

Pojem „HPLC kolony“ obvykle odkazuje na kolony analytické, protože ty jasně dominují co se týče počtu. Skupina zahrnuje typy s vnitřním průměrem 2 až 6 mm - nepoužívanější průměr je 4.6 mm. Labio vyrábí tyto kolony (a mikrokolony) také, ale v naší produkci hrají hlavní roli kolony pro chromatografii preparativní. Zatímco analytické kolony představují precizní nástroj, jehož vývoj je v základě ukončen, preparativní kolony jsou dobrodružný živel. Fakt, že zahrnují kolony s průměrem 20 mm stejně jako „obry“ průměru až 1 m, plastové a skleněné pro tlaky několik barů, stejně jako silnostěnné vysokotlaké ocelové „kanóny“ pro tlaky několik set barů, ilustruje různorodý a rychle se rozvíjející charakter těchto produktů.

Vysokotlaké, vysokoúčinné kolony jsou nejlepší. Jsou plněny sorbenty s částicemi o průměru 5 až 20 μm a je očekáváno, že jejich separační účinnost bude srovnatelná s analytickými. Dvě důležité podmínky musí být pro to splněny: homogenita náplně a rovnoměrný průtok mobilní fáze průřezem kolony.

Výrobci používají různá řešení, aby zaručili rovnoměrnou distribuci mobilní fáze. Labio používá systém kónicky uspořádaných kovových a plastových sítěk v téměř plochých koncovkách. Kónická dutina je uzavřena fritou oddělující distributor od náplně kolony. Pro různé kolony používáme sítky o různých velikostích ok. Pro skutečně velké kolony (průměry více než 250 mm) jsou axiální a radiální kanálky vytvořeny zohýbáním v kovových sítkách dostatečně silných tak, aby se vytvořily jakoby sněhové vločky, které umožňují distribuci kapaliny do okrajů kolony. Distributory byly vyvinuty v druhé polovině devadesátých let a používají se díky své účinnosti prakticky beze změn jak na vstupu, tak na výstupu kolon.

Může být snadno prokázáno, že účinnost kolony je výrazně závislá na existenci – nebo neexistenci – volného prostoru (vyplněného pouze mobilní fází) mezi ložem sorbentu a distributorem na vstupu kolony. Protože je nemožné zabránit změnám objemu sorbentové vrstvy uvnitř kolony (i když se deklaruje, že sorbent je absolutně rigidní, ke zmenšování objemu dochází) a následně k poklesu sorbentového lože, je jediným řešením použít pohyblivý píst přinejmenším na jedné straně kolony. Přirozeně, píst musí být velmi těsný zvláště v kolonách velkých průměrů a tlaků několika set barů. Labio řeší tento problém použitím „plovoucích pístů“, které využívají k dotěsnění kuželových plastových (PTFE) o-kroužků tlak kapaliny v koloně.

Kolonový systém MAG 5, dovedený k dokonalosti v posledních deseti letech, je nyní tak flexibilní, že umožňuje plnit kolony suspenzní technikou za vysokého tlaku, stejně jako „dynamic slurry“ způsobem, kdy je suspenze sorbentu v kapalině stlačena přímo v koloně nebo i naplnění vysokoúčinné kolony beztlakovou sedimentací. Dosažené účinnosti (po kondicionaci a dotlačení pístu) jsou srovnatelné s analytickými kolonami.

Kolony MAG 5 jsou vyrobeny z nerezové oceli. Jen vysoce kvalitní ocel AISI 316 (nebo AISI 316L na přání) je v kontaktu s mobilní fází. Kromě nerezové oceli obsahují kolony jen fluoroplastové sítky a PTFE těsnění.



Kolony MAG 5 jsou předurčeny pro pokrokovou vysokoúčinnou, vysokotlakou preparativní chromatografii. Jejich vnitřní průměr je v rozmezí mezi 25 - 400 mm. Výstup s pevným koncem, který je utěsněn kroužkem z PTFE, je použit v kolonách s menším průměrem (až do 100 mm vnitřního průměru). Kolony s větším vnitřním průměrem jsou opatřeny na výstupu pístem stejným, jaký je na vstupu kolony a to umožňuje - pokud si přejeme – použít dvojitou axiální kompresi.

Distributor mobilní fáze obsahující fluoroplastové a kovové sítky, umístěný jak na vstupu, tak na výstupu kolony, je vybaven buď



Kolona MAG 5, I.D. 50 mm

sintrovaným diskem z nerezové oceli 316L (velikost pórů 2 μm) (MOTT USA), nebo v poslední době stále více stlačeným porézním diskem Poremet (velikost pórů 2 μm a AISI 316). Desky Poremet obsahují deset stlačených vrstev nerezových sít s různými velikostmi ok což výrazně zvyšuje účinnost distribuce mobilní fáze do kolony. Připojení kolon do systému je realizováno běžnými spoji typu Swagelok s těsnícími ferulemi. Kolony mohou pracovat až do tlaku 200 bar (od průměru 150 mm do 150 barů, od průměru 250 mm již pouze do 100 barů).

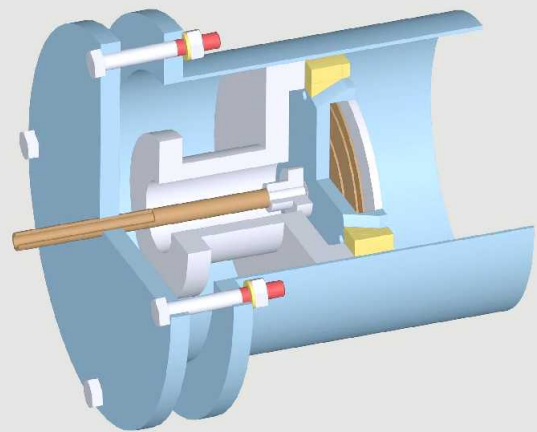
Všechny kolony MAG 5 mohou být plněny, jak již bylo zmíněno, nízkotlakou metodou – sedimentací a následnou kondicionací doprovázenou stlačováním vstupního pístu, aby se kompenzovalo sesedání sorbentového lože. Labio dodává k tomu účelu plnicí adaptéry vyrobené z polypropylénu. Modelový plnicí postup může být zaslán na požádání.

Kolony MAG 5 představují vynikající nástroj pro citlivou separaci téměř identických látek nebo oddělení nečistoty s podobným elučním časem jako má hlavní produkt. Nicméně plnění kolon mikroparticulárními sférickými sorbenty je relativně drahé. Kromě toho, každý sorbent po určité době ztrácí svoji dělicí schopnost a musí být vyměněn.

V případech, kdy účinnost chromatografického dělení je dostatečná (nebo může být zvýšena např. gradientem mobilní fáze), může být použit sorbent s větší velikostí částic, spolu s méně drahými nízko nebo střednětlakými kolonami.

Labio vyvinulo – s použitím všech principů odzkoušených pro kolony MAG 5 – preparativní kolony MAGic 6 pro nízkotlakou a středotlakou chromatografii. Jsou plněny měkkými gely, které neodolávají vyšším tlakům, nebo pevnými sorbenty, s částicemi tak velkými, že kolona může pracovat při

nízkém tlaku nepřesahujícím několik barů. Kolony mohou také najít uplatnění při speciálních separacích, kdy dělené látky nesmějí přijít do kontaktu s kovy. Kolony jsou vyrobeny z akrylátových nebo polypropylenových trubek buď s našroubovanými přírubami, nebo s přírubami držnými tyčemi z nerezové oceli (pro kolony velkých průměrů). Na každém konci je pohyblivý píst, horní je tlačěn do kolony pomocí středové trubky upevněné na své přírubě, která sama je upevněna ke kolonové přírubě sadou šroubů. Alternativně může být příruha pístu připevněna k hydraulickému válci, jehož píst je poháněn stlačujícím se olejem, tlačícím pracovní píst do kolony. Každý kolonový píst je složen ze dvou částí s vloženým teflonovým těsněním, jehož účinnost vzrůstá s narůstajícím tlakem. Písty obsahují distribuční sítky a frity vyrobené z polypropylénové tkaniny. Kolony jsou dostupné s průměrem od 12 do 600 mm s délkou podle požadavku



Řez kolonou MAG 5



Předkolona MAG 5 I.D. 25 mm



MAG 6
acrylátová kolona
I.D. 200 mm

zákazníka. Tlakový spád na koloně je většinou nízký dáný pouze použitým sorbentem. Kolony s průměrem do 20 mm odolávají tlaku 20 barů, kolony průměru 400 mm mohou pracovat do tlaku 5 barů (plnění sedimentační technikou). Kolony typu MAG 3 byly vyvinuty pro některé speciální aplikace na rozhraní analytické a preparativní chromatografie. Tyto kolony jsou jednoduché konstrukce a nemají žádný pohyblivý píst. V současné době jsou nabízeny kolony s vnitřním průměrem 10 a 25 mm a různé délky od 50 do 500 mm. Trubka s leštěným vnitřním povrchem má na obou koncích závit. Koncové matice jsou k ní připevněny trvale a tvoří s trubicí jediný celek. Síťka z nerezové oceli (velikost ok 2 μm), umístěná ve vnitřní části koncovky - matice, je utěsněna PTFE těsněním. Víčko kolony má vnitřní a vnější závit. Vnější zapadá do závitu koncovky a vnitřní slouží k připevnění kapiláry (vnější průměr 1.6 mm – 1/16") s těsnící ferulí. Pro připojení může být použit jak průchozí metrický šroub M5 (Evropa), tak průchozí šroub se závitem UNF 10/32 (USA). Maximální pracovní tlak kolon MAGic3 je 200 barů a jsou plněny všemi typy dodávaných Labiospher sorbentů s částicemi velikosti 5 μm , 7 μm , 10 μm .

Zatímco u preparativní chromatografii závisí účinnost dělení hlavně na rozvodu mobilní fáze, v analytické chromatografii má rozhodující vliv kvalita vnitřního povrchu kolony. Proto Labio vyrábí své MAGic 1 kolony z dovážených vysoce kvalitních, relativně tenkostěnných trubek z nerezové oceli, které mohou být vyrobeny s vysokou přesností. Trubky jsou navrženy speciálně pro HPLC a jejich vnitřní povrch je elektrolyticky leštěn. Kolony MAGic 1 s vnitřním průměrem 4.6 mm jsou vyráběny a dodávány s délkou 50 mm, 150 mm nebo 250 mm. Na obou koncích kolony jsou připevněny koncovky s pomocí tvojkuželových ferulí. V koloně je použita síťka z nerezové oceli (velikost ok 2 μm), která je utěsněna PTFE těsněním. Víčko koncovky je opatřeno vnitřním závitem pro připojení kapiláry (vnější průměr 1.6 mm – 1/16", těsnící ferule). Systém dovoluje použít jak průchozí metrický šroub M5 (Evropa), tak průchozí šroub se závitem UNF 10/32 (USA). Maximální pracovní tlak pro kolony MAGic 1 je 300 barů. Kolony jsou plněny všemi typy dodávaných Labiospher sorbentů s částicemi velikosti 5 μm , 7 μm , 10 μm , na vyžádání a po konzultaci, také sorbenty jiných výrobců a také jiných velikostí částic. Kolony MAGic 1 mohou být dodány spolu s předkolonami MAP o stejném průměru. Předkolony jsou výměnné (cartridge typ), mají délku 20 mm a jsou napojovány na kolonu pomocí předkolonového pouzdra bez spojovací kapiláry. MAP předkolony jsou dodávány netestované a jsou plněny všemi typy dodávaných Labiospher sorbentů s částicemi velikosti 5 μm , 7 μm , 10 μm .

Pro mikrokolony je kvalita vnitřního povrchu ještě mnohem důležitější než pro analytické kolony. Z toho důvodu jsou kolony MAGic 0 vyráběny ze skleněných trubek o vnitřním průměru 1.4 mm potažených za zvýšené teploty vrstvou z nerezové oceli. Na trubku jsou připevněny koncové části a jako u kolon MAGic 1 je použita nerezová síťka k uzavření sorbentu v koloně. V tomto případě připojovací kapilára je uchycena v průchozím šroubu a dosedá přímo na síťku. Díky tomuto uspořádání mohou být použity standardní kapiláry vnějšího průměru 1.6 mm (1/16") a vnitřního průměru 0.2, nebo 0.1 mm. Také kolony MAGic 0 mohou být použity do tlaku 300 barů. Kolony jsou dodávány plněné všemi typy sorbentů Labiospher, s částicemi 3 μm nebo 5 μm , na vyžádání a po konzultaci také sorbenty jiných výrobců a také jiných velikostí částic.

Také mikrokolony mohou být opatřeny předkolonami (typ cartridge) s označením MMAP; mají stejný průměr jako mikrokolony, délku 20 mm a jsou připevňovány k mikrokoloně přímo bez jakéhokoliv pomocného dílu. Na obou koncích předkolony je síťka utěsněná těsnícím kroužkem. Předkolony MMAP jsou dodávány netestované a plněné stejnými sorbenty jako MAG 0.

Preparativní kolony nejsou snadné k manipulaci a co více, některé kolony jsou opatřeny těžšími písty určenými ke kompenzaci objemových změn sorbentu. Pro takové účely jsou vyvinuty hydraulické kolonové stojany nebo hydraulické kolonové adaptéry. Stojan drží kolonu a jeho hydraulický válec přitlačuje píst kolony na vrstvu sorbentu. Hydraulické adaptéry jsou používány hlavně pro menší průměry nízkotlakých kolon. Jsou připevněny přímo na kolonovou přírubu na vstupní části, mají rovněž svůj olejový válec, jehož píst je propojen s pracovním kolonovým pístem.

Hlavní důvod použití hydraulických stojanů a adaptérů je eliminace mrtvých prostorů během provozu kolony. Aplikace konstantního tlaku na píst kolony kompenzuje objemové změny sorbentu. Touto technikou můžeme zvýšit účinnost kolony a když je zvolen vhodný tlak, tak i prodloužit její životnost. Když je použito beztlakové plnění, stojan a adaptér pomáhají usadit sorbentové lože během procesu

kondicionace kolony. Další možnost použití hydraulických válců s dostatečně dlouhým výsuvem pístu, je možnost plnění technikou „dynamic slurry“, nebo při vyprazdňování kolon. Vyprazdňování vysokotlakých kolon je nepříjemné protože sloupec sorbentu během separačních cyklů tvrdne. Speciálně navržené kolony se stojanem usnadňují tuto práci.

Labio vyvinulo a nabízí různé typy automatických nebo manuálních hydraulických stojanů a adaptérů pro kolony s vnitřním průměrem 25 – 500 mm. Automatické stojany jsou vybaveny motorovým olejovým čerpadlem, manometrem a elektronikou, která je schopná udržovat nastavený tlak oleje tak, aby byl vytvořen optimální tlak na píst kolony. V manuálním režimu je možné pohybovat pístem nahoru a dolů. Ruční stojany a adaptéry jsou levnější, ale jsou užitečné pro některé aplikace. Skládají se z jednoduchého stojanu, jehož součástí je hydraulický válec, nebo je kolona přímo připojena k válci. Ruční olejová čerpadla jsou dodávána s mechanickými manometry. Pro kolony malých vnitřních průměrů (25 mm a 50 mm MAGic 5 a až 150 mm MAGic 6) je použit jednostranný olejový válec se zpětnou pružinou.

Automatický stojan PCS 150W má hydraulický válec o průměru 140 mm ve spodní části. Jak válec, tak pohon hydraulické části, je umístěn v boxu z nerezové oceli. Píst válce má zdvih 200 mm a dává maximální tlak 30 tun. Pracovní píst kolony je upevněn k horní plošině, která je propjena se základnou pomocí 4 tyčí. Píst může být nahrazen nízkotlakým trubkovým plnicím adaptérem. Kompenzace objemových změn sorbentu je prováděna pohybem celé kolony proti pevnému pístu v horní části systému. Popsaný stojan se používá pro kolony o vnitřním průměru do 150 mm..

Univerzální stojan typ PCS 300PWU má horní válec s vnitřním průměrem 180 mm a může být použit pro kolony s vnitřním průměrem až 300 mm, při maximálním tlaku na koloně 80 barů (1100 PSI).

Je určen pro dynamic slurry plnění a vytlačování sorbentu z kolony. Kostra PCS 300 je tvořena čtyřmi nosníky propojenými tyčemi, které jsou upevněny do čtvercové základny. Hydraulický válec dává maximální tlak 50 tun a je upevněn v horní části základny. V samostatném boxu je uloženo hydraulické čerpadlo a zásobník oleje. Největší jednotky reprezentuje PCS 400 PWU, který je používán pro kolony vnitřního průměru až 400 mm a délku až 1000 mm, se vstupním tlakem v koloně 80 bar (1100 PSI) a který je vybaven dvěma olejovými válci celkového vztlaku 120 tun. Kolonou se tlačí proti pevnému pístu a válce (vnitřní průměr 180 mm, zdvih pístu 400 mm) jsou umístěny v dolním boxu společně s olejovým čerpadlem.

Ruční stojan CS 100 je navržen pro menší kolony MAG 5 s vnitřním průměrem nepřesahujícím 100 mm. Je vybaven dvěma olejovými pumpami pro pohyb nahoru a dolů. Speciální vysokotlaké olejové pumpy a válec pracují až do tlaku 700 barů a dělají v tomto případě systém menší a operativnější. Některé části jsou převzaty pro hydraulický kolonový adaptér HCA 100, který může být použit jak pro kolony MAG 5 (až do vnitřního průměru 100 mm), tak pro kolony MAG 6 (až do vnitřního průměru 600 mm). Adaptér HCA 50, který má jednocestný olejový válec a ruční olejovou pumpu, se používá pro kolony MAG 5 (25 mm a 50 mm vnitřní průměr) nebo MAG 6 (100 až 300 mm vnitřní průměr). Všechny popsané manuální systémy jsou vybaveny manometry Bourdonského typu.



Stojan PCS 150W

Přehled kolon standardních průměrů a délek

TYP	Vnitřní průměr (mm)	Délka (mm)	Max. tlak (bar)
MAG0-50	1,4	50	300
MAG0-150	1,4	150	300
MAG1-50	4,6	50	300
MAG1-150	4,6	150	300
MAG1-250	4,6	250	300
MAG3-10/50	10	50	250
MAG3-10/150	10	150	250
MAG3-10250	10	250	250
MAG3-25/150	25	150	200
MAG3-25250	25	250	200
MAG5 -25/50	25	150	150
MAG5 -25/250	25	250	150
MAG5 -50/70	50	250	150
MAG5 -50/250	50	250	150
MAG5 -50/500	50	250	150
MAG5 -100/150	100	150	150
MAG5 -100/300	100	300	150
MAG5 -100/600	100	600	150
MAG5 -150/150	150	150	120
MAG5 -150/300	150	300	120
MAG5 -150/600	150	600	120
MAG5 -200/150	200	150	120
MAG5 -200/400	200	400	120
MAG5 -200/800	200	800	120
MAG5 -300/150	300	150	80
MAG5 -300/500	300	500	80
MAG5 -300/900	300	900	80
MAG6-12/50	12	50	20
MAG6-12/100	12	100	20
MAG6-12/150	12	150	20
MAG6-12/250	12	250	20
MAG6-25/150	25	150	10
MAG6-25/250	25	250	10
MAG6-25/500	25	500	10
MAG6-50/150	50	150	8
MAG6-50/250	50	250	8
MAG6-50/500	50	500	8
MAG6-100/250	100	250	6
MAG6-100/500	100	500	6
MAG6-150/300	150	300	6
MAG6-150/600	150	600	6
MAG6-200/400	200	400	4
MAG6-200/800	200	800	4
MAG6-300/500	300	500	4
MAG6-300/900	300	900	4
MAG6-400/600	400	600	4
MAG6-400/1000	400	1000	4

© Labio a.s. Prague, 2008

Vyvinul a vyrábí :

WWW.LABIO.CZ

LABIO A.S., HEYROVSKÉHO NÁMĚSTÍ 2, PRAHA 6, ČR

TEL 00420 235360074, FAX 00420 235363723 MAIL SALES@LABIO.COM