrollen unserer Qualitätssicherung. Polymersäulen sind naturgemäß sehr robust und halten bei korrekter Pflege und Behandlung ihre Trennleistung über lange Zeiträume aufrecht. Erfahrungsgemäß sind Säulenausfälle meist auf eine Verunreinigung des Sorbensbettes zurückzuführen. Verwendung einer Vorsäule sowie sachgerechte Probenvorbereitung verhindern meist diese Probleme. Benutzen Sie folgendes Schema, um die Ursache eines möglichen Leistungsabfalls zu ermitteln:

Symptom / Fehler / Ursache	Vorbeugung / Behebung
<b>Basislinien-Drift</b> · nicht ausreichende Zeit zur Gleichgewichtseinstellung mit dem Eluenten · verunreinigter Eluent · Temperatur	längeres bzw. besseres Equilibrieren  frische Lösemittel und Reagenzien verwenden Säulenthermostatisierung
<b>Breite Peaks</b> · Mischung und/oder Diffusion vor/hinter der Säule · zu großes Probenvolumen	Länge und ID der Kapillaren möglichst klein halten geringes Injektionsvolumen
<b>Peaküberlagerung; zu schnelle Elution</b> zu schnelle Elution und/oder unzureichende Trennung durch: · nicht angemessene Säulentemperatur oder Eluentenflussrate · Elutionskraft des Eluenten zu hoch	entsprechenden Parameter optimieren  Eluentensystem optimieren
<b>Steigender Rückdruck; Verschlechterung der Trennung</b> Verunreinigung des Sorbens durch: · Ansammlung von Partikeln auf der Fritte oder im Sorbensbett aus der Probe, dem Eluenten oder dem System	Eluenten frisch zubereiten, Proben und Eluenten vorher filtrieren, In-Line-Filter verwenden / LC-System spülen, reinigen des Sorbens (siehe unten)
<b>Unzureichende Trennung; Verschlechterung der Trennung bei normalem Säulendruck</b> Verunreinigung mit: · organische Substanzen aus unsachgemäß aufbereiteten Eluenten und Matrices	organische Substanzen durch Probenvorbereitung entfernen / reinigen des Sorbens (siehe unten)
<b>Doppelpeaks (Totvolumen):</b> · fehlerhafte Verschraubungen (Kapillaren, Ferrules, Schrauben)  · Kompression des Säulenbettes durch zu hohe Flussraten und unsachgemäßen Eluentenwechsel	Verwendung von „PEEK Fingertight Fittings“, REF 718770 oder REF 718778 / Austausch der Verschraubungen  max. Flussrate und zulässigen Eluenten beachten / entspannen des Polymerbettes (siehe unten)

**Säulenregenerierung**

In einigen Fällen kann die Trennleistung der Säule wiederhergestellt werden, indem man die Verunreinigungen vom Sorbensbett entfernt oder das Polymerbett entspannt. Allerdings ist es wichtig, die Ursache zu lokalisieren, bevor die Säule wieder für die Analyse von Proben verwendet wird.

- Frischen Eluenten zubereiten:** In einigen Fällen wird der Leistungsabfall durch eine Verunreinigung des Eluenten verursacht. Verwenden Sie deshalb stets frischen Eluenten und spülen Sie alle Flüssigkeitsleitungen, bevor Sie die Säule weiter benutzen. Der Eluent sollte vor Gebrauch durch eine 0,2–0,45 µm Membran filtriert und entgast werden.
- Reinigen des Sorbens:** Zur Entfernung von Verunreinigungen spülen Sie die Säule mit mind. 10 Säulenvolumina bei 0,1 mL/min und 60 °C wie folgt (ggf. umgekehrte Flussrichtung):
  - 100 % Tetrahydrofuran um un- oder mittelpolare organische Verbindungen zu entfernen
  - 10 % Methanol in Tetrahydrofuran um polare organische Verbindungen zu entfernen
  - Säule in ursprünglicher Flussrichtung mit Toluol auf Lagerbedingung umstellen
 Ein entsprechender Hinweis für die erfolgreiche Reinigung ist die Konstanz der Basislinie. Beim isokratischen Lauf mit konstanter Temperatur sollte innerhalb einer Laufzeit von 5 Minuten nicht mehr als 2–3 mAU Drift beobachtet werden.
- Entspannen des Polymerbettes:** Die Polymere bestehen aus kompressiblen kugelförmigen Partikeln. Durch einen Rückdruck von mehr als 150 bar werden die Partikel deformiert. Dies führt zu einer Verdichtung des Säulenbettes und zu einem weiteren Druckanstieg. Um das Säulenbett wieder zu dekomprimieren schalten Sie die Pumpe ab, und lassen das Polymer etwa 30 min „entspannen“. Drehen Sie die Säule um, und pumpen den Eluenten über Nacht mit einer Flussrate von 0,1 mL/min durch die Säule (viskose Eluenten bei 60 °C). Dann kehren Sie zu den normalen Arbeitsbedingungen für die Säule zurück.
- Säulenaustausch:** Die hier beschriebenen Vorschläge können die Trennleistung der Säule leider nicht in allen Fällen wieder herstellen. Bestimmte organische Verunreinigungen lassen sich durch die beschriebenen Reinigungsmethoden nicht immer entfernen. Wir empfehlen dringend, die Ursache des Problems zu ermitteln, bevor Sie eine neue Säule einsetzen.

**Zusammenfassung**

- Um die Lebensdauer der Säule zu verlängern, berücksichtigen Sie bitte folgende Hinweise:
- Als Eluenten werden z. B. Toluol, Tetrahydrofuran oder Dimethylsulfoxid verwendet (Hinweise für einen Eluentenwechsel beachten!). Die Eluenten sollten durch eine 0,2–0,45 µm Membran filtriert und entgast werden.
  - Filtrieren Sie die Proben vor der Injektion mit einem 0,2–0,45 µm CHROMAFIL® Xtra PET Spritzenvorsatzfilter.
  - Verwenden Sie bei verschmutzten Proben eine Vorsäule.
  - Die empfohlene Flussrate für analytische Säulen (ID 7,7 mm) beträgt 1,0 mL/min.
  - Stellen Sie die Flussrate so ein, dass der Säulendruck von 150 bar nicht überschritten wird.
  - Lagern Sie die Säule nach Anwendung unpolare Eluenten vorrangig in Toluol, bei polaren Eluenten (z. B. Dimethylsulfoxid) in diesem Lösemittel.
  - Benutzen Sie für alle Arbeiten Lösemittel von mindestens p. A. Qualität und stabilisiertes Tetrahydrofuran.



# NUCLEOGEL® GPC columns

**Note:** All HPLC columns from MACHEREY-NAGEL are supplied with a certificate, which contains specifications and test results of the column. NUCLEOGEL® GPC columns are quality products based on a mechanically stable polymer. They are specifically developed for chromatographic high performance analysis. If carefully and properly used excellent chromatographic results and long column lifetime can be achieved. These products can be used for exclusion chromatography (gel permeation chromatography, GPC) of many water-insoluble substances. All GPC separation columns must exclusively be used in accordance with universally accepted laboratory regulations and working methods of high performance liquid chromatography, especially of gel permeation chromatography. Before running the column the entire analytical system (column and equipment) must be carefully checked by the operator. Chromatographic conditions (mobile phase, flow, temperature etc.) have to be adapted to the analytical task. MACHEREY-NAGEL does not give any warranty and is not liable for the success of a separation or application. If you have any questions after reading this manual, please call our service / technical support.

**Table of contents**

- Safety indication
- Description of the column
- Installation
- Guard columns
- Sample
- Eluent
- Flow rate and pressure
- Temperature
- Detection
- Equilibration
- Column storage
- Troubleshooting
- Column regeneration
- Abstract

**Safety indication**

Follow the general safety instructions for handling of the mobile phases used (e.g., tetrahydrofuran, toluene) and take precautions against any kind of injuries or damage to health (e.g., skin and eye protection in case of broken capillaries). Disposal of used GPC columns must follow international, national and local environmental protection regulations. The use of GPC columns is only permitted to staff members, who are qualified in their field. Keep GPC columns away from children. MACHEREY-NAGEL disclaims and excludes all warranties of any kind or nature whatsoever and MN shall not be liable for any damages (whether direct, indirect, foreseeable, incidental, compensatory, consequential or special), whether based upon warranty, contract, tort or strict liability, if damages and/or losses occur caused by improper use, maintenance, neglect or improper treatment (especially opening of the column and exposure of the column bed).

**Description of the column**

As stationary phase NUCLEOGEL® GPC columns contain a highly crosslinked macroporous, spherical polystyrene-divinylbenzene polymer matrix (PS/DVB). Due to an optimized polymer cross-linking the macroporous, spherical particles of this matrix show nearly no shrinking when changing from polar to nonpolar solvents. However, the procedures for changing an eluent should be followed (see eluent).

**Installation**

The column should be installed in the flow direction indicated on the column label. It is connected with 1/16" capillaries and fittings, typical for HPLC instruments. Capillaries should be as short as possible to avoid dead volume. Several columns can be coupled in series using a capillary union (short capillary with nuts and ferrules, see [www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)) for complex separations. For this purpose, connections in order of decreasing pore size have proved to be advantageous.

**Guard columns**

For protection and an extension of column lifetime the column should always be used with a guard column. The filter elements and the adsorbent in the guard column retain contaminants from the sample or the eluent. Connection of the guard column with the separation column is made by a capillary union. A replacement of guard column is required when increased column pressure and/or loss of performance is observed.

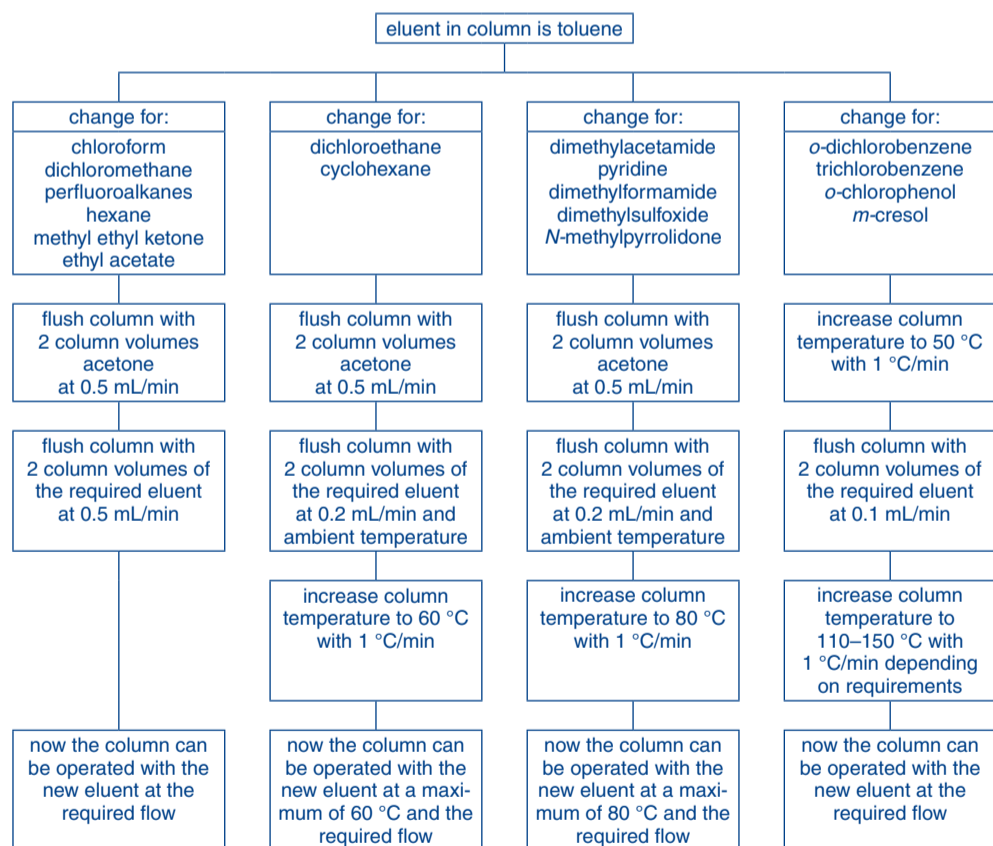
**Sample**

Generally, the sample is dissolved in the eluent and should be passed through a syringe filter (e.g., CHROMAFIL® Xtra PET, 0.45 µm, 25 mm, REF 729220) before entering the column. If injected sample solutions are still turbid even after filtration, the lifetime of the column may be significantly reduced. Optimal sample volumes and concentrations depend on the individual application and should be determined empirically. Samples with a broad distribution of molecular weight can be generally injected at a higher concentration than samples with narrow distribution. Furthermore, loadability can be increased by several columns coupled in series.

**Eluent**

GPC columns are supplied with the eluent toluene. As mobile phases toluene, tetrahydrofuran, chloroform or o-dichlorobenzene are most commonly used. The usage of unstabilized tetrahydrofuran (e.g., HPLC grade) is not recommended, because the formation of peroxides can alter the surface characteristics of the polymer, resulting in peak tailing and adsorption of polar analytes. According to requirements further eluents are possible (see figure). Changing from toluene to tetrahydrofuran can be accomplished without flushing step at a reduced flow rate (0.5 mL/min for the first 2 column volumes). For changing to an eluent with another solvent follow the procedures below:

**Procedures for changing the eluent**



1 column volume (300 mm length x 7.7 mm ID column) ≈ 14 mL

If the column was operated at elevated temperature reduce the flow rate to 0.1 mL/min and reduce the temperature at 1 °C/min until ambient temperature is reached. Eluents should be filtered through a 0.2–0.45 µm membrane and degassed.

**Flow rate and pressure**

As optimum flow rate for analytical columns with 7.7 mm ID, 1 mL/min is recommended. For low viscosity eluents (< 0.6 cP), the maximum flow rate is 3 mL/min for columns with 10 µm and 2 mL/min for columns with 5 µm particle size. Higher viscosity eluents should be used at lower flow rates and/or at elevated temperatures. Flow rates should be changed in small steps and pressure pulses should be avoided. In all instances the maximum column pressure should not exceed 150 bar. We recommend controlling back pressure regularly. If a high pressure results from the use of the column at nominal flow rates, this usually indicates that some contaminants have become deposited on the packing material, which must be removed (see troubleshooting).

**Temperature**

Column temperatures up to 150 °C are possible. Optimum temperatures depend on application and eluent. The temperature should be at least 30 °C below the boiling temperature of the eluent, in order to ensure proper detection. The temperature increase to operation temperature or cooling down to ambient temperature should be made in steps of approx. 1 °C/min.

**Detection**

In GPC refractometric detectors are preferentially used. However, the columns can be also used with spectrophotometers, mass spectrometers and electrochemical detectors. If electrochemical detectors are used, please note that high temperatures may be incompatible with some working electrodes. If a higher sensitivity is required, post-column derivatizations with an appropriate detector for the reaction product can be used.

**Equilibration**

Prior to measurement of samples the column must be rinsed with the eluent at the same flow rate and temperature as the method to be applied. Column equilibration is finished, when the baseline of the detector no longer shows a drift (generally after 10 column volumes).

**Column storage**

The original eluent (toluene) is recommended for storage (storage temperature: 15–30 °C). Other eluents except unstabilized tetrahydrofuran are also possible. Columns used with dimethylformamide or solvents with similar polarity are best stored in these eluents. For column storage be sure the end fittings are tightly sealed using column end plugs, because storage without these seals can result in drying of the packing material.

**Troubleshooting**

The following outline describes the symptoms of performance loss and its cause. All columns are subject to the strict regulation and control of our quality assurance system. Polymer columns are robust and hold their separation efficiency for long periods by correct maintenance and treatment. According to experience, column failures are mostly a result of injection of contaminants to the sorbent bed. The usage of a guard column, as well as an appropriate sample pretreatment will help to minimize these risks.

Use the outline below to help determine the cause of a possible performance loss:

Symptom / Error / Cause	Prevention / Remedy
<b>Baseline drift</b> · insufficient period for equilibration of the eluent · contaminated eluent · temperature	longer or better equilibration use freshly prepared solvents and reagents column temperature control
<b>Broad peaks</b> · mixing and/or diffusion before/behind the column · too large sample volume	keep length and ID of capillaries at a minimum smaller injection volume
<b>Peak interference; too fast elution</b> too fast elution and/or insufficient separation by: · improper column temperature or flow rate · elution power of eluent is too high	optimize concerned parameter optimize eluent system
<b>Increasing back pressure; degradation of the separation performance</b> contamination of sorbent by: · particulate accumulation on frit or sorbent bed from sample, eluent or system	prepare fresh eluent; prefilter samples and eluent, use in-line filter / rinse LC system, clean the sorbent (see column regeneration)
<b>Insufficient separation; degradation of the separation with regular column pressure</b> contamination with: · organic substances from improperly prepared eluent or matrices	remove organic substances by sample preparation / clean the sorbent (see column regeneration)
<b>Double peaks (dead volume)</b> · faulty fittings (capillaries, ferrules, nuts)  · compression of column bed by too high flow rates and inappropriate eluent changing	use "PEEK Fingertight Fittings", REF 718770 or REF 718778 / replace fittings consider maximum flow rate and allowed eluent / expand the polymer bed (see column regeneration)

**Column regeneration**

In some cases the performance of the column can be restored by removing contaminants from the sorbent bed or by regeneration of the phase. It is important, however, to locate the source of contamination before using the column for the analysis of samples again.

- Prepare fresh eluent:** In some cases the performance loss is traced to eluent contamination. Therefore, prepare fresh eluent and flush all liquid lines before using the column again. The eluent should be filtered through a 0.2–0.45 µm membrane and degassed prior to use.
- Cleaning of sorbent:** To remove contamination rinse the column with a minimum of 10 column volumes at 0.1 mL/min and 60 °C as follows (if necessary, inverse flow direction):
  - 100 % tetrahydrofuran to remove non or medium polar organic compounds
  - 10 % methanol in tetrahydrofuran to remove polar organic compounds
  - convert column to storage condition with toluene
 An adequate indicator for a clean column is a constant baseline. At constant temperature you should observe less than 2–3 mAU drift during a running time of 5 minutes with an isocratic run.
- Decompression of polymer bed:** The polymer consist of compressible spherical particles. The particles are deformed by a back pressure above 150 bar. Thus, a compression of the column bed and a further increase of pressure results. To decompress the column bed, shut off the pump and allow the polymer to "relax" for about 30 min. Invert the column and pump the eluent through the column with 0.1 mL/min overnight (viscous eluent at 60 °C). Then return the column to normal operating conditions.
- Column replacement:** The above procedures will restore performance only in certain cases. Some organic contaminants are particularly refractory and may not respond to treatment. Under these circumstances, column replacement is necessary. It is highly advisable to locate the cause of the problem before installing a new column.

**Abstract**

To extend column lifetime, please keep in mind the following:

- As eluents, e.g., toluene, tetrahydrofuran or dimethylsulfoxide are used. (Pay attention to procedures for changing the eluent!) Eluents should be filtered through a 0.2–0.45 µm membrane and degassed.
- Filter samples through a 0.2–0.45 µm CHROMAFIL® Xtra PET syringe filter before injection.
- Use a guard column for contaminated samples.
- The recommended flow rate for analytical columns (ID 7.7 mm) is 1.0 mL/min.
- Adjust flow rate to keep column pressure below the maximum value of 150 bar.
- Preferentially store the column in toluene after application with nonpolar eluents and in the eluent after application with polar eluents (e.g., dimethylsulfoxide).
- Use analytical grade solvents and stabilized tetrahydrofuran for all work.