

Общие принципы и процедуры очистки хроматографических колонок

Сначала удалите соли, затем используйте высокую долю органической фазы: Сначала полностью промойте буферные соли высоководной подвижной фазой, затем постепенно увеличивайте долю органической фазы. Это ключевой принцип предотвращения выпадения солей внутри колонки.

Соблюдайте смешиваемость растворителей: При переходе между разными растворителями убедитесь, что предыдущий и последующий растворители смешиваются, чтобы избежать разделения фаз или образования пузырьков.

Отсоедините детектор: При промывке колонки подсоедините выход колонки напрямую к бутылки для отходов. Не допускайте прохождения промывочного раствора через детектор, чтобы предотвратить загрязнение проточной ячейки.

Мягкая промывка: Рекомендуется использовать скорость потока немного ниже или равной аналитической (например, 0.8–1.0 мл/мин для колонки с внутренним диаметром 4.6 мм) и контролировать давление в колонке.

Процедура очистки обращенно-фазовых хроматографических колонок (например, C18)

Шаг 1: Промывка буферных солей

Действие: Промойте колонку водным раствором, содержащим 5–20% органического растворителя (метанол или ацетонитрил), в объеме 15–20 колоночных объемов.

Цель: Полностью элюировать буферные соли и полярные загрязнители из подвижной фазы, предотвращая их выпадение в осадок при последующем использовании высокой доли органической фазы.

Шаг 2: Градиентный переход

Действие: На основе Шага 1 медленно и непрерывно увеличивайте долю органической фазы с низкого уровня (например, 20%) до 100% в течение 30–60 минут программно или вручную.

Цель: Постепенно элюировать загрязнители с разными адсорбционными свойствами и избежать разрушения слоя сорбента из-за резкого изменения элюирующей силы растворителя.

Шаг 3: Промывка высоким содержанием органического растворителя

Действие: Промойте 15–20 колоночными объемами 100% метанола, ацетонитрила или изопропанола.

Цель: Сильно элюировать большинство неполярных соединений и некоторых ион-парных реагентов, адсорбированных на неподвижной фазе. При сильном загрязнении время промывки на этом этапе можно соответствующим образом увеличить.

Примечание : Если давление в колонке возрастает или загрязнение сильное, можно попробовать промыть колонку в обратном направлении, используя ту же процедуру. Предварительно уточните у производителя колонки, разрешена ли обратная промывка для вашего конкретного типа колонки.

Расширенная процедура очистки колонок, используемых с ион-парными реагентами

Ион-парные реагенты сильно удерживаются на обращенно-фазовых неподвижных фазах и часто их трудно полностью удалить. Тем не менее, тщательная и постепенная процедура очистки может значительно снизить остаточные количества и помочь продлить срок службы колонки. После выполнения вышеуказанной общей процедуры очистки может быть применен следующий дополнительный шаг очистки.

Применимые условия: Если восстановление эффективности колонки после обычной промывки неудовлетворительно или когда в подвижной фазе присутствовали ион-парные реагенты, такие как четвертичные аммониевые соли (например, TBA).

Действие: Для четвертичных аммониевых ион-парных реагентов промойте смесью 50% метанола и буферного раствора (например, 100 ммоль/л дигидрофосфата калия при pH 4–5) в объеме более 20 колоночных объемов.

Важное напоминание: Перед использованием сильных растворителей или сменой систем растворителей всегда проверяйте их совместимость с упаковкой колонки и убедитесь в полной смешиваемости предыдущего и последующего растворителей.

⚠ Ключевые меры предосторожности и профессиональные рекомендации

Принцип выделенной колонки: После использования ион-парных реагентов их практически невозможно полностью удалить. Рекомендуется маркировать колонки, используемые для ион-парной хроматографии, как «выделенные колонки», чтобы продлить срок их службы.

Терпение при промывке: Процесс элюирования ион-парных реагентов с неподвижной фазы происходит очень медленно. Для реагентов с длинными углеродными цепями (>C10) время очистки может превышать 1 час. Обеспечьте достаточное время промывки.

Обратная промывка (с осторожностью): Если давление в колонке аномально возрастает, можно попробовать промыть колонку в обратном направлении с низкой скоростью потока, чтобы вымыть частицы, забившие входной фильтр. Примечание: Обычно это крайняя мера и подходит не для всех типов колонок.

Длительное хранение: После очистки рекомендуется хранить колонку в органической фазе с высоким содержанием (например, 70% водный раствор метанола или ацетонитрила) для подавления роста микроорганизмов.

Промывка системы прибора: После завершения очистки колонки не забудьте тщательно промыть всю ВЭЖХ-систему (насосы, инжектор, трубки и т.д.) бессолевыми растворителями, чтобы предотвратить долговременное повреждение системы остаточными ион-парными реагентами.

Резюме

В целом, основной метод работы с ион-парными реагентами заключается в соблюдении следующего: полное элюирование буферных солей с использованием высоководной фазы, медленное увеличение доли органической фазы и, наконец, длительная промывка чистой органической фазой.

Помните, терпение – это ключ к очистке хроматографических колонок. Длительная промывка большим количеством колоночных объемов более эффективна, чем агрессивная смена растворителей.

