

Аналитические колонки для ВЭЖХ с частицами

(LiChrosorb®, Lichrospher®, Superspher®, Purospher® и Aluspher®)

Общая информация и рекомендации по уходу и использованию

Каждая колонка упакована в индивидуальную упаковку и протестирована для обеспечения превосходных характеристик, задокументированных в сертификате анализа, содержащем тестовую хроматограмму, номер колонки, номер партии сорбента и важные данные о характеристиках, характерные для вашей колонки.

Пожалуйста, осмотрите вашу колонку на предмет возможного повреждения при транспортировке. Если произошло повреждение, немедленно сообщите об этом вашему поставщику.

Формат колонки и устойчивость к давлению

Колонки для ВЭЖХ и УВЭЖХ, поставляемые компанией Merck KGaA, поставляются в различных форматах и материалах для различных применений. Все колонки имеют концевые фитинги с внутренней резьбой 10–32 UNF, которые соединяются с капиллярной трубкой 1/16 дюйма. Обратите внимание, что снятие предварительно установленных концевых фитингов с колонок для ВЭЖХ может привести к повреждению основания колонки и снижению производительности.

Колонки с твердым диоксидом кремния для обращенно-фазовой и нормально-фазовой ВЭЖХ поставляются в корпусе из нержавеющей стали; либо в виде готовых к использованию колонок Hibar®, либо в виде картриджной системы LiChroCART®, включающей отдельно заказываемые многоразовые концевые фитинги (manu-CART®). Колонки Hibar® HR обладают сверхвысокой стабильностью давления и чрезвычайно малым внутренним мертвым объемом, что делает их особенно подходящими для использования в приборах УВЭЖХ. Обе колонки Hibar® и LiChroCART® имеют фритты из нержавеющей стали, чтобы удерживать частицы неподвижной фазы на месте.

	Тип колонки	Нужен держатель	Давление
LiChroCART®	Картридж	Да (manuCART®)	250 бар
Hibar® RT	ВЭЖХ колонка	Нет	400 бар
Hibar® HR	УВЭЖХ колонка	Нет	1000 бар

Расчет мёртвого времени

Знание времени пустот t_m важно для расчета хроматографических параметров, таких как k и u . Время пустот может быть рассчитано исходя из объема пустой колонки V_{empty} , объемного расхода f_v и пористости материала-носителя. Общая пористость колонки представляет собой объемную долю, занятую подвижной фазой.

$$e = V_m / V_{empty}$$

$$t_m = V_{empty} e / f_v$$

Для полностью пористых материалов, таких как диоксид кремния и модифицированный диоксид кремния, e составляет от 0,7 до 0,8. Время образования пустот также может быть определено путем измерения времени удерживания веществ образца без замедления.

Определение мёртвого времени

Адсорбционная хроматография на силикагеле: УФ-детектирование: бензол, тетрахлорэтилен; Реактивное обнаружение: циклогексан, бензол. При использовании очень слабых растворителей бензол и тетрахлорэтилен также могут замедляться. ВЭЖХ с обращенной фазой: УФ-обнаружение: тио-мочевина. Реактивное определение: D_2O , CD_3OH , CD_3CN , сам элюент.

Уравновешивание колонки

Правильное уравновешивание колонки — это время, потраченное с пользой, так как это даст вам более стабильные результаты и уменьшит количество ошибок. Это особенно важно для картриджей LiChroCART®, поскольку колонки не закрываются и могут легко высыхать. Картриджи LiChroCART® необходимо тщательно промыть перед использованием.

Перед промывкой или уравниванием колонки убедитесь, что ваша подвижная фаза смешивается с транспортировочным растворителем.

Объемы пустых колонок

Длина колонки (мм)	Внутренний диаметр (мм)	Объем колонки (мл)	Мин. объем промывки (мл) (объем 10 колонок)
125	2	0,4	4
250	2	0,8	8
30	2,1	0,10	1
50	2,1	0,17	1,7
100	2,1	0,35	3,5
125	3	0,9	9
250	3	1,8	18
125	4	1,6	16
250	4	3,2	32
100	4,6	1,7	17
150	4,6	2,5	25
250	4,6	4	40

Скорость потока и размер образца

Оптимальная скорость потока и размер пробы (количество пробы и объем пробы) зависят от внутреннего диаметра колонки.

Типичные скорости потока и значения ориентации для грузоподъемности для колонок с различным внутренним диаметром можно найти в таблице ниже:

Размеры колонки (мм)	Типичные скорости потока (мл/мин)	Количество образца (мг)	Объем образца (мкл)
150-1	0,06	са. 0,05	0,05-1
250-2	0,25	са. 0,2	0,2-5
250-3	0,6	са. 1	1-20
250-4	1	са. 5	5-80
250-10	6	са. 30	30-500
250-25	39	са. 200	200-3000

Установка колонки

Эти колонки для ВЭЖХ и УВЭЖХ подходят для любого хроматографа для ВЭЖХ; однако при установке следует соблюдать осторожность, чтобы не создавать мертвые зоны в соединениях, которые могут снизить эффективность разделения. Обратите внимание, что трубные фитинги из нержавеющей стали негибкие и не могут быть адаптированы к разным конструкциям портов после первой установки, в то время как фитинги из РЕЕК можно несколько раз подгонять для разных колонок. Также обратите внимание, что фитинги и феррулы из нержавеющей стали могут повредить концевые фитинги оборудования колонки из ПЭЭК, особенно при установке с чрезмерным усилием с помощью гаечного ключа. Эти колонки следует устанавливать так, чтобы стрелка потока на этикетке была направлена в сторону детектора. Перед подключением выхода колонки к детектору целесообразно промыть колонку подвижной фазой.

Постепенно увеличивайте скорость потока небольшими шагами, пока она не будет удовлетворять вашим условиям. Промывайте колонку подвижной фазой до тех пор, пока не получите стабильный базовый уровень. Для подвижных фаз с добавками в низких концентрациях (например, реагенты для парных ионов) может потребоваться более длительное время уравнивания.

Колонки с обращенной фазой (RP-18, RP-8) поставляются в смеси ацетонитрил/вода.

Если колонка высохла во время хранения или транспортировки, тщательно активируйте насадку, промыв 10–20 объемами колонки чистого органического растворителя (например, ацетонитрила) перед уравниванием колонки подвижной фазой.

Колонки с нормальной фазой (Si, NH₂, CN, диол) поставляются с н-гептаном/диоксаном (99/1). Если они будут использоваться с водными элюентами, промойте колонку этанолом или 2-пропанолом перед уравниванием подвижной фазой.

Уход за колонкой

- Не нарушайте диапазон стабильности pH сорбента.
- Всегда избегайте резких изменений рабочих условий.
- Всегда дегазируйте и фильтруйте подвижные фазы
- Защитите колонку от загрязнения (фильтруйте через 0,45 мкм для ВЭЖХ и 0,2 мкм для УВЭЖХ и используйте надлежащую пробоподготовку).
- Храните RP-колонки в чистом ацетонитриле или смеси органических растворителей. (например, ацетонитрил или метанол) и вода (например, 50/50)

Подвижная фаза

Используйте только высококачественные растворители и буферы для ВЭЖХ, свежеприготовленные, отфильтрованные (0,45 мкм) и дегазированные перед использованием. Дегазация подвижных фаз предотвращает образование пузырьков.

Буферы, органические модификаторы и реагенты с ионными парами не представляют проблем до тех пор, пока соответствующий диапазон pH не превышает. Реагенты ионной пары часто трудно полностью вымыть из колонки. Поэтому колонки, используемые с этими реагентами, должны быть предназначены для конкретного анализа. Не превышайте диапазон стабильности pH колонки. Более высокие значения pH растворяют кремнезем, создавая пустоты в колонке. Более низкие значения pH могут в конечном итоге удалить часть связанной фазы. Эти дефекты приведут к изменению времени удерживания и потере разрешения. Убедитесь, что растворители смешиваются при смене подвижных фаз и что не происходит осаждения буфера.

Колонки Si (диоксид кремния) обычно используются с такими растворителями, как н-гептан и диоксан, которые являются типичными растворителями для адсорбционной хроматографии.

pH-стабильность

Неподвижные фазы на основе кремнезема имеют ограниченную pH-стабильность. pH выше предела растворяет кремнезем, создавая пустоты в колонке. Более низкий pH может удалить часть связанной фазы, что приведет к дефектам, которые приведут к изменению времени удерживания и потере разрешения. Диапазоны стабильности pH неподвижных фаз колонок, поставляемых Merck KGaA, Дармштадт, Германия, представлены в таблице ниже.

Не используйте сильные кислоты (например, соляную, азотную и серную кислоты) в колонке. Ограничьте использование сильных оснований (например, натрия, калия, гидроксида аммония) до количества, необходимого для регулирования pH подвижной фазы.

При измерении pH подвижных фаз измерение следует проводить в водной среде до смешивания элюента с органическими растворителями. Хотя это не даст фактического pH в смешанном водно-органическом растворителе, это даст более стабильные результаты, чем смешанная подвижная фаза.

Фаза	Стабильный диапазон pH	Макс. температура
LiChrospher®	2-7,5	60°C
Superspher®	2-7,5	60°C
LiChrosorb®	2-7,5	60°C
Purospher®	2-8	65°C
Purospher® STAR RP-18e and RP-8e	1,5-10,5	65°C
Aluspher® RP-select B	2-12	60°C

Температура

Максимальные рабочие температуры указаны в таблице выше. Во избежание уширения полосы и снижения эффективности разделения подвижная фаза должна всегда поддерживаться при той же температуре, что и колонка. Это можно сделать либо с помощью активных нагревателей, либо с помощью пассивного нагрева с использованием короткого отрезка капиллярной трубки внутри печи колонки.

Хранение колонок

Колонки с обращенной фазой следует хранить в чистом ацетонитриле или смеси органического растворителя (например, ацетонитрила или метанола) и воды (например, 50/50).

Хранение столбца в буферах в течение длительного времени сократит срок службы столбца. Перед длительным хранением (т. е. в выходные дни или при длительном хранении) колонки следует

тщательно промыть от буферных солей или ионно-парных реагентов, которые могут вызвать рост бактерий или преципитацию в стационарной фазе или системе ВЭЖХ. Рекомендуется следующая процедура: сначала промойте колонку 10–20 колоночными объемами подвижной фазы за вычетом буфера, затем 10–20 колоночными объемами транспортировочного растворителя (ацетонитрил/вода, 75/25).

В качестве альтернативы, следуйте этому протоколу, если подвижная фаза содержит буфер: промойте 5–10 объемами колонки воды, затем 20–50 объемами колонки органический растворитель/вода (например, ацетонитрил/вода, 1/1). После промывки 20 объемами колонки растворителя для хранения (например, предпочтительно ацетонитрила) колонку можно легко хранить. Промывкой ацетонитрилом из колонки можно также удалить апротонные примеси.

Регенерация колонки

Воздействие на колонку образцов или растворителей, содержащих компоненты с высокой адсорбционной способностью, приведет к увеличению обратного давления и изменению селективности. Часто колонку можно восстановить до первоначального состояния с помощью подходящих протоколов промывки. При проведении регенерации с промывкой растворителем колонку следует перевернуть и перевести из аналитической системы ВЭЖХ в простой дорогостоящий насос.

В качестве альтернативы отсоедините колонку от детектора и промойте ее прямо до отходов. Каждый растворитель должен быть промыт минимум 20, предпочтительно 30 объемами колонки.

Режим разделения	Фазы	Последовательность промывки
RP [обращённо-фазовая]	<ul style="list-style-type: none"> • LiChrosorb® RP-8, RP-18, (диол, CN, NH₂)* • LiChrospher® RP-8, RP-18, (диол, CN, NH₂)* • Purospher® STAR RP-8e, RP-18e, (NH₂)* 	<ul style="list-style-type: none"> • Вода • Ацетонитрил • 2-пропанол + 0,1% муравьиная кислота • Гептан • 2-пропанол + 0,1% муравьиная кислота • Ацетонитрил • Подвижная фаза
NP [нормально-фазовая]	<ul style="list-style-type: none"> • LiChrosorb® Si, диол, CN, NH₂ • LiChrospher® Si, диол, CN, NH₂ • Purospher® STAR Si, NH₂ 	<ul style="list-style-type: none"> • Гептан • Хлороформ • Этанол или 2-пропанол • Хлороформ • Гептан • Мобильная фаза

Специальные рекомендации для быстрой и сверхбыстрой ВЭЖХ [УВЭЖХ]

Время отклика детектора

Большинство детекторов ВЭЖХ имеют переменное время отклика или постоянную времени. При установке этого параметра «скоростью реакции» извещателя можно управлять с помощью электронного демпфирующего устройства. Если время отклика слишком медленное, пики могут казаться широкими и спадающими. Колонки УВЭЖХ, такие как Hibar® HR Purospher® STAR, обычно дают быстрые узкие пики, особенно при скорости потока выше 1 мл/мин. Быстрые пики на колонках Hibar® HR Purospher® STAR требуют малой постоянной времени, например 0,1 секунды.

Обратите внимание: при уменьшении постоянной времени с 2 до 0,1 с количество чашек для колонок Hibar® HR Purospher® STAR может увеличиться до 100%!

Настройки системы данных

Быстрые хроматографические пики могут иметь ширину всего несколько секунд. Для хорошей интеграции площади пика и хорошего оптического представления хроматограммы настройки системы данных должны позволять собирать приблизительно 20 выборок данных в течение времени ширины пика. Мы рекомендуем проверить скорость сбора данных системы данных.

Работа с картриджами LiChroCART® для ВЭЖХ

Картриджи LiChroCART® используются с многоразовыми концевыми фитингами (manuCART®), которые подходят для картриджей различной длины (75–250 мм) и внутреннего диаметра (4,6 мм, 4 мм, 3 мм или 2 мм).

Концевые фитинги (manuCART®) предназначены для ручной герметизации картриджей при нормальном рабочем давлении от 150 до 200 бар без использования каких-либо инструментов. Только при более высоких давлениях может потребоваться дополнительная затяжка с помощью гаечного ключа.

РАВНОВЕСИЕ КАРТРИДЖА

Картриджи LiChroCART® промывали ацетонитрилом/водой.

Поскольку они могут высыхать во время хранения и транспортировки, их необходимо активировать путем продувки 10–20 объемов колонки чистым органическим компонентом (например, ацетонитрилом, метанолом) перед уравниванием их подвижной фазой. Постепенно увеличивайте скорость потока от 0 мл/мин до желаемого значения. Если элюент содержит буферную соль, необходимо промыть картриджи водой после активации и перед стадией уравнивания.

Установка manuCART® на картридж LiChroCART® без предварительной колонки

ManuCART® (кат. № 1.51486.0001) состоит из следующих частей. Прежде чем приступить к сборке колонны, убедитесь, что у вас есть все эти детали.

№	Описание	Количество
1	Колпачковая гайка	2
2	Спиновая гильза	4
3	Концевой фитинг	2

Следующая процедура описывает, как установить детали только на один конец картриджа. Повторите шаги 1–4 для другого конца.

1. Вставьте картридж через концевой фитинг так, чтобы наружная резьба находилась на самом дальнем конце.

2. Поместите 2 разъемные цанги на горловину картриджа, как показано на рис.

Рисунок 1.

3. Наденьте концевой фитинг на две разъемные цанги.

4. Накрутите торцевую заглушку на собранный концевой фитинг. Затяните палец тугой.

5. При установке колонки в канал потока вашего ЖХ плотно затяните торцевые фитинги с помощью гаечных ключей.

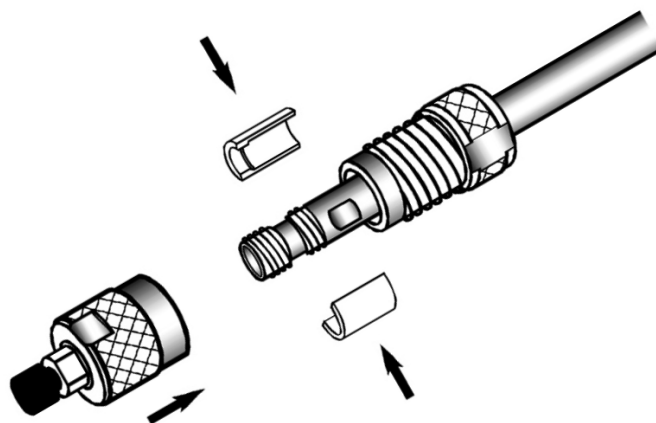


Рисунок 1

Установка manuCART® на предколонку картриджа LiChroCART®

1. Вставьте картридж через концевой фитинг так, чтобы наружная резьба находилась на самом дальнем конце.

2. Поместите 2 разъемные цанги на горловину картриджа, как показано на рис. 2.

3. Поместите картридж защитной колонки в пространство на концах цанг.
4. Наденьте концевой фитинг на собранный картридж защитной стойки.
5. Накрутите торцевую заглушку на концевой фитинг. Плотно затяните палец.
6. Когда вы устанавливаете комбинированную колонку и защитную колонку в канал потока вашего ЖХ, плотно затяните концевые фитинги с помощью гаечных ключей.

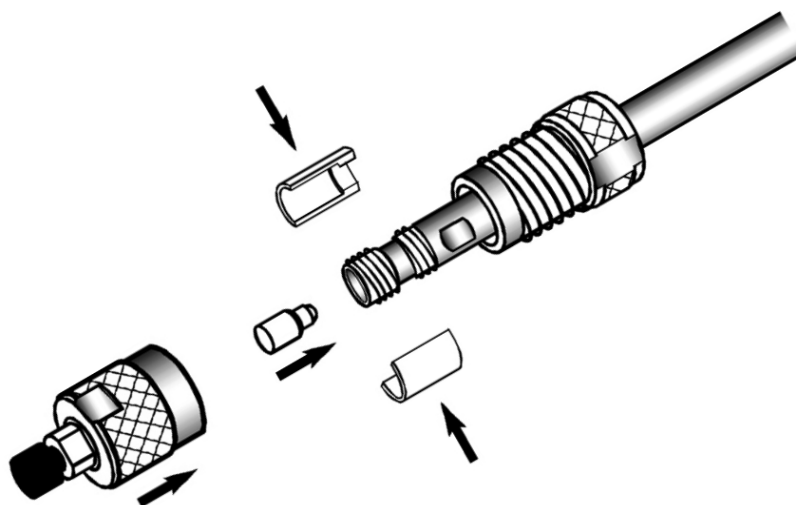


Рисунок 2

Замена сита и фильтра из стекловолокна

Состав инструмента для замены фритт (Кат. № 1.15576.0001):

1 штифт, 1 пластиковый инструмент, 1 центрирующая втулка

1. С помощью гаечного ключа ослабьте накидную гайку концевого фитинга.

2. Отвинтите накидную гайку и снимите полуцилиндрические цанги с шейки картриджа колонки. Отложите их для повторного использования позже.

3. Используя штифт, осторожно снимите сито с конца картриджа колонки (рис. 3).

4. Используя небольшой шпатель, удалите остатки стекловолоконного фильтра и любой загрязненный упаковочный материал.

5. Заполните пустое пространство свежеприготовленным упаковочным материалом и заглайте поверхность.

6. Поместите новый фильтр на открытый конец картриджа. Не пытайтесь протолкнуть его на место пальцами — он может сморщиться.

7. С помощью пластикового инструмента вставьте фильтр внутрь картриджа (Рисунок 4).

8. Наденьте цилиндрическую втулку на открытый конец картриджа.

9. Поместите сито внутрь воронки.

10. С помощью пластикового инструмента плотно вставьте сито на место (Рисунок 5).



Рисунок 3



Рисунок 4



Рисунок 5

Установка более коротких картриджей LiChroCART®

Картриджи LiChroCART® длиной 30 мм или 55 мм монтируются с помощью специального держателя картриджа manu-CART® (либо для картриджей 30 мм,

Кот. № 1.50227.0001 или патроны 55 мм Кат. № 1.50226.0001), содержащий 1 трубку (длиной 30 или 55 мм) и 2 концевых фитинга. Эти держатели картриджей подходят для колонок с различным внутренним диаметром (внутренний диаметр 2 мм, 3 мм и 4 мм).

Наденьте трубку на картридж и навинтите концевые фитинги на концы трубки.

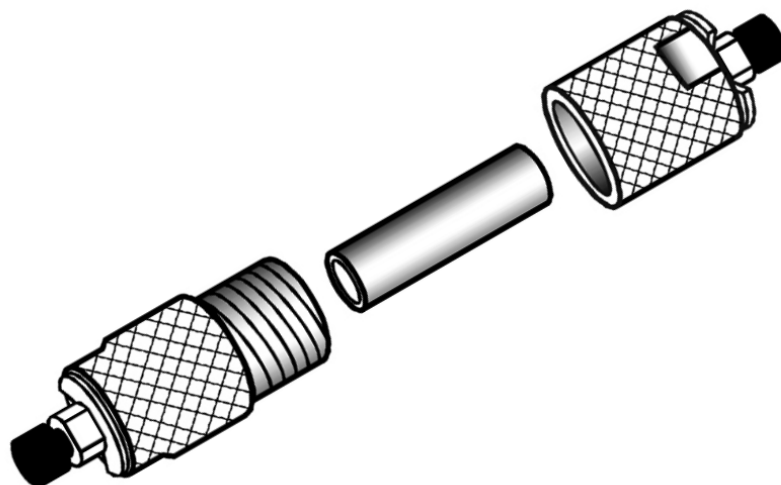


Рисунок 6

Использование колонок Hibar® HR для УВЭЖХ

Hibar® HR UHPLC специально разработаны для использования с системами UHPLC. Они подходят ко всем приборам для ВЭЖХ и УВЭЖХ без дополнительных инструментов.

Чтобы обеспечить наилучшие результаты, следуйте этим простым правилам использования:

1. Установите и запустите колонку только в направлении потока, указанном на колонке.
2. Используйте только высококачественные растворители для хроматографии.
3. Перед использованием отфильтруйте все водные буферы и все образцы через соответствующий фильтр 0,2 мкм.
4. Меняйте флаконы с буфером подвижной фазы каждые 24–48 часов – не добавляйте подвижную фазу во флакон; всегда используйте новую бутылку.
5. Не используйте подвижную фазу соли с высоким содержанием буфера (>50 мМ) в сочетании с высокими концентрациями ацетонитрила из-за возможного осаждения.
6. Рекомендуется встроенный фильтр для улавливания твердых частиц и продления срока службы колонки. Замените фильтр, когда давление увеличится на 10%.

Обращение с колонками Hibar® RT HPLC

Колонки для ВЭЖХ Hibar® RT представляют собой традиционные «готовые к использованию» колонки, включая концевые фитинги. Эти колонки устойчивы к давлению до 400 бар. Возможно прямое подключение ко всем системам ВЭЖХ без дополнительного держателя колонки.

Использование предколонок рекомендуется также для колонок Hibar RT HPLC. Для прямого подключения предколонки к аналитической колонке для ВЭЖХ необходим специальный держатель.

Установка предколонки LiChroCART® 4-4 с прямым подключением к колонке Hibar® RT HPLC

Держатель предколонок для 4-4 картриджей LiChroCART® для прямого соединения с колонкой Hibar® RT (Кат. № 1.51487.0001)

1. Снимите концевой фитинг колонки Hibar® RT на входной стороне колонки (перед направлением потока).
2. Привинтите держатель с седлом для предварительной колонки к колонке Hibar® RT и затяните с помощью инструмента, чтобы избежать утечки.
3. Установите предварительную колонку LiChroCART® 4-4 в гнездо держателя.
4. Установите концевой фитинг держателя и затяните его с помощью инструмента, чтобы избежать утечки.

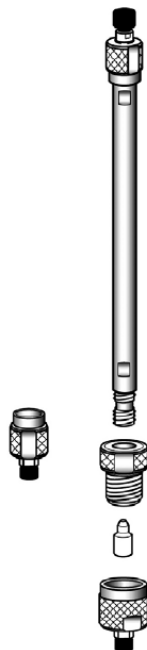


Рисунок 7

**Поставщик в России:
ООО "НеоТест"**

ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир
+7 499 649 02 01
info@neo-test.ru
www.neo-test.ru
www.shop-neotest.ru

Техническая поддержка

support@neo-test.ru
+7 499 704 05 50



**Поставщик в Беларуси:
ОДО "КомПродСервис"**

ул. Филимонова, 25Г, г. Минск
+375 17 336 50 54
info@komprod.com
sales@komprod.com
www.komprod.com

Техническая поддержка

support@komprod.com
+375 17 336 50 54

