



ИНСТРУКЦИЯ ПО РАБОТЕ С КОЛОНКОЙ ВЭЖХ

Каждая колонка ВЭЖХ представляет собой продукт высоких технологий в области металлургии и металлообработки, органической и неорганической химии. Прежде чем приступить к работе с колонкой, просим Вас ознакомиться с информацией и рекомендациями, изложенными в данной инструкции. Это поможет Вам в более эффективном использовании колонки и уходе за ней.

ПРИ ПОЛУЧЕНИИ КОЛОНКИ

- Убедитесь, что Вы получили колонку, которую заказывали.
- Проверьте колонку на предмет механических повреждений, которые могли произойти во время транспортировки.
- Проверьте наличие в упаковке Паспорта на полученную колонку.
- Протестируйте колонку в тех же условиях, что указаны в Паспорте для проверки её работоспособности и качества.
- Все колонки поставляются заполненными подвижной фазой, в которой она тестировалась, если не указано иное.

Каждая колонка индивидуально тестируется, результаты тестирования отражаются в Паспорте, в котором содержится тест-хроматограмма и указаны: серийный номер, наименование сорбента, условия тестирования с рабочими параметрами, размеры колонки и частиц сорбента.

Гарантийный срок начинается с момента получения колонки.

При наличии признаков повреждения или вопросов относительно результатов теста или качества колонки, необходимо как можно быстрее **связаться с нами**.

ПРИ РАБОТЕ С КОЛОНКОЙ НЕ ДОПУСКАЕТСЯ

- ✗ Разбирать фитинговые соединения на концах колонки
- ✗ Подвергать колонку механическим воздействиям: удару или изгибу
- ✗ Работать при давлениях более 300 атм (30 МПа 4300 psi) или допускать резкие перепады давления
- ✗ Хранить колонку без герметично установленных заглушек на концах
- ✗ Хранить колонку в подвижных фазах, содержащих соли или ион-парные агенты
- ✗ Использовать подвижные фазы вне диапазона pH от 2 до 8
- ✗ Работать при температуре выше 40 °C

УСТАНОВКА КОЛОНКИ

- Убедитесь, что насос ВЭЖХ и линии подвижной фазы заполнены полностью, в них отсутствуют пузырьки воздуха.
- Присоедините колонку к инжектору в соответствии с **направлением потока** (указано на колонке) – от инжектора к детектору. Оставьте выход колонки свободным.
- Первичную промывку проводите при расходе подвижной фазы 50-70% от указанного в тест-хроматограмме.
- Остановите поток, когда растворитель будет свободно вытекать из выхода колонки, протрите её конец и присоедините колонку к детектору.
- Уравновесьте колонку подвижной фазой, пропустив через неё 10-15 объемов колонки при указанной в тест-хроматограмме скорости потока.

После установки новой колонки воспроизведите тестовую хроматограмму для проверки качества. Учтите, что колонка тестируется производителем на оптимизированной системе, с максимально уменьшенным экстраколочным размытием! Проведите соответствующую ревизию своей системы для получения достоверного результата.

ПРИ РАБОТЕ С КОЛОНКОЙ

- Используйте растворители и воду, предназначенные только для ВЭЖХ, а химические вещества и реагенты для приготовления подвижной фазы только высшей степени чистоты.
- При выборе подвижных фаз учитывайте, что последовательно используемые элюенты должны быть взаимно смешиваемы и **не** вызывать выпадения солей при их замене.
- Смену подвижной фазы необходимо проводить плавным градиентом. Возврат к начальным условиям, в случае градиентной хроматографии, осуществляйте постепенно (за 2-3 минуты).
- Фильтруйте и дегазируйте все подвижные фазы перед использованием. Для предотвращения образования пузырьков в ячейке детектора, используйте регулятор давления на выходе из неё.

- Всегда фильтруйте образцы с помощью шприцевых мембранных фильтров (0,2 или 0,45 мкм) во избежание загрязнения входного фрита колонки твердыми частицами.
- Необходимо использовать системы защиты колонок – предколоночные фильтры и предколонки надлежащего качества для предотвращения необратимой порчи сорбента от следов примесей.
- Всегда проверяйте растворимость пробы. Лучше использовать подвижную фазу в качестве растворителя или разбавителя пробы.
- Перед вводом образца колонка должна быть полностью уравновешена в начальных условиях анализа. Для уравновешивания обращённо-фазовой колонки может потребоваться элюент в количестве ~10 объёмов колонки (указано в Паспорте), для немодифицированного силикагеля – около 100 её объёмов.
- Периодически повторяйте тестирование колонки, особенно, после длительного хранения.

ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Уменьшайте мёртвые объёмы хроматографической системы, используя капилляры с внутренним диаметром не более 0,25 мм (0,010”) минимальной длины между инжектором и колонкой, колонкой и детектором. Обратите внимание на торцы капилляров – срез должен быть ровным, без выступов, правильной круглой формы и строго перпендикулярен оси капилляра.

Не перетягивайте соединения колонки с капиллярами хроматографа, затягивайте их исключительно до отсутствия течи. Рекомендуется использовать полимерные винты-ферулы, рассчитанные на ручное затягивание.

ПРОЦЕДУРЫ ПРОМЫВКИ КОЛОНКИ

Перед началом любой процедуры очистки убедитесь, что растворитель в колонке смешивается с рекомендованным(-ыми) промывающим(-и) элюентом(-ами).

Механическое загрязнение

- Если на протяжении работы колонки наблюдается значительное повышение давления, промойте колонку в обратном направлении при низкой скорости потока (20% от рабочей скорости).

Химическое загрязнение

Промойте каждым растворителем 10 объемами колонки (расход должен составлять 20-50% от обычного):

Вариант 1

1. Вода – ацетонитрил (95:5)
(для удаления подвижной фазы с солями/буфером)
2. ТГФ (THF) или изопропанол
3. Вода – ацетонитрил (95:5)
4. Подвижная фаза

Вариант 2

1. Вода – ацетонитрил (95:5)
2. Ацетонитрил
3. Изопропанол
4. Ацетонитрил
5. Вода – ацетонитрил (95:5)
6. Подвижная фаза

После работы с белками или пептидами

- Промойте 20 объемами колонки подвижной фазы, но без буферного состава.
- Проведите градиентное элюирование (дважды):
 - ПФ А: 0,1 % трифторуксусная кислота (ТФУК, TFA) в воде
 - ПФ В: 0,1 % ТФУК в смеси ацетонитрил – изопропанол (1: 2)
 - От 25 до 100 % В в течение 30 минут
- Уравновесьте подвижной фазой в количестве 10-15 объемов колонки.
- **Не храните колонку в растворах с ТФУК!**

ХРАНЕНИЕ КОЛОНКИ

ВНИМАНИЕ! Условия хранения колонки влияют на срок её службы.

- Никогда не храните колонки в подвижных фазах, содержащих соли или ион-парные агенты.
- Для удаления любых солей из колонки, промойте её подвижной фазой, но без соли, в количестве 5 её объёмов.
- Перед хранением проведите процедуру очистки, как указано в разделе ПРОЦЕДУРЫ ПРОМЫВКИ КОЛОНКИ, и уравновесьте колонку подходящим растворителем, предпочтительно использовать подвижную фазу, которой колонка была заполнена производителем.
- Плотнo закройте колонку заглушками, чтобы избежать испарения растворителя из неё.
- Храните колонку в упаковке.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Мы проводим диагностику колонок своего производства и их мелкий ремонт в случае выполнения условий настоящей Инструкции.