

Препаративная ВЭЖХ

Наше путешествие приводит нас в сердце производства одной известной фармацевтической компании. Для получения чистых компонентов и поддержания качества продукции компания использует решения для препаративной хроматографии от Мерк Миллипор. Будучи профессионалом в своей области, наша задача заключается в обеспечении безопасных, быстрых и качественных условий для производства фармацевтических и химических продуктов. Мы предлагаем стандартизированные сорбенты и высокопроизводительные сорбенты из силикагеля, изготовляемые из сырья стабильно высокого качества. Таким образом, какой бы вариант процесса хроматографии не был бы выбран, результат всегда один: качество и надежность.

Препаративная ВЭЖХ	стр. 309
Оксид алюминия Для препаративной хроматографии	стр. 310
Стандартизованные силикагели	стр. 312
LiChroprep®	стр. 314
LiChrospher®	стр. 317
Другие сорбенты Для препаративной хроматографии	стр. 318
Микро-кристаллическая целлюлоза	стр. 319
Florisil®	стр. 320
Chromolith® Chromolith® – увеличение скорости, эффективности и производительности	стр. 321
Hibar® готовые к использованию колонки	стр. 322
Hibar® колонки, изготовленные под заказ Внутренний диаметр 25 и 50 мм	стр. 323
Масштабирование	стр. 324

Препаративная высокоэффективная жидкостная хроматография

Сорбенты и колонки

Препаративная колоночная хроматография играет важную роль в процессах очистки ценных соединений в научных исследованиях и промышленности. Преимуществом этого метода является высокий уровень чистоты соединений при быстром и экономичном методе разделения.

Мерк Миллипор специализируется на производстве стандартизированных сорбентов для препаративной хроматографии. Мы предлагаем широкий ассортимент продуктов для очистки АФС и промежуточных продуктов, которые разработаны для удовлетворения особых требований наших клиентов: Силикагель 60 это правильный выбор, если Вы ищете надежный сорбент для процессов адсорбции и нормально-фазовой хроматографии. Если Вам нужен силикагель для обращенно-фазовой хроматографии или более современный силикагель для нормально-фазовой хроматографии, мы рекомендуем силикагель нерегулярной формы LiChroprep® или сферический LiChrospher® - универсальные материалы, демонстрирующие быстрые, эффективные и воспроизводимые результаты разделения. Наш широкий ряд продуктов закрывают колонки Hibar®, которые полностью готовы к использованию.

С ростом нормативных требований в области сорбентов для хроматографии, становится важным работать с поставщиком, который ценит качество, надежность и предоставляет нормативно-правовую поддержку. Мерк Миллипор является крупнейшим производителем силикагелей для хроматографии - тысячи хроматографистов используют сорбенты нашего производства в своей повседневной работе по всему миру. Пользователи знают, что благодаря постоянно высокому качеству сорбентов Мерк Миллипор, они могут доверять своим результатам сегодня и завтра.

Оксид алюминия

Для препаративной хроматографии

М. С. Цветт открыл принцип хроматографии в 1903 году, используя оксид алюминия в качестве сорбента. Спустя год после этого события, Мерк Миллипор выпустил свои первые продукты для адсорбционной хроматографии.

Кристаллы оксида алюминия представляют собой октаэдрически и тетраэдрически связанную структуру атомов алюминия с атомами кислорода. Поверхность оксида покрыта свободными гидроксильными группами, а в структуре есть различные кислотные и основные центры (центры Бренстеда, центры Льюиса) которые влияют на способность обмениваться катионами и анионами.

Оксид алюминия обладает более высокой стабильностью к уровню pH, чем силикагель, особенно в щелочном диапазоне. Оксид алюминия встречается в разнообразных кристаллических формах с различным диаметром пор. Мы предлагаем оксид алюминия с размерами пор 6, 9 и 15 нм.

Стандартизированный в соответствии с методом Брокмана оксид алюминия 90 является сорбентом средней полярности. Данный сорбент часто используется, когда не требуются катионообменные свойства основного оксида алюминия. Кроме того, оксид алюминия используется в качестве альтернативы активированному углю, когда необходимо исключить органический характер сорбента.

Типичная техническая информация оксида алюминия

Сорбент	Характеристики	Удельная поверхность $S_{\text{ВЕТ}}$ [м ² /г]	Объем пор V_p [мл/г]	Размер частиц d_p [мкр]	pH	Активность Брокмана
Оксид алюминия 60	неправильная форма частиц оксида; размер пор: 6 нм (60 Å)	~160	0.3	63-200	9	I
Оксид алюминия 90	неправильная форма частиц оксида; размер пор: 9 нм (90 Å)	90-120	0.3	63-200	4, 7, 9	I, II-III
Оксид алюминия 150	неправильная форма частиц оксида; размер пор: 15 нм (150 Å)	60-90	0.3	63-200	9	I-II

Результаты процесса хроматографического разделения находятся в строгой зависимости от содержания воды в структуре сорбента. Вода сорбируется на его поверхности, снижая тем самым активность сорбента. В 1940 Брокманн и Шоддер открыли метод определения активности сорбента, используя различные виды красителей, путем сопоставления активности сорбента с фактором удерживания этих красителей. Таблица, представленная ниже, показывает необходимое количество воды, которое следует добавить к сорбенту, обладающим активностью I, чтобы достичь целевое число активности Брокмана.

Количество воды добавленной к сорбенту с активностью I для достижения целевой активности Брокмана

Добавлен. воды [%]	Активность [Брокманн]	Фактор удерживания [Rf] красителя
0	I	0.15
3	II	0.22
6	III	0.33
10	IV	0.44
15	V	0.65

Информация для заказа – сорбент на основе оксида алюминия

Продукт	Номер для заказа.	Активность	pH*	Количество
Оксид алюминия 60, активный, основной	1.01067.1000	I	9	1 кг
Оксид алюминия 60, активный, основной	1.01067.2000	I	9	2 кг
Оксид алюминия 90, активный, основной	1.01076.1000	I	9	1 кг
Оксид алюминия 90, активный, основной	1.01076.2000	I	9	2 кг
Оксид алюминия 90, активный, основной	1.01076.9020	I	9	20 кг
Оксид алюминия 90, активный, нейтральный	1.01077.1000	I	7	1 кг
Оксид алюминия 90, активный, нейтральный	1.01077.2000	I	7	2 кг
Оксид алюминия 90, активный, нейтральный	1.01077.9020	I	7	20 кг
Оксид алюминия 90, активированны, кислый	1.01078.1000	I	4	1 кг
Оксид алюминия 90, активированны, кислый	1.01078.2000	I	4	2 кг
Оксид алюминия 90, активированны, кислый	1.01078.9020	I	4	20 кг
Оксид алюминия 90, стандартизированный в соотв. с Брокманн.	1.01097.1000	II-III	9	1 кг
Оксид алюминия 90, стандартизированный в соотв. с Брокманн.	1.01097.5000	II-III	9	5 кг
Оксид алюминия 90, стандартизированный в соотв. с Брокманн.	1.01097.9050	II-III	9	50 кг
Оксид алюминия 150, основной	1.01061.1000	I-II	9	1 кг
Оксид алюминия 150, основной	1.01061.2000	I-II	9	2 кг

*pH 10%-ой водной суспензии

Стандартизированные силикагели

Стандартизированные силикагели для хроматографии от Мерк Миллипор изготавливаются традиционным методом на самом большом и современном в мире заводе. Такие силикагели широко используются в промышленных масштабах для процессов разделения и очистки особо ценных и важных соединений.

Стандартизированные силикагели изготавливаются специально для процессов адсорбционного разделения и хроматографии. Для удовлетворения любых потребностей мы предлагаем широкий диапазон силикагелей с разнообразными размерами частиц, а также различными вариантами упаковки от 500 гр до 400 кг. В качестве упаковки обычно используются ПЭВД материал, так как такая упаковка одобрена для использования в пищевой и фармацевтической промышленности. С нашим предложением разнообразных силикагелей Вы можете быть спокойны за свои результаты.



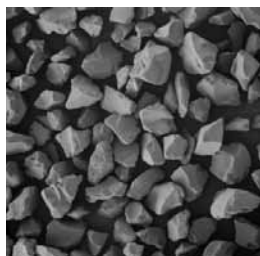
Типичная техническая информация стандартизированных силикагелей

Сорбент	Характеристики	Поверхность S _{ВЕТ} [m ² /g]	Объем пор: V _p [мл/г]	pH*	Содержание воды [%]
Силикагель 40	частицы неправильной формы; размер пор: 4 нм (40 Å)	600	0.6	7.0	< 7
Силикагель 60	частицы силикагеля нерегулярной формы; размер пор: 6 нм (60 Å)	500	0.8	7.0	< 7
Силикагель 100	частицы неправильной формы; размер пор: 10 нм (100 Å)	360	0.8	7.0	< 7

*pH 10%-ой водной суспензии

Информация для заказа - сорбент на основе силикагеля

Продукт	Номер для заказа.	Размер частиц	Распределение частиц по размеру	Количество
Силикагель 40	1.10180.1000	63-200 мкм	70-230 в соотв. с ASTM	1 кг
Силикагель 40	1.10180.5000	63-200 мкм	70-230 в соотв. с ASTM	5 кг
Силикагель 40	1.10180.9025	63-200 мкм	70-230 в соотв. с ASTM	25 кг
Силикагель 40	1.10181.1000	200-500 мкм	35-70 в соотв. с ASTM	1 кг
Силикагель 40	1.10181.9025	200-500 мкм	35-70 в соотв. с ASTM	25 кг
Силикагель 60	1.15111.1000	15-40 мкм	–	1 кг
Силикагель 60	1.15111.2500	15-40 мкм	–	2,5 кг
Силикагель 60	1.15111.9025	15-40 мкм	–	25 кг
Силикагель 60	1.09389.5000	35-70 мкм	200-400 в соотв. с ASTM	5 кг
Силикагель 60	1.09389.9025	35-70 мкм	200-400 в соотв. с ASTM	25 кг
Силикагель 60	1.09385.1000	40-63 мкм	230-400 в соотв. с ASTM	1 кг
Силикагель 60	1.09385.2500	40-63 мкм	230-400 в соотв. с ASTM	2,5 кг
Силикагель 60	1.09385.5000	40-63 мкм	230-400 в соотв. с ASTM	5 кг
Силикагель 60	1.09385.9025	40-63 мкм	230-400 в соотв. с ASTM	25 кг
Силикагель 60	1.07729.1000	< 63 мкм	> 230 в соотв. с ASTM	1 кг
Силикагель 60	1.07729.5000	< 63 мкм	> 230 в соотв. с ASTM	5 кг
Силикагель 60	1.07729.9025	< 63 мкм	> 230 в соотв. с ASTM	25 кг
Силикагель 60	1.15101.1000	63-100 мкм	170-230 в соотв. с ASTM	1 кг
Силикагель 60	1.15101.9025	63-100 мкм	170-230 в соотв. с ASTM	25 кг
Силикагель 60	1.07734.1000	63-200 мкм	70-230 в соотв. с ASTM	1 кг



LiChroprep® - один из наиболее удачных и надежных сорбентов, демонстрирующий быстрые, эффективные и воспроизводимые результаты разделения. LiChroprep® один из самых распространенных сорбентов, который используется в ВЭЖХ и хроматографии среднего давления. Его применение описано в нескольких сотнях литературных источников.

LiChroprep® - сорбент на основе силикагеля нерегулярной формы, характеризующийся:

- Воспроизводимой гомогенной матрицей на основе силикагеля
- Высокой проницаемостью и производительностью за счет четкого и определенного распределения размера частиц
- Отличной избирательностью и эффективностью
- Разнообразием областей применения
- Большим объемом поставок
- Доступностью нормативной документации

Классификация размеров пор частиц нерегулярной формы определяется интервалами 15-25 мкм, 25-40 мкм и 40-63 мкм.

LiChroprep® доступен в формате готовых к использованию колонок Hibar® 250-25 мм, а также в чистом виде различного объема.

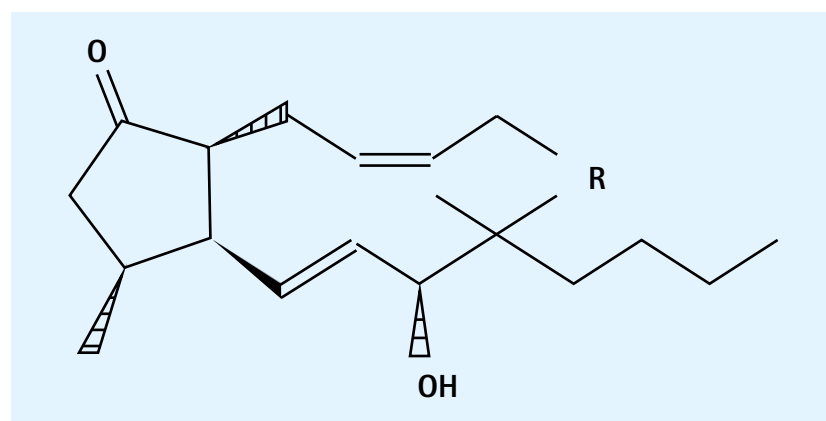
Типичная техническая информация LiChroprep®

Сорбент	Характеристики	Удельная поверхность $S_{\text{ВЕТ}}$ [м ² /г]	Объем пор V_p [мл/г]	Размер частиц d_p [мкм]	%C	Покрытие поверхности [мкмоль/м ²]
LiChroprep® Si 60	частицы силикагеля нерегулярной формы; размер пор: 6 нм (60 Å)	500	0.8	15-25 25-40 40-63	–	–
LiChroprep® NH ₂	частицы силикагеля нерегулярной формы с аминопропильными группами	300	1.0	15-25 25-40 40-63	3.5	3.0
LiChroprep® DIOL	частицы силикагеля нерегулярной формы с вицинальными гидроксильными группами на С-цепи; для специальной НФ-хроматографии	300	1.0	15-25 25-40 40-63	7	3.9
LiChroprep® RP-18	частицы силикагеля нерегулярной формы с октадецильными группами	300	1.0	15-25 25-40 40-63	16	3.0
LiChroprep® RP-8	частицы силикагеля нерегулярной формы с октильными группами	500	1.0	15-25 25-40 40-63	13	3.4
LiChroprep® CN	Частицы силикагеля нерегулярной формы с цианопропильными группами на С-цепи; для НФ- и ОФ-хроматографии	300	1.0	15-25 25-40 40-63	6	3.8

Информация для заказа LiChroprep®

Сорбент	Номер для заказа.	Размер частиц	Количество
LiChroprep® Si 60	1.09336.1000	15-25 мкм	1 кг
LiChroprep® Si 60	1.09336.9025	15-25 мкм	25 кг
LiChroprep® Si 60	1.09390.1000	25-40 мкм	1 кг
LiChroprep® Si 60	1.13905.0250	40-63 мкм	250 г
LiChroprep® Si 60	1.13905.1000	40-63 мкм	1 кг
LiChroprep® Si 60	1.13905.9025	40-63 мкм	25 кг
LiChroprep® RP-18	1.13901.0500	15-25 мкм	500 г
LiChroprep® RP-18	1.13901.9010	15-25 мкм	10 кг
LiChroprep® RP-18	1.09303.0100	25-40 мкм	100 г
LiChroprep® RP-18	1.09303.0500	25-40 мкм	500 г
LiChroprep® RP-18	1.09303.5000	25-40 мкм	5 кг
LiChroprep® RP-18	1.09303.9025	25-40 мкм	25 кг
LiChroprep® RP-18	1.13900.0250	40-63 мкм	250 г
LiChroprep® RP-18	1.13900.1000	40-63 мкм	1 кг
LiChroprep® RP-18	1.13900.9025	40-63 мкм	25 кг
LiChroprep® DIOL	1.13973.0250	40-63 мкм	250 г
LiChroprep® NH ₂	1.13974.0250	40-63 мкм	250 г
LiChroprep® NH ₂	1.13974.1000	40-63 мкм	1 кг
LiChroprep® CN	1.13959.0250	40-63 мкм	250 г
LiChroprep® RP-8	1.09362.0250	40-63 мкм	250 г
LiChroprep® RP-8	1.09362.1000	40-63 мкм	1 кг

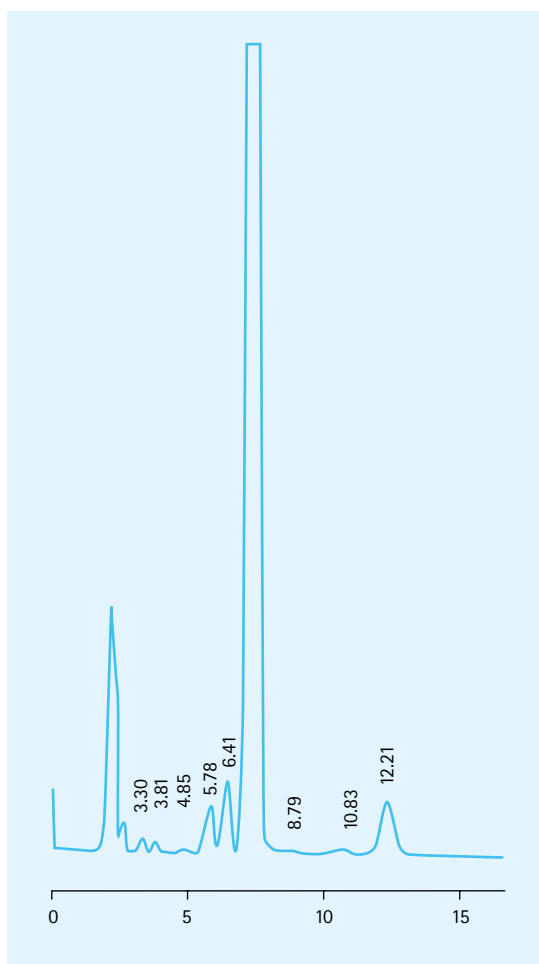
Химическая структура Простагландина



Пожалуйста посмотрите
информацию о применении
LiChroprep® для
Простагландина на стр. 334.

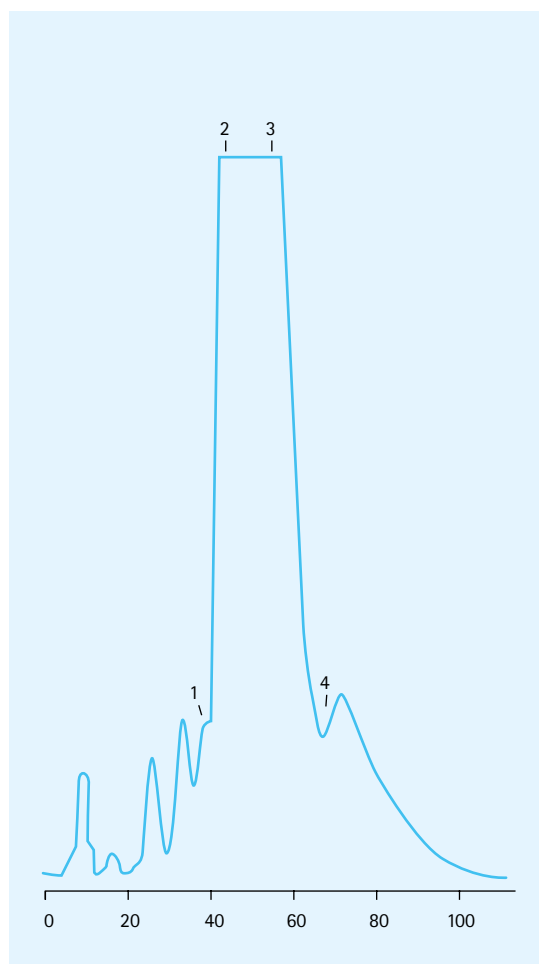
Сравнение аналитического метода ВЭЖХ и препаративной раздельной системы

Аналитический ВЭЖХ метод с LiChrosorb® Si 60, 250-4 мм



Колонка	LiChrosorb® Si 60, 250-4 мм	
Подвижная фаза	н-Гептан	96
	IPA	2.4
	MeOH	1.0
	ТГФ	0.6 (V/V)
Размер частиц	10 мкм	
Расход	1.5 мл/мин	
Детектирование	УФ 204 нм	
Образец	Простагландин	

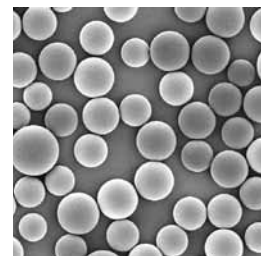
Препаративная разделяющая система с LiChrosorb® Si 60, 600-200 мм



Колонка	LiChrosorb® Si 60, 600-200 мм	
Подвижная фаза	н-Гептан	96
	IPA	2.4
	MeOH	1.0
	ТГФ	0.6 (V/V)
Размер частиц	25-40 мкм	
Расход	2.0 л/мин	
	200 гр в 5 л Элюента	
Образец	Простагландин	

LiChrospher®

LiChrospher® для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии представляет собой силикагель с частицами сферической формы, который изготавливается традиционным методом из силиката натрия. LiChrospher® имеет размер частиц 12 мкм с различной селективностью для обеспечения быстрой оптимизации хроматографического процесса. LiChrospher® доступен в виде готовых колонок Hibar® различной длины, а также в виде сорбентов для самостоятельного заполнения препаративных установок.



Типичная техническая информация о LiChrospher®

Сорбент	Характеристики	Удельная поверхность $S_{\text{ВЕТ}}$ [м ² /г]	Объем пор V_p [мл/г]	Размер частиц d_p [мкм]	%C	Покрытие поверхности [мкмоль/м ²]
LiChrospher® Si 60	Сферические частицы кремния со средним размером пор: 6 нм (60 Å)	700	0.9	12	–	–
LiChrospher® 100 RP-18	Сферические частицы высокочистого силикагеля с октадецильными группами	350	1.2	12	21.0	3.6
LiChrospher® 100 RP-18 endcapped	Сферические частицы кремния с октадецильными группами эндкепированные	350	1.2	12	21.0	3.6

Информация для заказа – LiChrospher®

Продукт	Номер для заказа.	Размер частиц	Количество
LiChrospher® Si 60	1.19654.0100	12 мкм	100 г
LiChrospher® Si 60	1.19654.1000	12 мкм	1 кг
LiChrospher® 100 RP-18	1.19656.0100	12 мкм	100 г
LiChrospher® 100 RP-18	1.19656.0500	12 мкм	500 г
LiChrospher® 100 RP-18e	1.19676.0100	12 мкм	100 г

► **Purospher® STAR RP-18 endcapped**
Самый лучший выбор
стр. 195

► **Purospher® STAR RP-8 endcapped**
Оптимизированы для более полярных соединений
стр. 212

► **Purospher® STAR Si (Силикагель) и NH₂ (Амино-фаза)**
стр. 214

► **Superspher®**
Силикагелевый носитель для высокоэффективного разделения
стр. 222

► **LiChrospher®**
Силикагелевый сорбент для высококлассных результатов
стр. 226

► **LiChrosorb®**
Силикагель нерегулярной формы
стр. 248

Другие сорбенты

Для препаративной хроматографии

Силанизированный силикагель 60 может быть альтернативным материалом для экономичного разделения, когда ОФ сорбенты слишком дороги. Производные силикагели обладают высокой нагрузочной емкостью, благодаря большой удельной поверхности, лежащей в его основе силикагеля 60.

Типичная техническая информация о силанизированном кремнии 60

Сорбент	Характеристики	Удельная поверхность $S_{\text{вст}}$ [m ² /g]	Объем пор V_p [мл/г]	Размер частиц d_p [мкм]
Силанизированный силикагель 60	частицы силикагеля нерегулярной формы; размер пор: 6 нм (60 Å)	500	0.8	63-200

Информация для заказа – Силанизированный силикагель 60

Продукт	Номер для заказа.	Размер частиц	Распределение частиц по размеру	Количество
Силанизированный силикагель 60 (произв. диметилсилана)	1.07719.0250	63-200 мкм	70-230 в соотв. с ASTM	250 г
Силанизированный силикагель 60 (произв. диметилсилана)	1.07719.1000	63-200 мкм	70-230 в соотв. с ASTM	1 кг

Информация для заказа – Florisil®

Продукт	Номер для заказа.	Размер частиц	Распределение частиц по размеру	Количество
Florisil®	1.12518.0100	150-250 мкм	60-100 в соотв. с ASTM	100 г
Florisil®	1.12518.1000	150-250 мкм	60-100 в соотв. с ASTM	1 кг
Florisil® для остаточного анализа	1.12994.0100	150-250 мкм	60-100 в соотв. с ASTM	100 г
Florisil® для остаточного анализа	1.12994.1000	150-250 мкм	60-250 в соотв. с ASTM	1 кг

Микрокристаллическая целлюлоза

Микрокристаллическая целлюлоза представляет собой гидрофильный полисахарид, который в основном используется для разделения сырьевых продуктов таких как аминокислоты и родственных им соединений. Целлюлоза также используется для тонкой очистки биомолекул. Ввиду органической природы целлюлозы ее применение возможно при низком или гидростатическом давлении.

Информация для заказа – Целлюлоза для набивки

Продукт	Номер для заказа.	Размер частиц	Количество
Микрокристаллическая целлюлоза Avicel®	1.02331.0500	20-160 мкм	500 г
Микрокристаллическая целлюлоза Avicel®	1.02331.2500	20-160 мкм	2,5 кг
Микрокристаллическая целлюлоза Avicel®	1.02331.9025	20-160 мкм	25 кг



Florisil® представляет собой полярный высокоселективный силикат магния с приблизительной формулой MgO/SiO_2 (15/85). Такое соотношение удобно для разделения стероидов, алкалоидов, антибиотиков и т.д. Эта неподвижная фаза также используется для пробоподготовки образцов для анализа остаточного количества пестицидов, а также для анализа хлорированных углеводов.

Для пробоподготовки в случае с пестицидами обычно используется специально очищенный и активированный Florisil® (Кат. No. 112994). Нормальная температура активации для Florisil® 650°C, в то время как активация при 260°C приводит к снижению активности материала.

Типичная техническая информация Florisil®

Состав	MgO 15.5% / SiO ₂ 84.0% / Na ₂ SO ₄ 0.5%
pH	8.5
S_{ВЕТ}	300 м ² /г
Удельный вес	2.5 г/мл
Пористость	56%
Кислотность поверхности (PK.)	1.5

Информация для заказа – Florisil®

Продукт	Номер для заказа.	Размер частиц	Распределение частиц по размеру	Количество
Florisil®	1.12518.0100	150-250 мкм	60-100 в соотв. с ASTM	100 г
Florisil®	1.12518.1000	150-250 мкм	60-100 в соотв. с ASTM	1 кг
Florisil® для остаточного анализа	1.12994.0100	150-250 мкм	60-100 в соотв. с ASTM	100 г
Florisil® для остаточного анализа	1.12994.1000	150-250 мкм	60-250 в соотв. с ASTM	1 кг

Chromolith® Prep

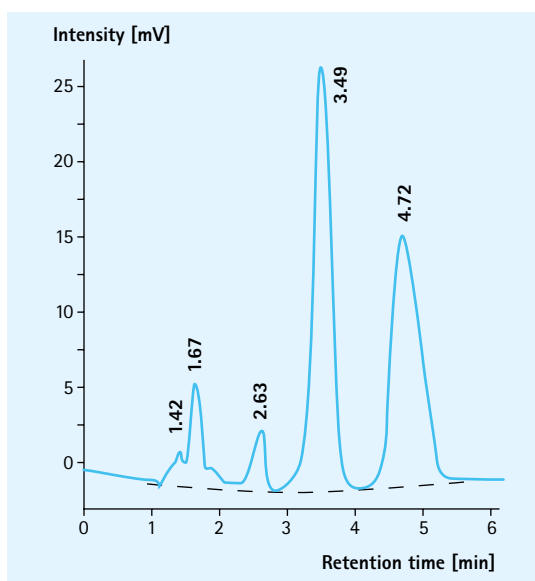
Chromolith® – увеличение скорости, эффективности и производительности

Для ознакомления с более детальной технической информацией и примерами разделения, пожалуйста, посмотрите страницы про Chromolith® Prep в главе про аналитическую ВЭЖХ на стр. 180.

Разделение α - и δ -Токоферола подсолнечного масла при различных скоростях потока

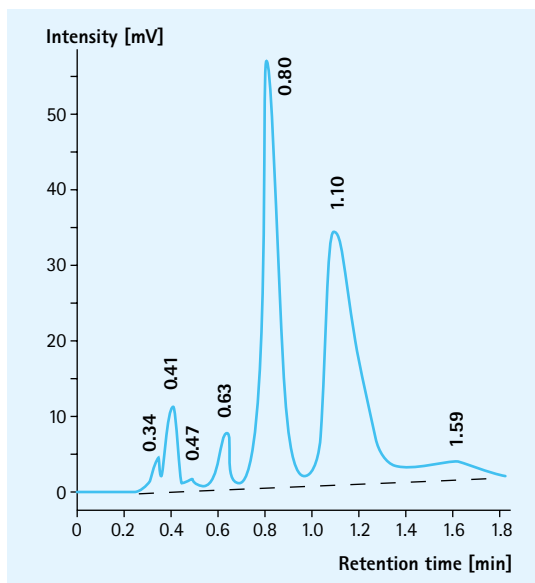
Chromolith® Prep 100-25 мм, поток 40 мл/мин

Колонка	Chromolith® Prep 100-25 мм
Растворитель	н-Гептан / Диоксан (80/20 v/v)
Расход	40 мл/мин
Образец	Подсолнечное масло



Chromolith® Prep 100-25 мм, поток 160 мл/мин

Колонка	Chromolith® Prep 100-25 мм
Растворитель	н-Гептан / Диоксан (80/20 v/v)
Расход	160 мл/мин
Образец	Подсолнечное масло



► **Chromolith® RP-18 endcapped**
Chromolith® RP-18 endcapped являются самыми быстрыми колонками C-18 в мире.

стр. 148

► **Chromolith® Si**
стр. 166

Hibar® готовые к использованию КОЛОНКИ

После оптимизации разделения с использованием аналитических колонок, параметры метода можно с легкостью перенести, используя готовые колонки Hibar® с внутренним диаметром 25 мм или 50 мм. Такой размер удобен для разделения с содержанием конечного продукта на уровне от мг до гр.

Hibar® представляют собой готовые к использованию колонки, которые могут быть с легкостью соединены с любой системой ВЭЖХ, используя стандартные 1/16 коннекторы. Для заполнения доступен широкий ряд сорбентов LiChrospher® или LiChroprep®. Сорбенты произведенные Мерк Миллипор подвергаются тщательной проверке; для каждого сорбента тестируются множество различных параметров. Поэтому их производительность сохраняется в течении многих лет.



Hibar® колонка 250-25 мм

► **Purospher® STAR RP-18 endcapped**
Самый лучший выбор

стр. 195

► **Purospher® STAR RP-8 endcapped**
Оптимизированы для более полярных соединений

стр. 212

► **Purospher® STAR Si (Силика) and NH₂ (Амино-фаза)**

стр. 214

► **Superspher®**
Силикагельный носитель для высокоэффективного разделения

стр. 222

► **LiChrospher®**
Силикагельный сорбент для высококласных результатов

стр. 226

► **LiChrosorb®**
Силикагель нерегулярной формы

стр. 248

Информация для заказа – Hibar® готовые колонки, 25 мм внутренний диаметр

Сорбент	Номер для заказа.	Размер частиц	Длина колонки	Внутренний диаметр	Количество в упаковке
LiChrospher® 100 RP-8	1.51482.0001	5 мкм	250 мм	25 мм	1 колонка, 2 коннектора 1/8"-1/16"
LiChrospher® 100 RP-18	1.51483.0001	5 мкм	250 мм	25 мм	1 колонка, 2 коннектора 1/8"-1/16"
LiChrospher® 60 RP-select B	1.51484.0001	5 мкм	250 мм	25 мм	1 колонка, 2 коннектора 1/8"-1/16"
LiChrospher® Si 60	1.51485.0001	5 мкм	250 мм	25 мм	1 колонка, 2 коннектора 1/8"-1/16"
LiChrospher® 100 RP-18e	1.51478.0001	5 мкм	250 мм	25 мм	1 колонка, 2 коннектора 1/8"-1/16"

Hibar® колонки, изготовленные под заказ

Внутренний диаметр 25 и 50 мм

Если для Ваших нужд часто требуется заменять колонки, но Вы предпочитаете приобретать готовые колонки со специфичными сорбентами, отличным решением послужат индивидуально заполненные колонки.

Доступны сорбенты для универсального или специального применения

- LiChrospher® и LiChroprep® сорбенты для стандартного и специального применения
- Наше отличие - воспроизводимое качество от партии к партии
- Колонки доступны с внутренним диаметром в 25 и 50 мм и различной длины



Информация для заказа – HiBar® колонки изготовленные под заказ

Сорбент	Номер для заказа.	Длина колонки	Внутренний диаметр	Количество в упаковке
Индивидуальная упаковка для ОФ-материалов	1.50099.0001	250 мм	50 мм	1 колонка и набор соединителей
Индивидуальная упаковка для Si, CN, Diol, NH ₂ материалов	1.50092.0001	250 мм	50 мм	1 колонка и набор соединителей
Индивидуальная упаковка	1.50004.0001	250 мм	25 мм	1 колонка, 2 коннектора 1/8"-1/16"
Индивидуальная упаковка	1.50016.0001	125 мм	25 мм	1 колонка, 2 коннектора 1/8"-1/16"
Индивидуальная упаковка	1.50018.0001	75 мм	25 мм	1 колонка, 2 коннектора 1/8"-1/16"
Индивидуальная упаковка	1.50323.0001	30 мм	25 мм	1 колонка, 2 коннектора 1/8"-1/16"

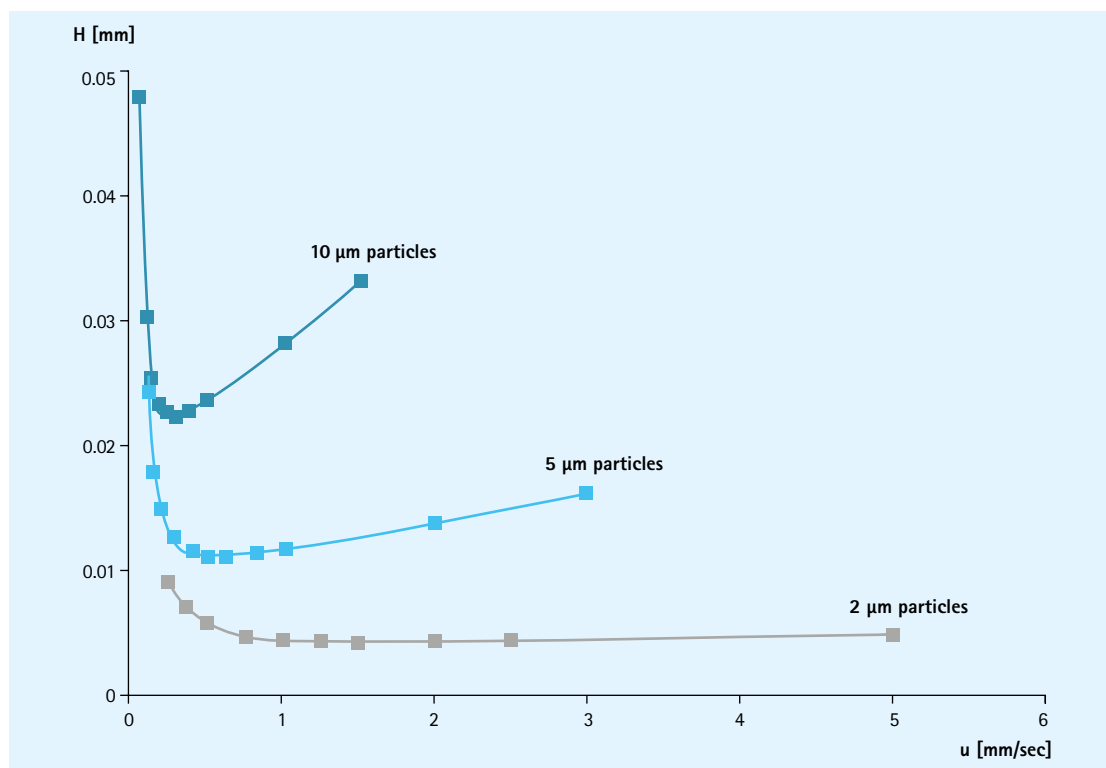
► HiBar® набитые колонки
стр. 322

Масштабирование процесса разделения

Всякий раз, когда возникает необходимость перенести ВЭЖХ метод с одной колонки на колонку с другими параметрами, заменить сорбент с иным размером частиц, или с одного инструмента на другой (например с аналитического уровня на препаративный или капиллярный уровень), необходимо учитывать влияния очень многих параметров системы.

Для того чтобы успешно перенести метод, расширить параметры разделения, необходимо надлежащим образом учесть такие физические параметры как скорость потока, внутренний диаметр колонки, размер ячейки детектора, объем вводимой пробы. Ошибочный учет этих параметров ведет к неправильному масштабированию процесса разделения.

График Ван Димтера. Для разных размеров частиц при разных линейных скоростях.



Скорость потока как функция внутреннего диаметра колонки при постоянной линейной скорости.

Колонка (внутр. диам.)	Скорость потока
50 мм	120 мл/мин
25 мм	30 мл/мин
10 мм	5 мл/мин
4.6 мм	1 мл/мин
3.0 мм	0.4 мл/мин
2.1 мм	0.2 мл/мин
1.0 мм	0.05 мл/мин

Обратный масштаб

Когда есть необходимость в масштабировании процесса разделения в обратную сторону, нужно с особым вниманием учесть экстремально объемы в колонке, чтобы избежать потери эффективности процесса. Начальные параметры колоноки могут различаться в зависимости от конкретного применения и общей практики лаборатории.

Например, при контроле качества продукции в фармацевтическом производстве обычно используют длинные (150 или 250 мм) колонки с внутренним диаметром в 4.6 мм в комбинации с УФ или RI детекцией. В данной области наблюдается потребность в оптимизации метода путем сокращения внутреннего диаметра до 3.0 или 2.1 мм при той же длине колонки.

Другие пользователи уже могут использовать колонки с внутренним диаметром 2.1 или 1.0 мм и у них есть потребность в переносе своего метода на капиллярный масштаб, что также требует замены ВЭЖХ системы. В этом случае, помимо учета размеров колонки, необходим точный учет параметров хроматографической системы. Например, такой фактор как оптимальная массовая загрузка образца должен быть строго принят во внимание, так как этот фактор является функцией площади поперечного сечения колонки.

Объем колонки длиной 10 см с наиболее популярным внутренним диаметром

Внутр.диам. трубки [мм]	Трубка [цвет]	Объем [дюйм]	Объем [мл]
0.064	натуральный	0.025	0.32
0.13	красный	0.05	1.3
0.17	желтый	0.07	2.3
0.25	синий	0.10	4.9
0.50	оранжевый	0.20	20

Если Вы рассматриваете масштабирование процесса разделения с аналитической колонки с внутр. диам. в 4.6 мм, хорошей альтернативой может послужить колонки с внутр. диам. 3.0 мм. Такие колонки позволят значительно сэкономить растворитель (~60%) и получить высокую чувствительность без какого-либо изменения параметров системы. Эффект мертвого объема в данном случае незначителен.

Если у Вас есть потребность сократить расход растворителя, достичь более высокой чувствительности процесса разделения, и/или количество анализируемой пробы лимитировано, то наиболее подходящим решением будет замена колонки на колонку с более узким внутренним диаметром (например 2.1 или 1.0 мм). При использовании колонки с внутренним диаметром в 2.1 или 1.0 мм, но с сохранением такой же длины, как у колонки с диаметром 4.6 мм, экономия растворителя составляет около 80% и 95% соответственно. Однако, для того чтобы не потерять в эффективности процесса разделения, необходимо совершить некоторые изменения в самом хроматографе. Заменить трубы на более узкие и потоковые ячейки на полу-микро / микро размеры при использовании УФ детекции.

Снижение эффективности с большим мертвым объемом

Пустой объем, также называемый как мертвый объем, является общим объемом жидкости между инжектором и детектором. Величина мертвого объема определяет время (t_0) при котором соединения достигают детектора и не удерживаются в сорбенте (разделяющим материале).

Мертвый объем ($V_{\text{мертв.}}$ или V_0) определяется как сумма объемов до и после колонки.

$$V_0 = V_{\text{мертв}} = V_{\text{колонк}} + V_{\text{экстра}}$$

Мертвым объемом колонки ($V_{\text{колонк}}$) называется объем пор и пустот между отдельными частицами материала, которым заполнена колонка. При постоянных размерах колонки, ее мертвый объем также является постоянным и независит от размера частиц сорбента. Однако важным источником в размывании зон хроматографической системы является объем до и после хроматографической колонки ($V_{\text{экстра}}$), например объем петлевого дозатора хроматографа, соединительных труб и детектора.

С целью не потерять в эффективности, которую демонстрирует высококачественная колонка и минимизации размывания зон, все используемые соединительные трубы должны быть короткими, с минимально возможным внутренним диаметром. Уменьшение внутреннего диаметра имеет свой практический предел, так как при этом увеличится обратное давление и вероятность случайного засорения системы. Очевидно, что на размывание зон никак не влияет объем между насосом и инжектором, но все же его высокая величина нецелесообразна, поскольку переключение между элементами может занять неоправданно много времени.

Объемы инъекции

Объемы инъекции такие же как и в аналитическом разделении, ранжируются от 1 до 100 мкл (для примера см. в таблицу ниже). При инъекции постоянных объемов через петлевой дозатор, минимальное размывание зон достигается при использовании более длинных труб с меньшим внутренним диаметром.

В трубах с ламинарным потоком, дисперсия пропорциональна квадратному корню из длины и квадрату радиуса трубы соответственно. Это объясняет причину того, что трубы с меньшим внутр. диаметром дают меньший эффект в размывании зон.

Подходящие объемы инъекции для различных внутренних диаметров

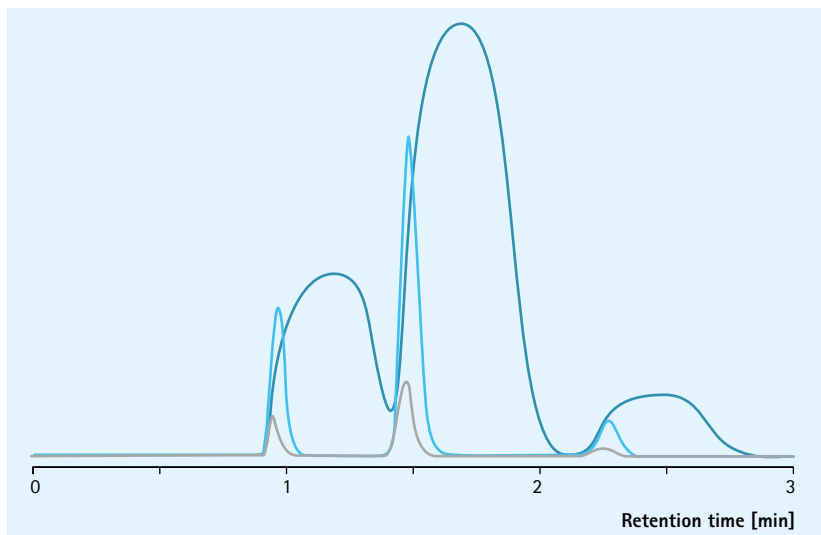
Колонка (внутр. диам.)	Объем пробы
1 мм	0.05-1 мл
2 мм или 2.1 мм	0.2-5 мл
3 мм	1-20 мл
4 мм или 4.6 мм	5-80 мл
7.5 мм	10-150 мл
10 мм	30-500 мл
25 мм	200-3000 мл

Объемная перегрузка

Инъекция чрезмерного объема образца может послужить следствием объемной перегрузки, которая значительно снизит эффективность разделения. В крайних случаях объемная перегрузка может выдать плоские и сильно искаженные пики, как показано на рисунке.

Наложение хроматограмм с увеличением объема инъекции

Колонка	50 x 4.6 мм, 5 мкм частицы
Объемы инъекции	3 мкл 20 мкл 200 мкл

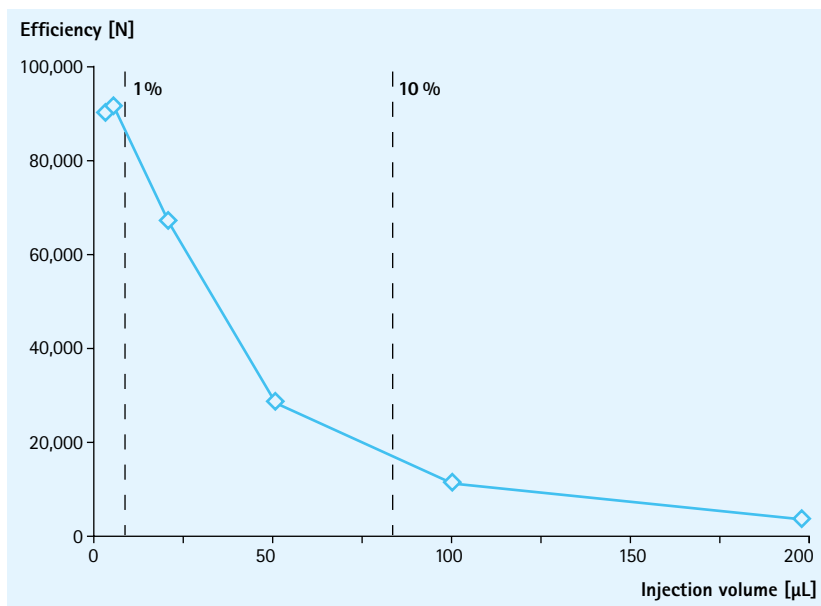


Эффективность разделения

Чтобы сохранить максимальную эффективность разделения, объем инъекции не должен превышать 1% от общего объема колонки (см. рисунок). Также следует отметить, что если вводится 10% от общего объема колонки, то от эффективности колонки останется около 20%.

Эффективность колонки с различными объемами инъекции

Колонка	50 x 4.6 мм
Подвижная фаза	Аналит k = 1.6



Массовая перегрузка

Введение избыточной массы образца также значительно снижает эффективность системы. Снижение эффективности в данном случае имеет другой характер в отличие от введения избыточно объема образца. Массовая перегрузка приводит к сокращению времени удерживания, и пики не соответствуют Гауссовому распределению (см. рисунок).

Увеличение количества аналитов в одной пробе также вызывает массовую перегрузку. Таблица иллюстрирует рекомендованное количество образца на определенный внутренний диаметр колонки. Образцы с меньшей массовой нагрузкой демонстрируют пики с распределением по Гауссу, но с увеличением массы, форма пиков становится треугольной, Ленгмюра (с левым уклоном) или анти-Ленгмюра (прямоугольные). Данную закономерность можно объяснить наличием нелинейной части изотермы адсорбции (нелинейная хроматография). В препаративной хроматографии, как правило, сознательно проводят разделение в условиях перегрузки, в отличие от аналитического разделения, где Гауссова форма пиков важна для анализа.

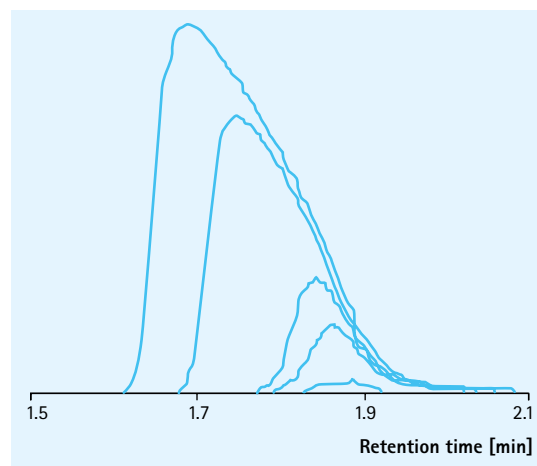
Рекомендованная массовая нагрузка

Колонка (внутр. диам.)	Количество образца
1 мм	0.05 мг
2 мм или 2.1 мм	0.2 мг
3 мм	1 мг
4 мм или 4.6 мм	5 мг
7.5 мм	10 мг
10 мм	30 мг
25 мм	200 мг

Рекомендованная массовая нагрузка не оказывает негативного влияния на эффективность при разделении на аналитической колонке. Массовая нагрузка в конечном счете зависит от сложности самого образца, его растворимости и способности к удержанию в колонке.

Удержание пара-аминобензойной кислоты на Chromolith® RP-18 endcapped, 100-10 мм

Колонка	Chromolith® RP-18 endcapped 100-10 мм
Подвижная фаза	Ацетонитрил:вода / 5:95 (v/v) Уксусная кислота 0.1%
Объем пробы	200 мкл
Образец	Растворен в мобильной фазе с уровнем концентрации 0.1-50 мг/мл

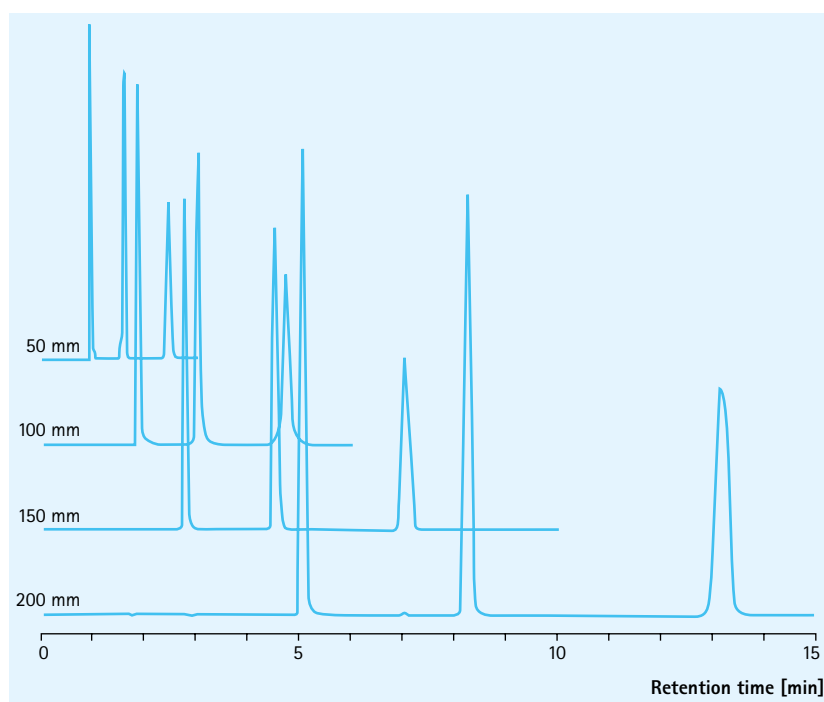


Масштабирование длины колонки

Масштабирование процесса разделения может включать масштабирование длины колонки. Масштабирование длины необходимо либо для сокращения времени циклов инъекций, либо для достижения более высокой пиковой ёмкости и терпимости к матричным эффектам. Рисунок иллюстрирует процесс разделения на колонках с одинаковой эффективностью. С более короткой колонкой разделение идет быстрее, а с более длинной Вы можете ожидать более высокое разрешение и пиковую ёмкость.

Разделение толуола, урацила и цитозина на колонке ZIC®-HILIC (4.6 мм внутр. диам.)

Колонка	ZIC®-HILIC 4.6 мм
Подвижная фаза	Ацетонитрил 80:20 (v/v) / Буфер ацетата аммония 25 мм, рН 6.8
Расход	0.5 мл/мин
Образец	Толуол Урацил Цитозин



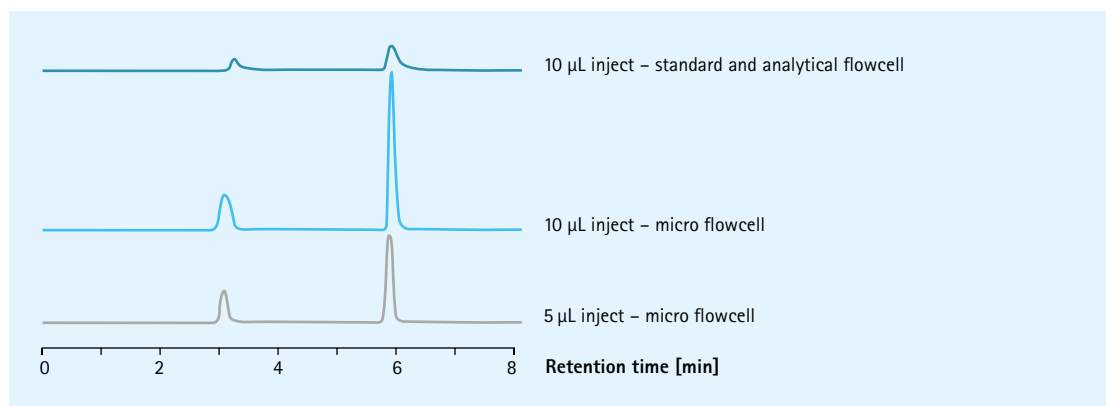
Влияние инструмента

При транспонировании метода очень важно учесть влияние инструментальной части хроматографической системы. При градиентном режиме, пользователи должны обратить внимание на общий объем системы, где значительный вклад вносит смеситель. Влияние смесителя может разрушить все попытки по транспонированию вследствие задержки в градиентном профиле. Этот эффект проявляется больше с уменьшением внутреннего диаметра колонки. Тем не менее, этот эффект легко можно избежать, заменив стандартный смеситель на другой с меньшим объемом.

Помимо возможных ошибок в градиентном режиме, описанных выше, смеситель также оказывает небольшое влияние на хроматографическую эффективность. Чего нельзя сказать о детекторах. В жидкостной хроматографии детектор является потоковой единицей системы, поэтому характер детектора и его дизайн могут оказать значительное влияние на производительность разделения.

На рисунке продемонстрированы результаты разделения на ВЭЖХ системе с УФ-детектором. Использовалась колонка 150x2.1 мм, а расход составил 0.1 мл/мин. Были введены различные объемы образца 5 и 10 мкл, что соответствует одному и двум процентам от общего объема колонки соответственно. Использовались как полумикро проточная кювета (2.5 мкл), так и стандартная (8 мкл). Для колонок с внутренним диаметром 2.1 мм и меньше рекомендуется использовать полумикро потоковые кюветы, в то время как для колонок с внутренним диаметром от 3.0 мм до 7.5 мм рекомендованы стандартные кюветы.

Эффекты от объемов инъекций и проточной кюветы детектора



Эксперименты проводились на одной и той же системе с колонкой 150-2.1 мм.

Увеличение масштаба

Препаративная ВЭЖХ является незаменимым инструментом в процессах разработки лекарственных средств. В зависимости от количества образца, полупрепаративное ВЭЖХ разделение может быть проведено в аналитическом масштабе на колонках с внутренним диаметром в 5 мм или меньше, или на препаративном уровне с большими колонками. Переход от аналитического уровня к препаративному обычно рассматривается как сложная задача. Исторически сложилось мнение о том, что характер разделения препаративной ВЭЖХ колонки отличается от аналитической. Но на сегодняшний день некоторые производители предлагают фазы, которые легко масштабируются на различные уровни.

Традиционный способ производства колонок для ВЭЖХ включает стадию суспензионного заполнения стационарной фазой с использованием насосов, при этом характер (эффективность и асимметрия пиков) аналитических и препаративных колонок различается. Технология суспензионного заполнения хорошо уплотняет слои сорбента, но колонки с большим диаметром (такие как препаративные) имеют меньшую площадь поверхности на грамм стационарной фазы и при шаге декомпрессии плотность и производительность в таких колонках снижается. Поэтому использование традиционного силикагеля с размером частиц в 5 мкм становится неэффективным. Препаративные колонки, как правило, заполняются материалом с размером частиц 10 мкм и более.

В полупрепаративном / препаративном режиме, для того чтобы обеспечить максимальную производительность, разделение обычно проводят в условиях перегрузки (как массы так и объема), поэтому при масштабировании с препаративного на аналитический уровень очень важно это учесть. Анализ перегрузок, как правило, проводят на аналитических колонках, для того чтобы полученные данные по характеру перегрузок могли быть с легкостью перенесены на препаративный уровень.

Проведение предварительных исследований по перегрузкам на аналитическом уровне несет в себе очевидный экономический смысл. При запуске исследований по определению эффективной загрузки системы образцом с аналитами сразу в масштабах препаративного уровня несет в себе определенные неоправданные расходы: высокая стоимость препаративной хроматографической системы, большой расход подвижной фазы и многократный, холостой ввод образцов с аналитами. Во избежание таких затрат, целесообразно провести предварительные исследования такого метода на аналитическом уровне для его последующей модификации и определения максимальной эффективности. При разработке метода или его транспонировании с аналитического на препаративный уровень также очень важно учитывать различия в характере самих хроматографических систем (давление и т.п.) и различия колонок от разных производителей и их характер (размеры и тип).

Расчеты при масштабировании

Существуют различные способы для расчета при масштабировании процесса хроматографии. Ниже показано уравнение.

$$\frac{X_{\text{ан}}}{\pi r_{\text{ан}}^2} = \frac{X_{\text{пр}}}{\pi r_{\text{пр}}^2} \cdot \frac{1}{C_L}$$

X_{ан}	Расход подвижной фазы аналитической системы	
X_{пр}	Расход подвижной фазы препаративной системы	$X_{\text{пр}} = X_{\text{ан}} \cdot r_{\text{пр}}^2 \cdot c_{\text{дл}} / r_{\text{ан}}^2$
r_{ан}	Радиус аналитической колонки	
r_{пр}	Радиус препаративной колонки	
c_{дл}	Длина препаративной колонки к длине аналитической колонки	
C/L	Масса субстанции	$M_{\text{пр}} = M_{\text{ан}} \cdot r_{\text{пр}}^2 \cdot c_{\text{дл}} / r_{\text{ан}}^2$

Линейное масштабирование аналитического уровня на преп./полупреп. при трех расходах подвижной фазы

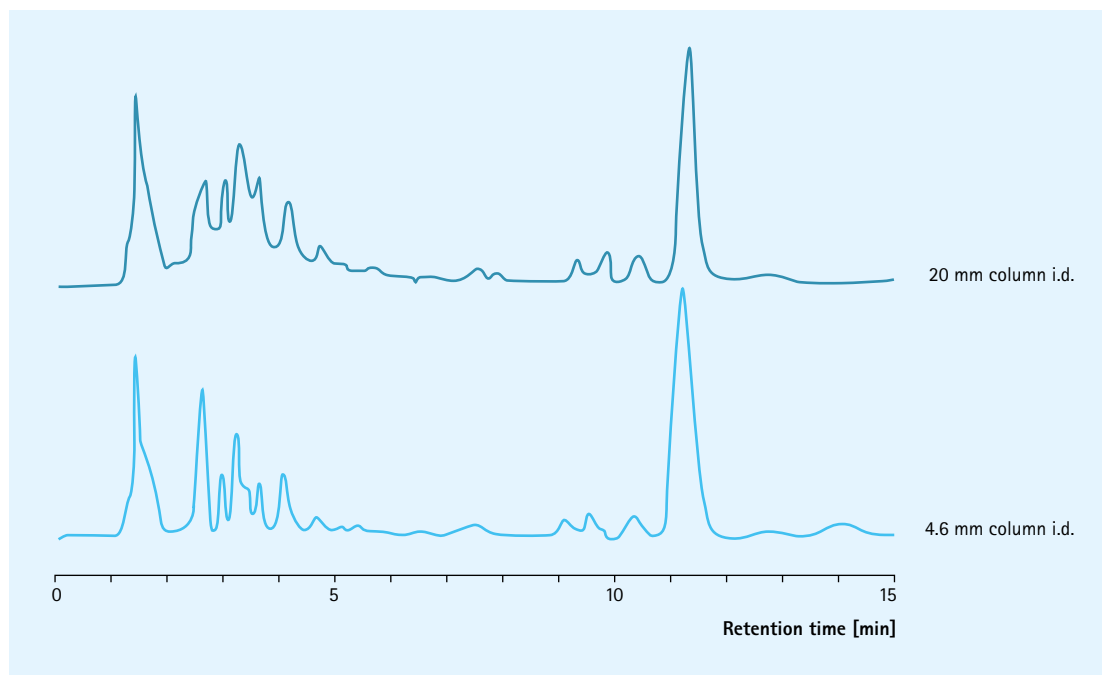
Длина и внутренний диаметр [мм]	Скорость потока 1	Скорость потока 2	Скорость потока 3
250-4 мм	0.5 мл/мин	1 мл/мин	2 мл/мин
250-25 мм	19.5 мл/мин	39 мл/мин	78 мл/мин
250-50 мм	78 мл/мин	156 мл/мин	312 мл/мин
250-100 мм	312 мл/мин	625 мл/мин	1250 мл/мин
250-200 мм	1250 мл/мин	2500 мл/мин	5000 мл/мин
250-300 мм	2812 мл/мин	5625 мл/мин	11250 мл/мин

Практические примеры аналитического и препаративного масштабирования

В следующем разделе представлены примеры масштабирования с аналитического уровня на более высокий.

Первый пример иллюстрирует масштабирование процесса хроматографического разделения аскорбиновой кислоты на колонке ZIC®-HILIC с внутренним диаметром в 4.6 мм на колонку с диаметром в 20 мм. В систему вводился большой объем образца (около 10% от общего объема колонки). Аналитическое разделение проводилось при расходе подвижной фазы в 1.0 мл/мин с объемом инъекции в 250 мкл. С поправкой на объемные эффекты и при той же длине колонки масштабирование на колонку диаметром в 20 мм соответствует расходу в 20 мл/мин. Как видно из рисунка получен один и тот же результат в обоих случаях. Этот пример демонстрирует возможности масштабирования на колонках ZIC®-HILIC без потери разрешения.

Масштабирование разделения аскорбиновой к-ты из белого вина; колонка ZIC®-HILIC с вн. диам. в 4.6 мм на 20 мм



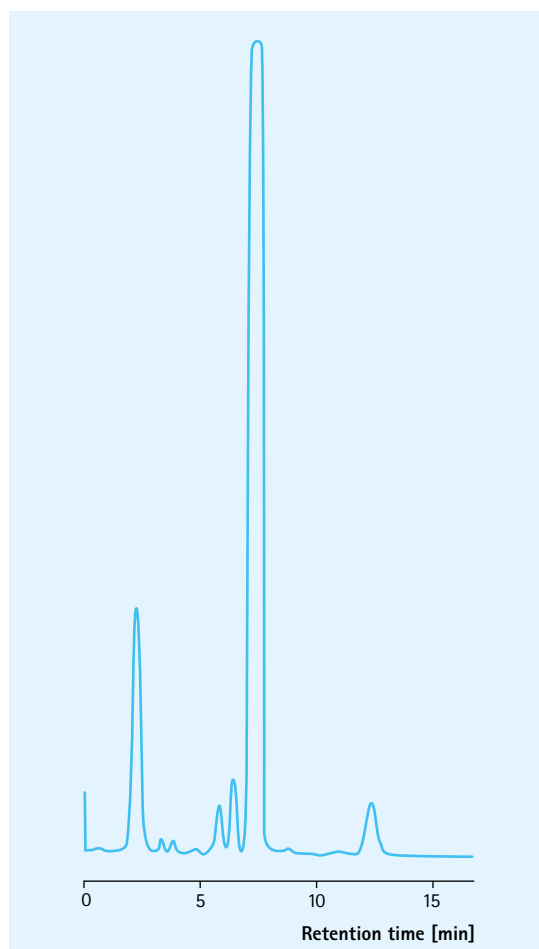
Масштабирование разделения | Практические примеры масштабирования

Применение LiChroprep® для Простогландинов

Следующий пример это применение LiChroprep® для Простогландинов, где аналитическое разделение было проведено при 1.5 мл/мин на 250-4 мм LiChrosorb® Si 60 с размером частиц 10 мкм.

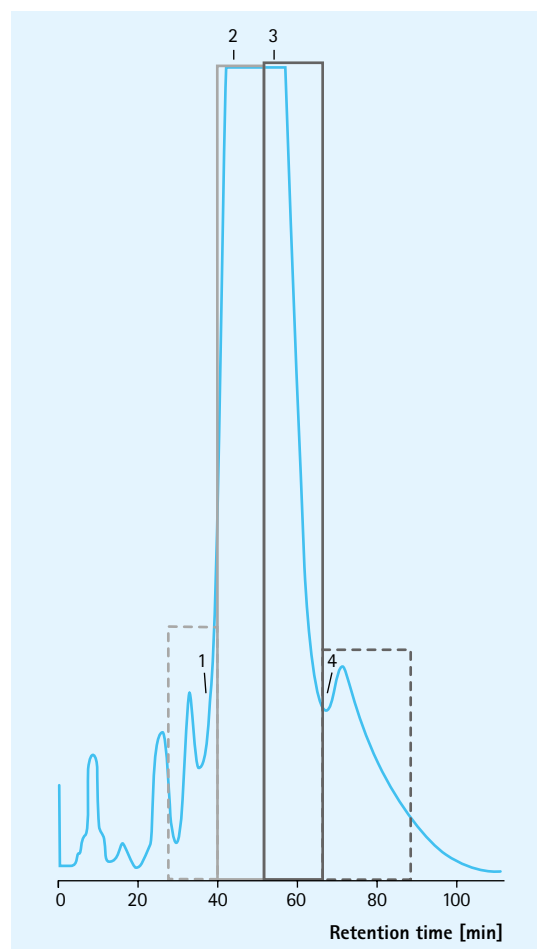
Хроматограмма (А) показывает достаточно четкий главный пик (после 7.5 минут) с момента переноса процесса разделения на колонку с большим внутренним диаметром. На рисунке (В) тот же образец (но с намного большей загрузкой) очищается при 2.0 л/мин на 600x200 мм LiChroprep® Si 60 с размером частиц 25-40 мкм. Данный пример иллюстрирует перенос скорости потока с учетом внутреннего диаметра колонки. Общее время процесса разделения в таком случае увеличивается, потому как длина колонки была скорректирована для большей нагрузки. В хроматограмме (В), наблюдается 4 различных фракционных зоны для определения чистоты простогландина.

А. LiChrosorb® Si 60, 10 мкм



(А) Аналитическое разделение образца простогландина при 1.5 мл/мин на 250-4 мм LiChrosorb® Si 60 с размером частиц в 10 мкм.

В. LiChroprep® Si 60, 25-40 мкм

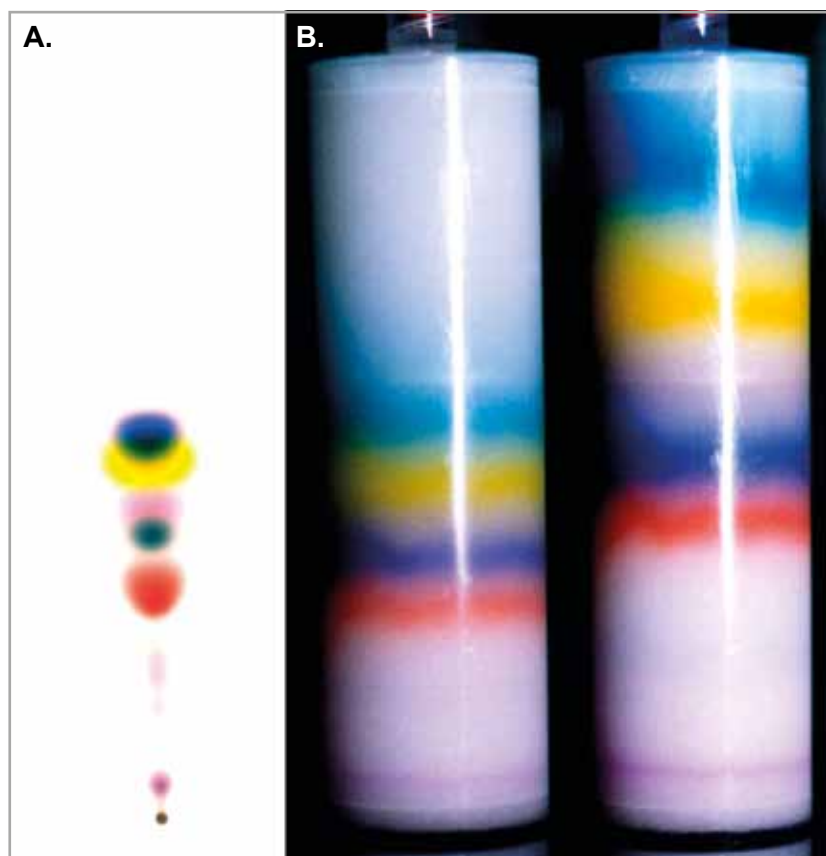


(В) Масштабирование разделения пробы простогландина (но с большей загрузкой) проводилось при 2.0 л/мин на 600-200 мм LiChroprep® Si 60 с 25-40 мкм частицами.

Альтернативное масштабирование – от ТСХ к препаративной ВЭЖХ

С развитием фармацевтической промышленности и открытием новых лекарственных средств все больше соединений требуется очищать от экстрактов и комбинаторных библиотек для последующего анализа. Традиционные технологии очистки и разделения, такие как препаративная ТСХ или кристаллизация (низкая пропускная способность) могут стать серьезным ограничением в лаборатории, но эти методы очень полезны для быстрого применения. Данная тема не будет детально разбираться в этом разделе, более подробная информация размещена на нашем веб-сайте www.merck-chemicals.com/chromatography. Там же Вы сможете найти информацию о новых возможностях комбинации очистки и разделения соединений с использованием ТСХ и масс-спектрометрического детектирования, например TLC/HPTLC-DART-MS, TLC/HPTLC-MALDI-MS и TLC/HPTLC-ESI-MS. ТСХ может быть также рассмотрена как быстрый метод анализа для предсказания оптимальных условий для запуска препаративного разделения.

Перенос метода с ТСХ на



(А) Разработка метода с использованием ТСХ
Силикагель 60

(В) Перенос метода с ТСХ на флэш-хроматографию
с сохранением тех же условий процесса