

***Практическое
пособие по
твердофазной
экстракции***

- ВВЕДЕНИЕ

- ОСНОВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КОЛОНКИ ДЛЯ ТФЭ

- ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ

- ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОЦЕССА

ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ

- ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ ТФЭ

- СБОРКА УСТАНОВКИ ДЛЯ ТФЭ

- ПРОЦЕСС ПРОВЕДЕНИЯ УДЕРЖИВАЮЩЕЙ ТФЭ

- Кондиционирование/уравновешивание

- Нанесение пробы

- Сушка сорбента

- Промывка сорбента

- Элюирование целевого компонента

- ПРОЦЕСС ПРОВЕДЕНИЯ НЕУДЕРЖИВАЮЩЕЙ ТФЭ

- Кондиционирование/уравновешивание

- Нанесение пробы/элюирование целевого компонента

ВВЕДЕНИЕ

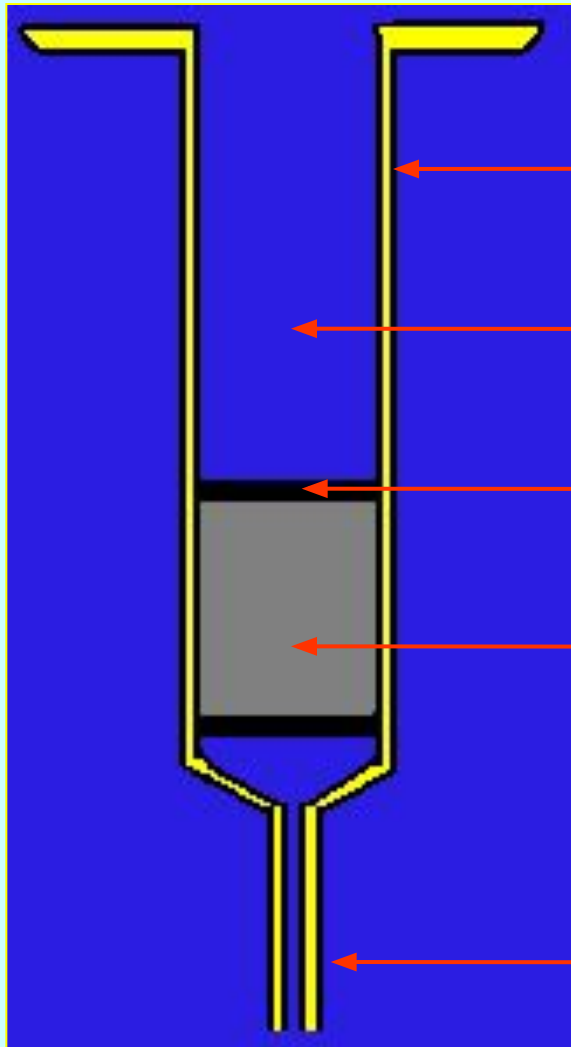
Цель пособия – оказание помощи в практической работе по проведению твердофазной экстракции (ТФЭ). В данном пособии содержатся подробные инструкции с иллюстрациями по сборке установки для ТФЭ, кондиционированию ТФЭ-колонок, нанесению проб, экстракции, промывке ТФЭ-колонок и элюированию целевого компонента.

Пособие не содержит рекомендаций по разработке методов пробоподготовки и очистки с помощью ТФЭ (подбору растворителей, объемов, условий элюирования и пр.). Конкретные сведения об этом можно найти в методических указаниях и методиках выполнения измерений, разработанных ЗАО «Аквилон». Кроме того, на базе лаборатории нашего Учебно-методического центра мы оказываем консультационные услуги и осуществляем разработку методов анализа с применением ТФЭ.

ЗАО «Аквилон» является эксклюзивным представителем на территории РФ компании «Phenomenex» (USA) – мирового лидера в производстве комплектующих для жидкостной хроматографии, в том числе и высококачественных компонентов для ТФЭ. Для удобства заказа, помимо русскоязычных названий компонентов и материалов, на иллюстрациях представлены их номера по каталогу «Phenomenex».

**ОСНОВНЫЕ
ЭЛЕМЕНТЫ
КОЛОНКИ ДЛЯ
ТФЭ**

Колонка (картридж) для ТФЭ



Полипропиленовый корпус

Резервуар для подвижной фазы

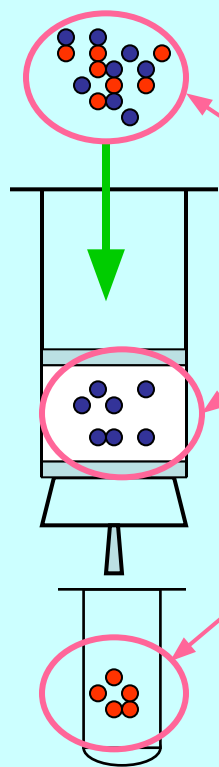
Фрит

Слой сорбента

Наконечник стандарта Luer

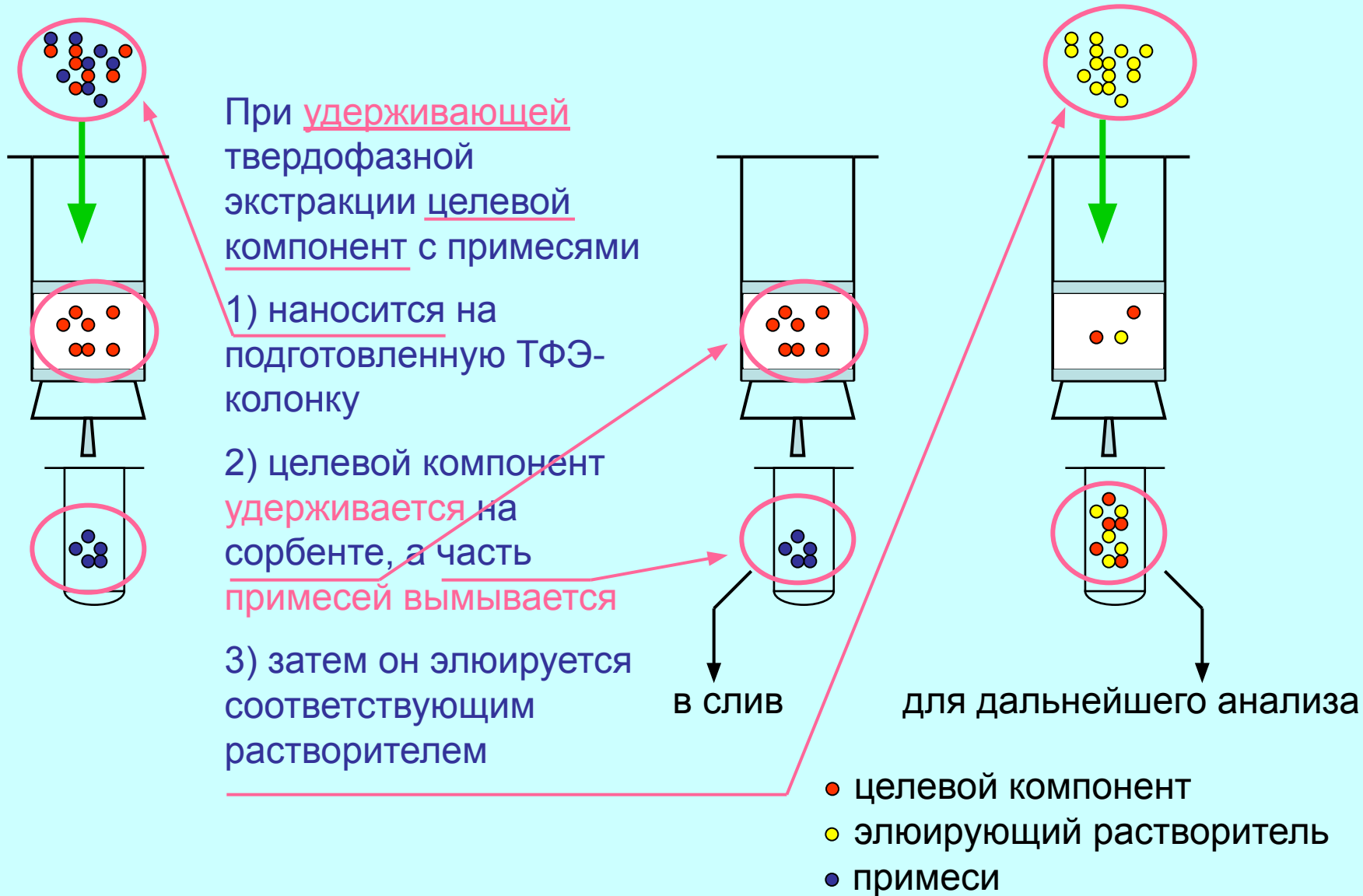
ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ

Все методы ТФЭ по принципу удерживания следует разделять на два типа: **удерживающая** и **неудерживающая** твердофазная экстракция



При неудерживающей твердофазной экстракции целевой компонент с примесями наносится на подготовленную ТФЭ-колонку. После этого, в процессе элюирования на сорбенте удерживается часть примесей, а целевой анализируемый компонент отправляется в емкость для сбора экстракта.

- целевой компонент
- примеси



**ОСНОВНЫЕ
ЭТАПЫ
ПРОВЕДЕНИЯ
ПРОЦЕССА
ТВЕРДОФАЗНОЙ
ЭКСТРАКЦИИ**

Процесс проведения ТФЭ состоит из нескольких основных **этапов**. В зависимости от метода их число бывает различным. К ним относятся:

- **кондиционирование ТФЭ-колонки (см. далее)***
- **уравновешивание ТФЭ-колонки (см. далее)***
- **нанесение пробы**
- **сушка сорбента ТФЭ-колонки****
- **промывка ТФЭ-колонки для удаления примесей****
- **элюирование целевого компонента (компонентов)**

* Этапы кондиционирования и уравновешивания могут совпадать

** Могут не применяться в зависимости от природы анализируемого объекта

Кондиционирование – процесс приведения сорбента в активное состояние.

Уравновешивание – приведение патрона (картриджа) в состояние динамического равновесия, соответствующее условиям нанесения пробы.

В методических указаниях и методиках выполнения измерений содержатся ссылки на тот или иной метод ТФЭ. В практической работе необходимо следить за выбором емкости для сбора целевого компонента и слива во избежание потери анализируемого вещества.

На иллюстрациях этому моменту уделено особое внимание.

ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ ТФЭ

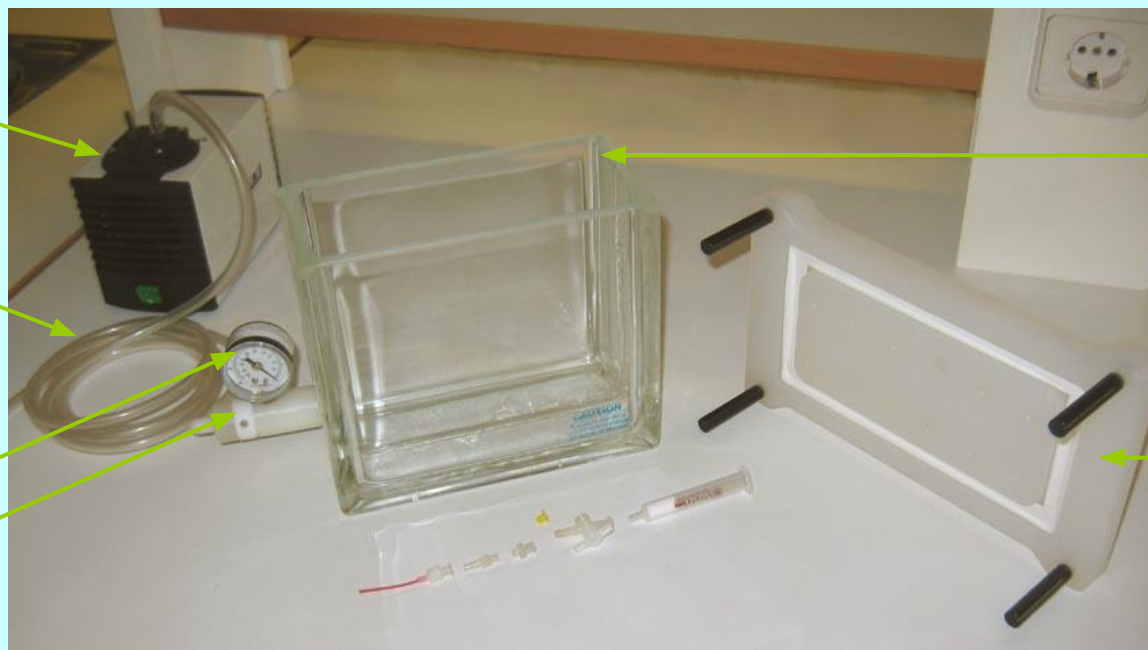
1. Вакуумное устройство на 12 позиций (установка для твердофазной экстракции) (номер по каталогу Phenomenex АН0-6023)

вакуумный
насос

шланг

манометр
(АН0-6059)

вентиль
(АН0-6058)



стеклянная
камера
(АН0-6025)

крышка
манифолда
(АН0-6027)

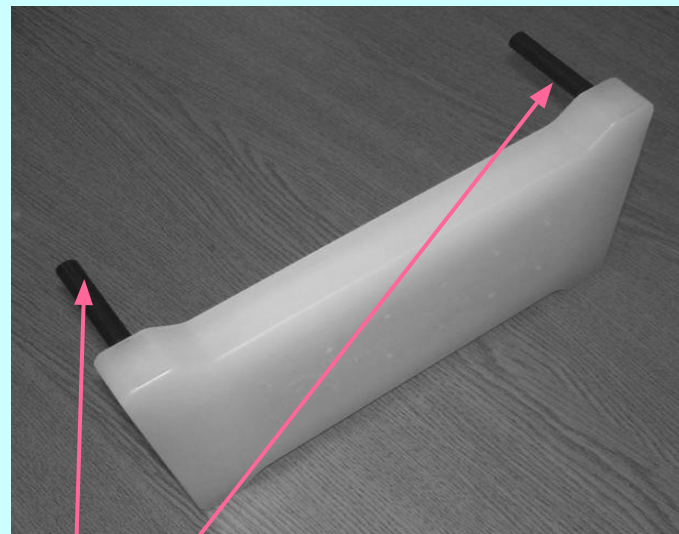
2. *Стеклянная камера в комплекте с манометром и вентилем (АН0-6031)*



3. Крышка устройства (АН0-6027)



Прокладка (АН0-6029)

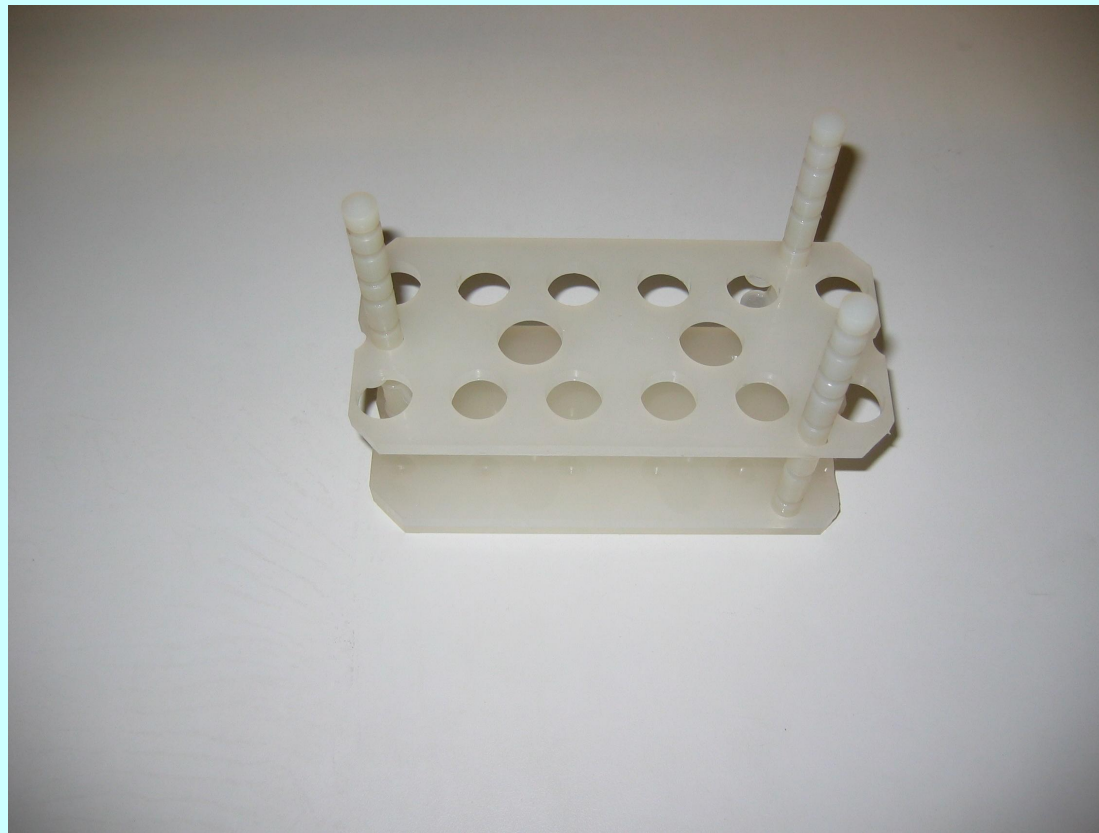


Ножки (АН0-6056)

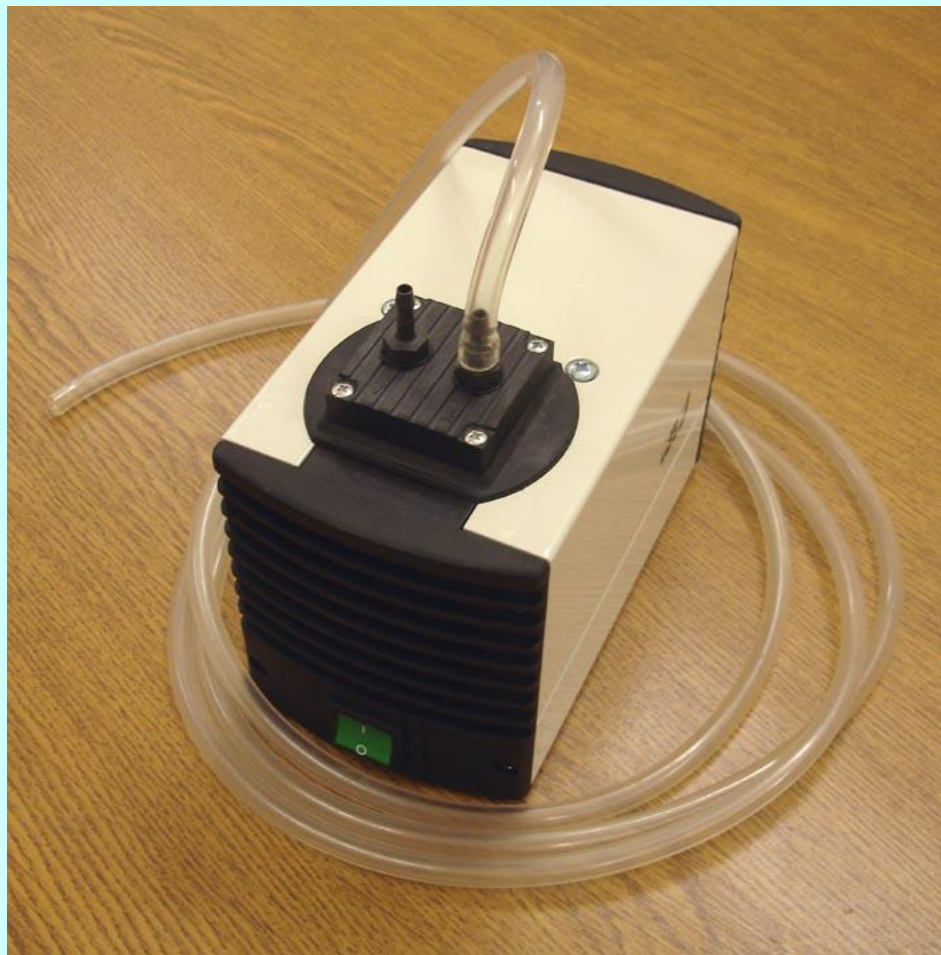
4. Емкость для сбора слива (АН0-6052)



5. Штатив для пробирок (АН0-6037)



6. Вакуумный насос



7. Комплектующие для ТФЭ

адаптер
(АНО-7379)

игла
(АНО-6033
или
АНО-6034)

внутренний
фитинг Luer
(АНО-6054)

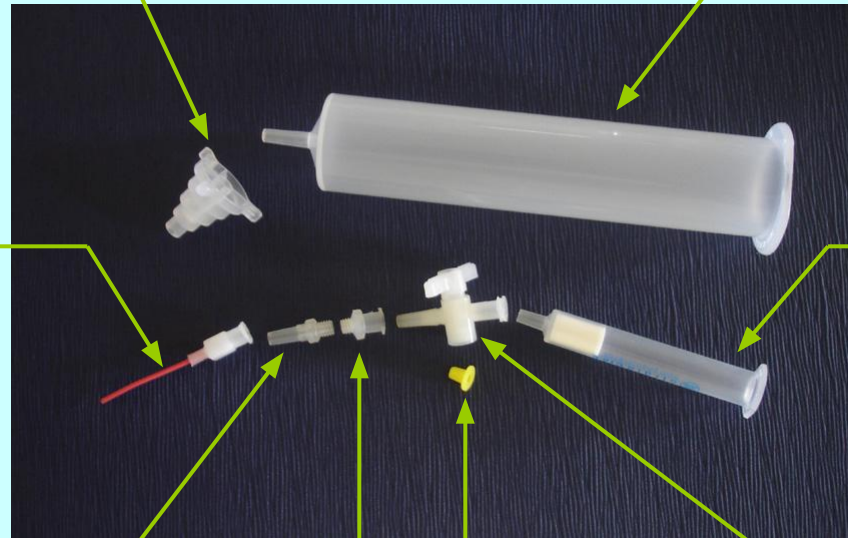
наружный фитинг Luer
(АНО-6053)

резервуар

колонка для
ТФЭ - патрон
(картридж)

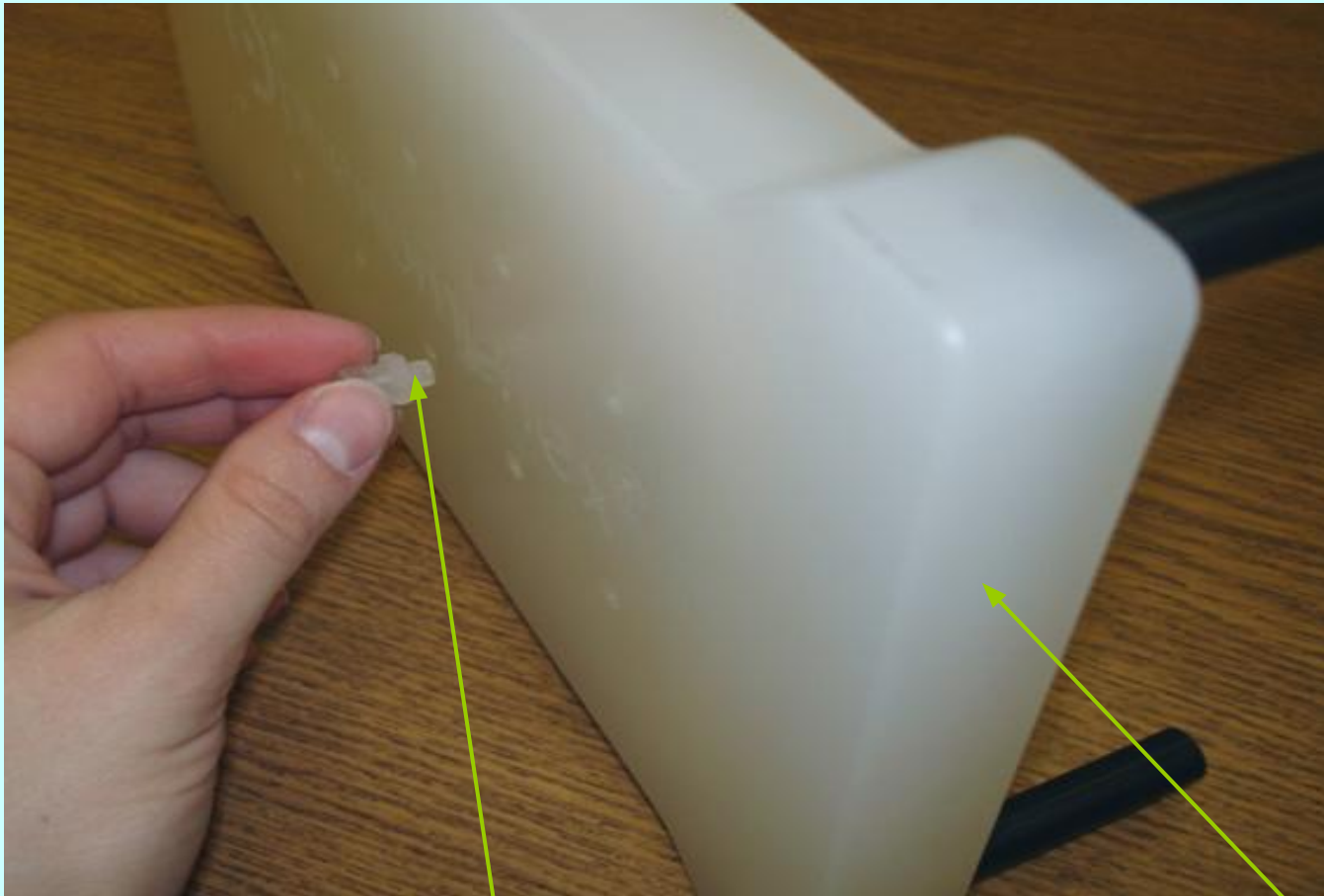
запорный
кран
(АНО-6048)

заглушка
(АНО-6061)

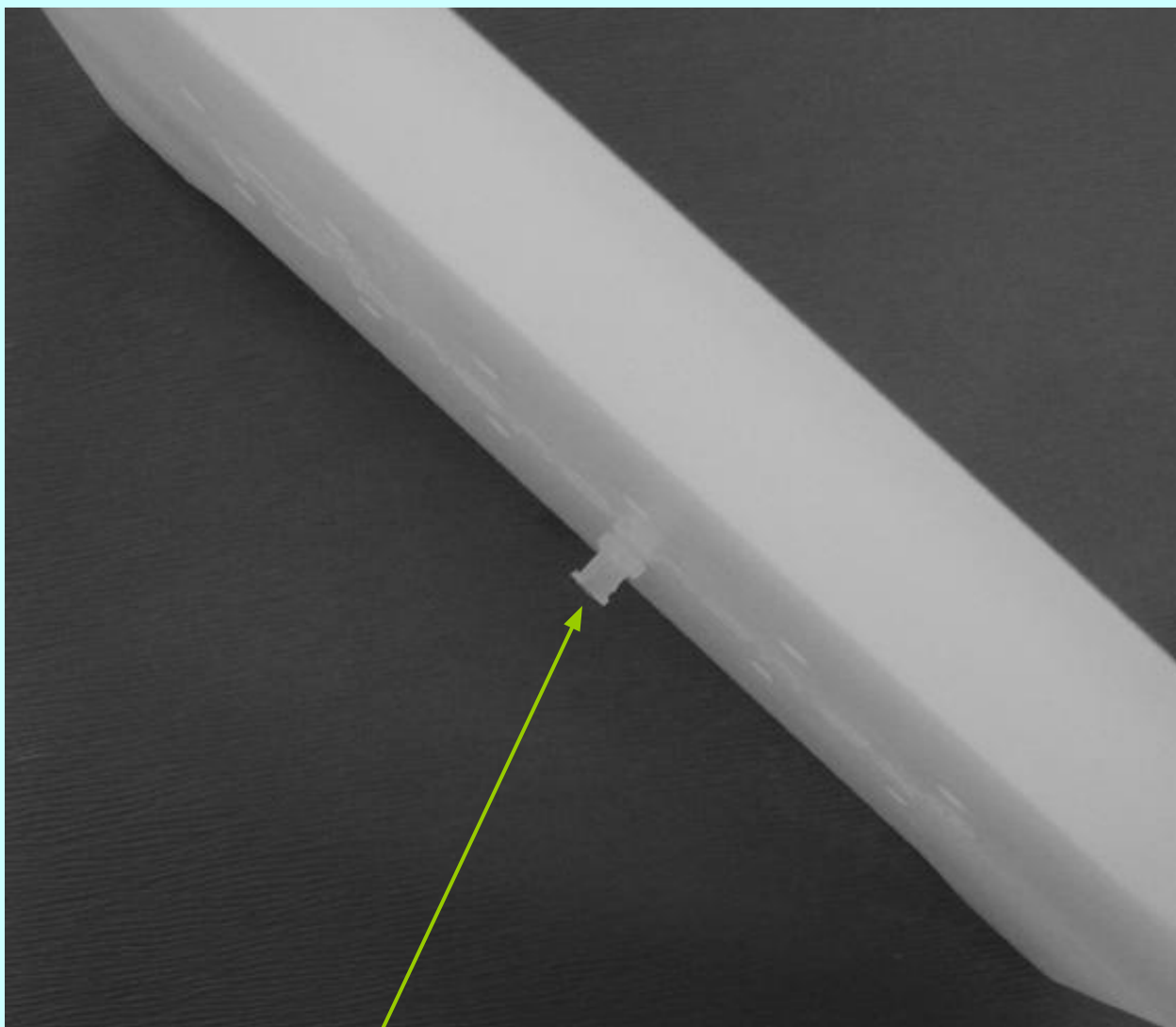


СБОРКА УСТАНОВКИ ДЛЯ ТФЭ

СБОРКА УСТАНОВКИ ДЛЯ ТФЭ **(В КАЧЕСТВЕ ПРИМЕРА ВЗЯТА УСТАНОВКА** **НА 12 ПОЗИЦИЙ ДЛЯ ТФЭ (АН0-6023))**



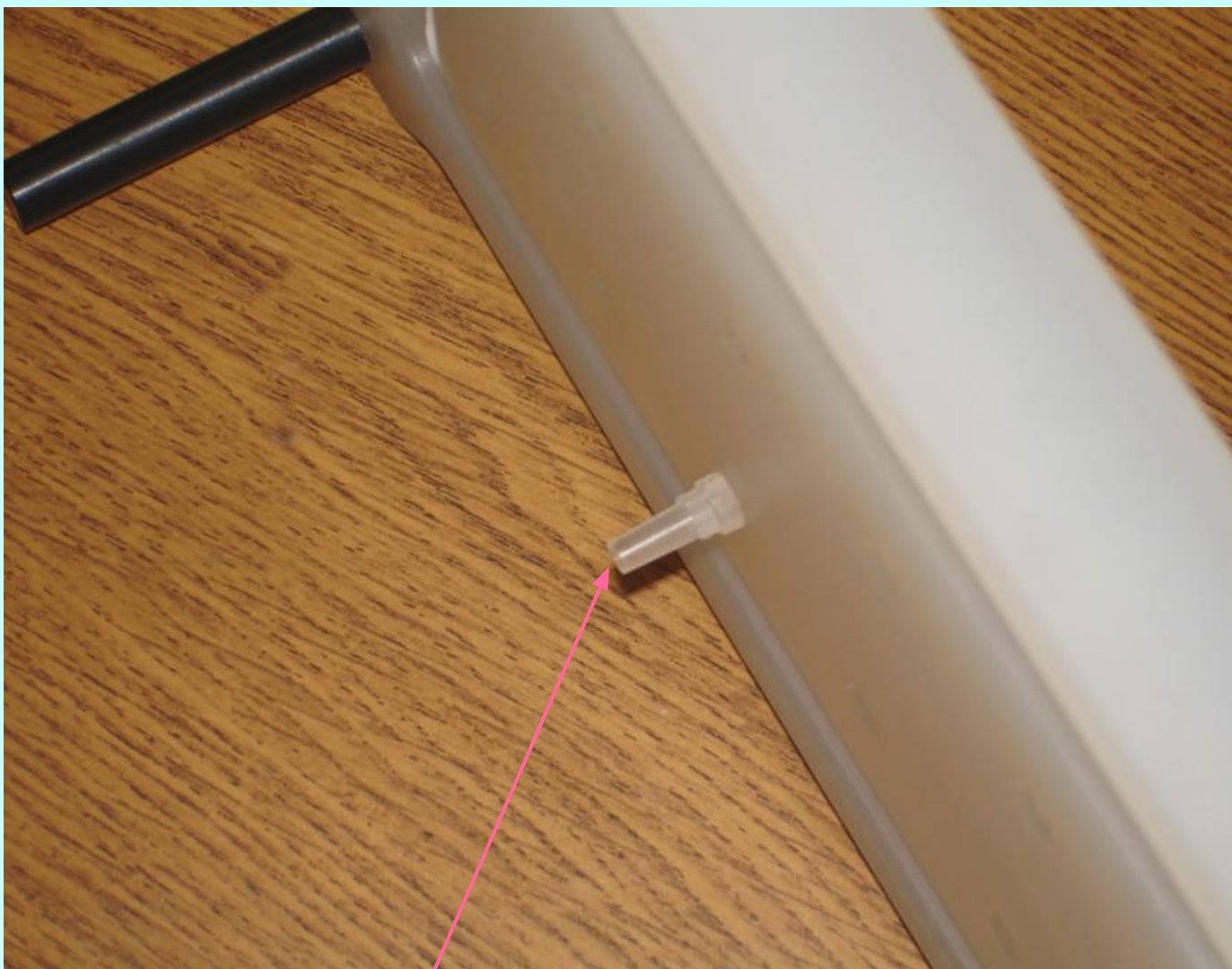
1. Наружный фитинг присоединяется (заворачивается по резьбе) к внешней стороне крышки устройства.



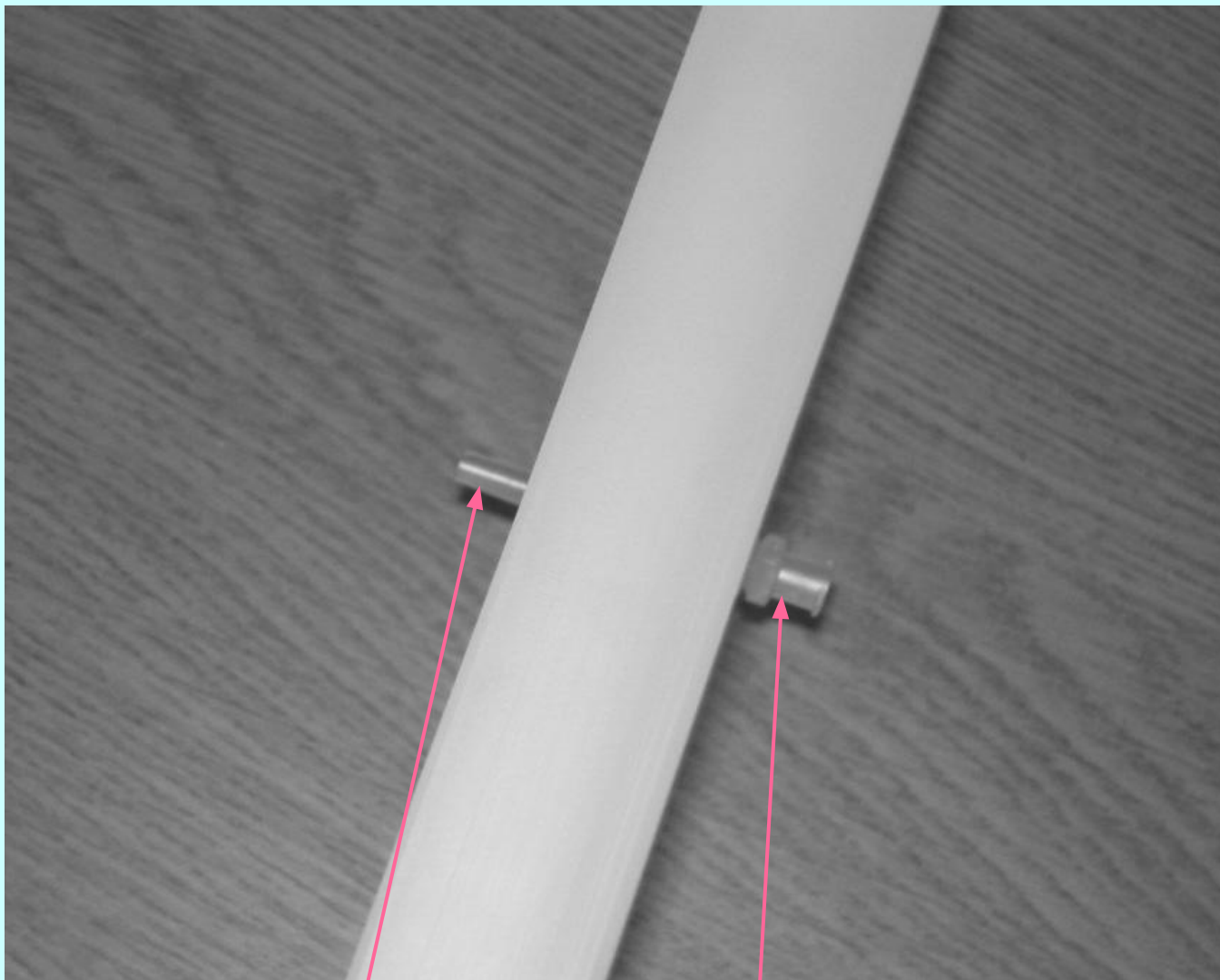
Наружный фитинг, присоединенный к крышке устройства.



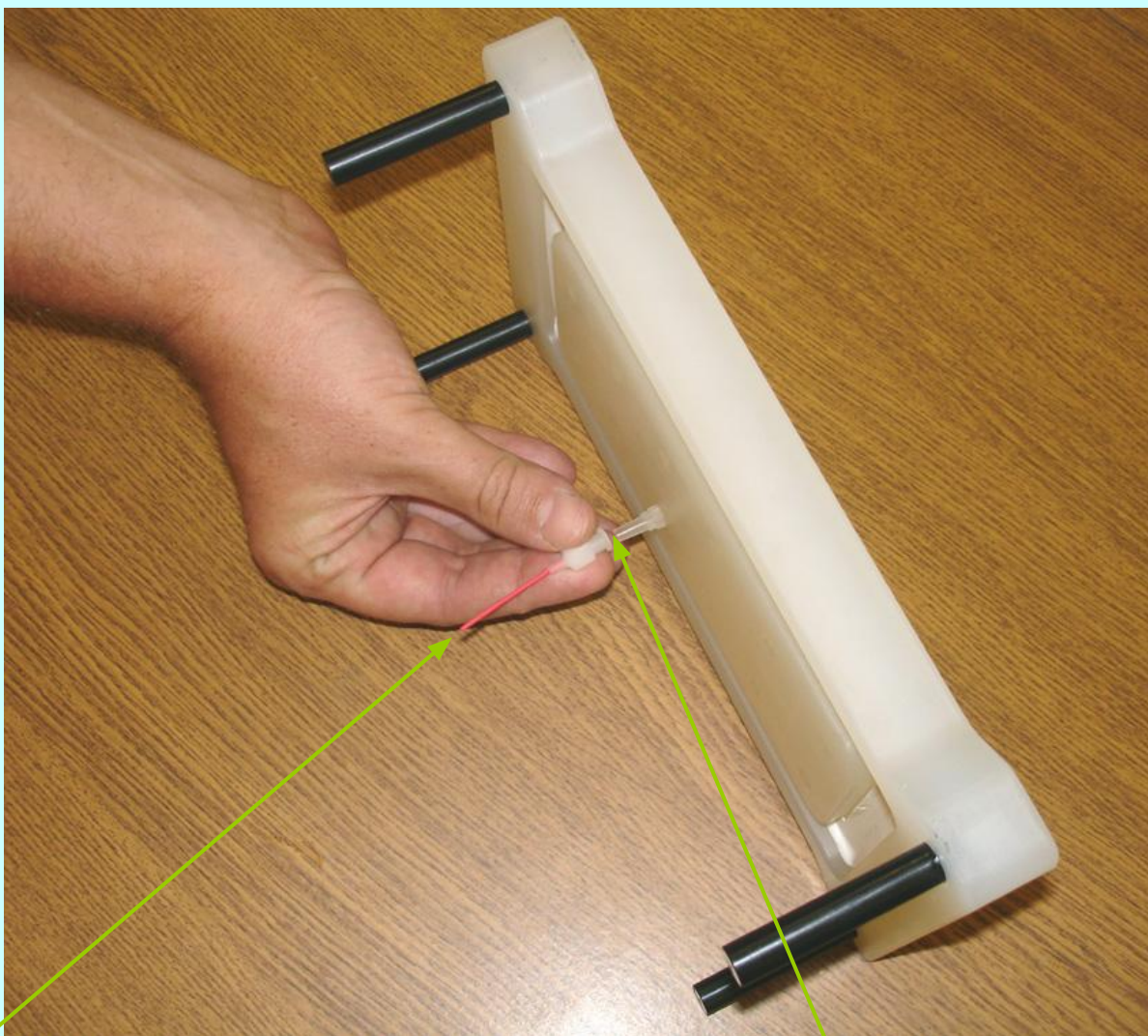
2. Внутренний фитинг присоединяется (заворачивается по резьбе) к внутренней поверхности крышки устройства.



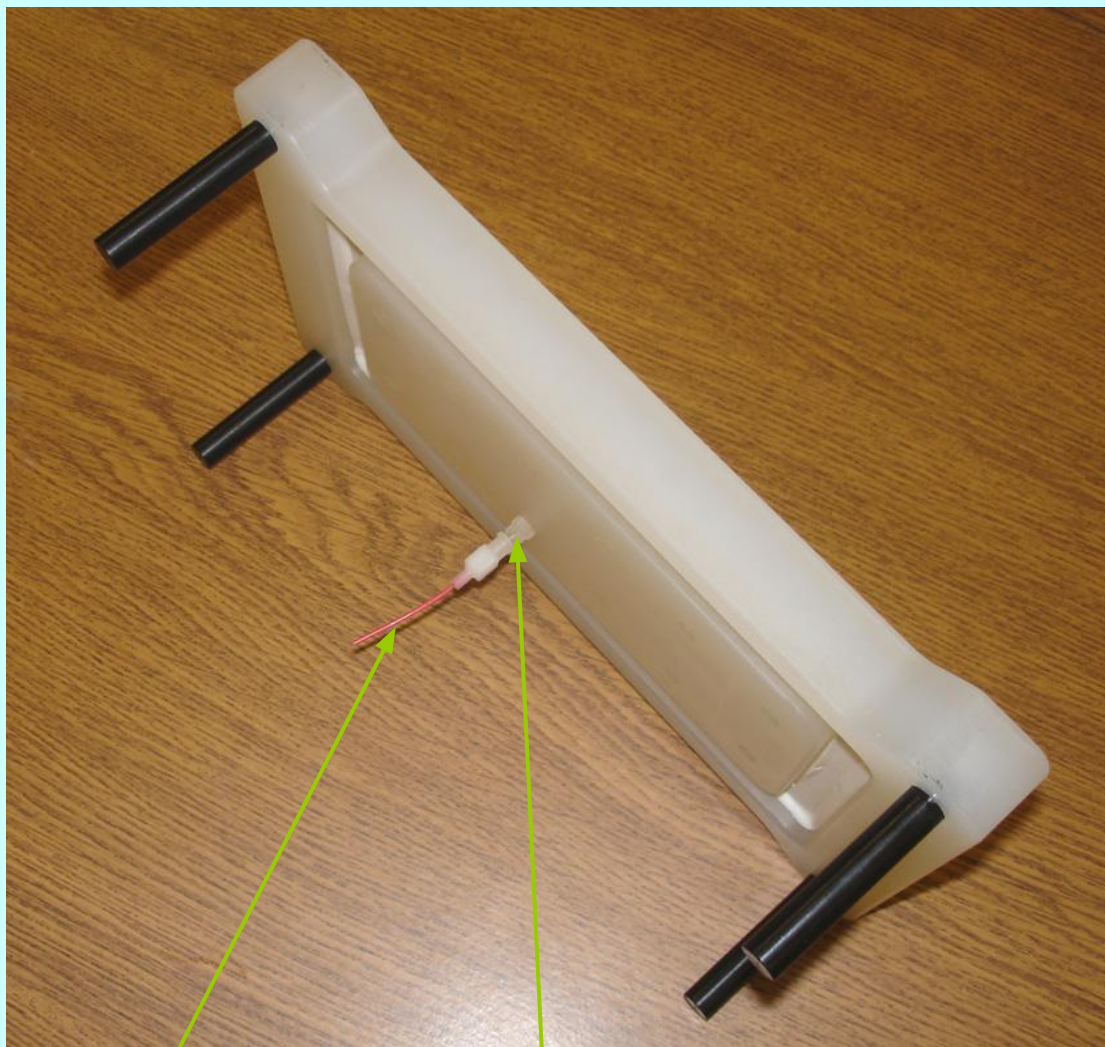
Внутренний фитинг, присоединенный к крышке устройства.



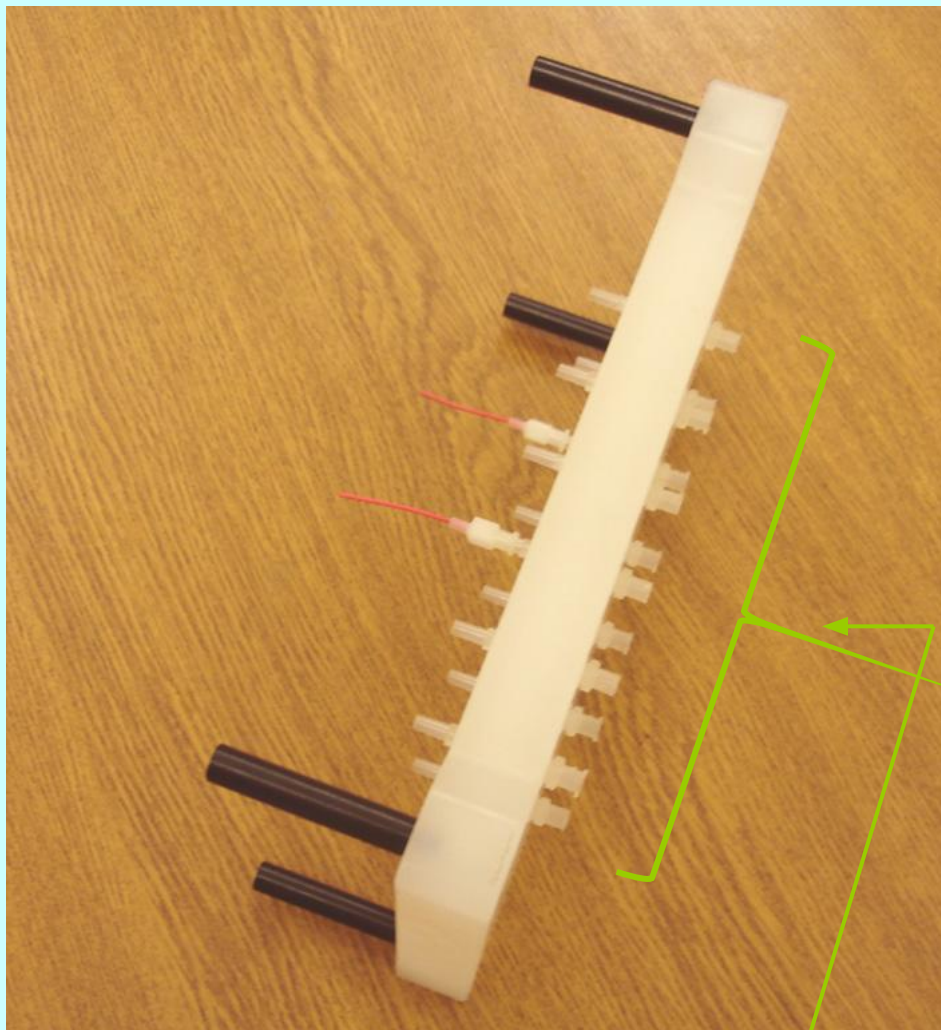
Внутренний (слева) и наружный (справа) фитинги,
присоединенные к крышке устройства.



3. Игла надевается на внутренний фитинг, если этот фитинг будет задействован в процессе твердофазной экстракции.



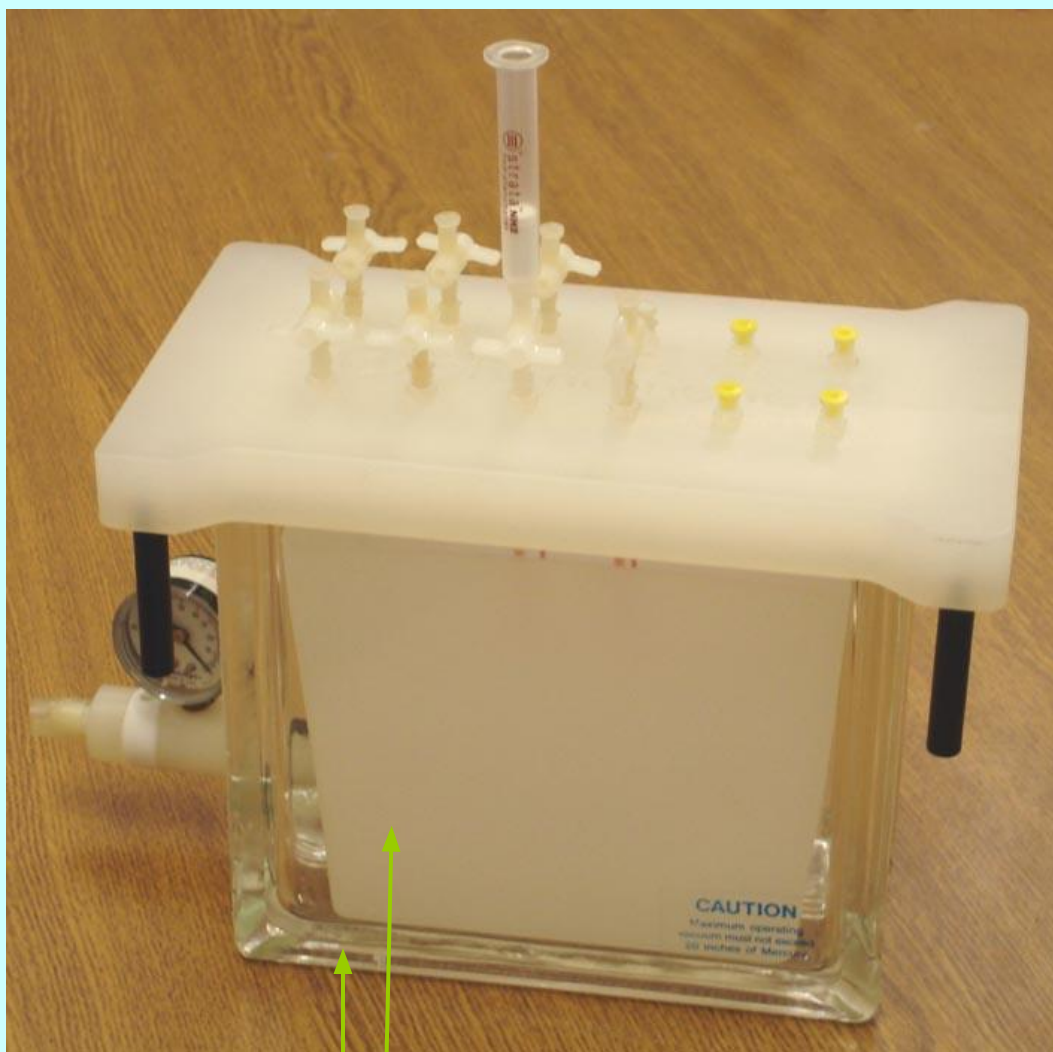
Игла, присоединенная к внутреннему фитингу.



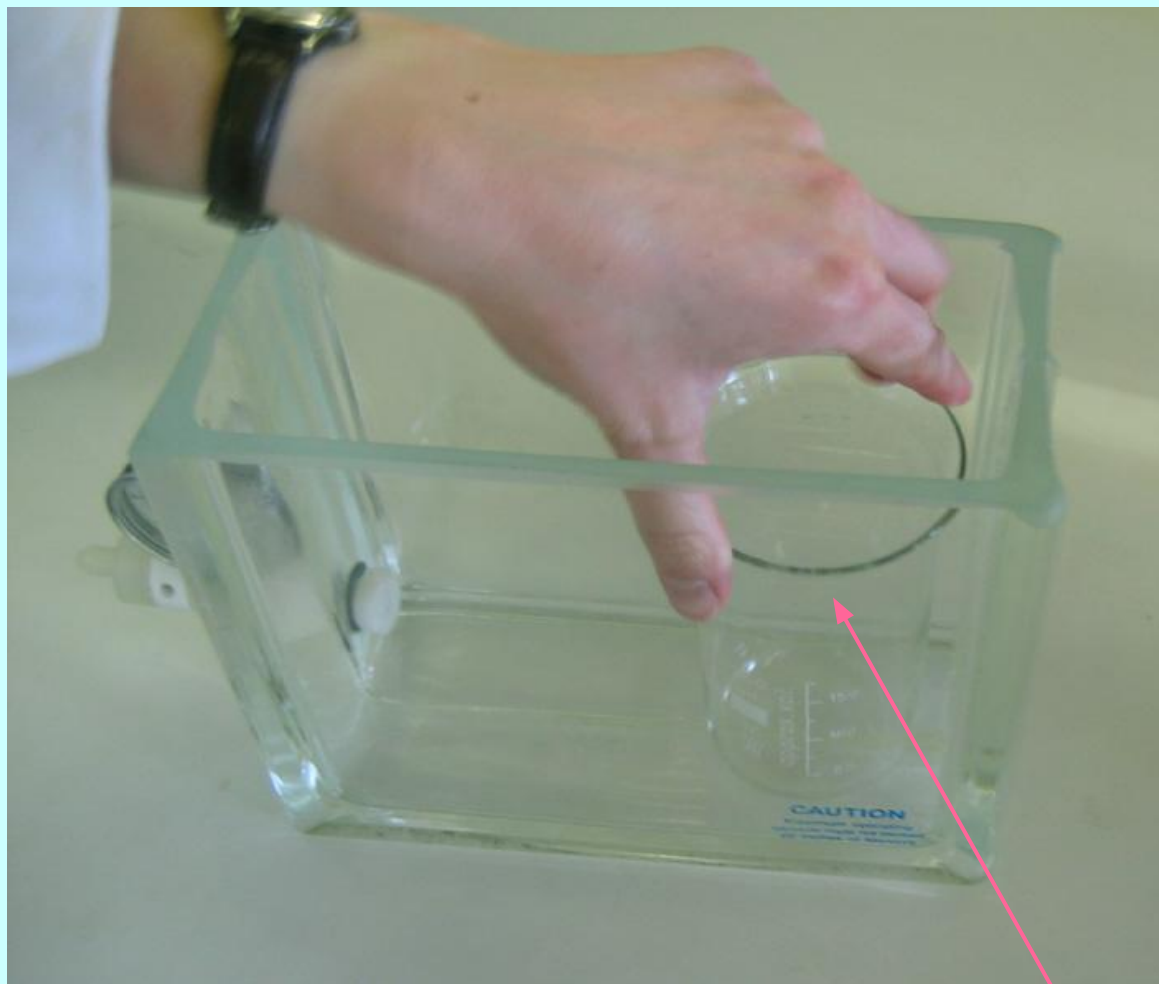
4. Аналогично заполняются все 12 позиций устройства.



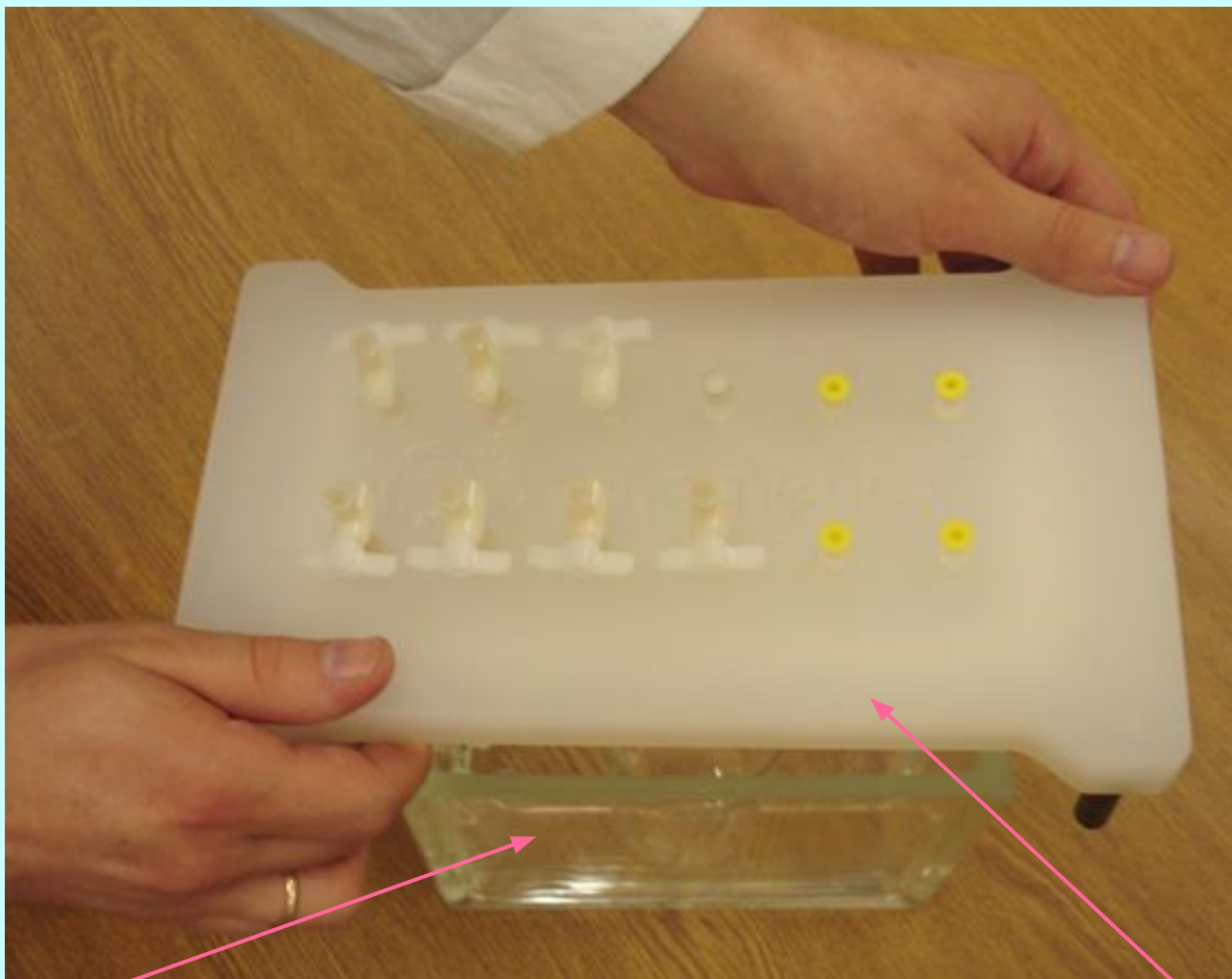
5. В случае удерживающей ТФЭ в стеклянную камеру устанавливается емкость для сбора слива.



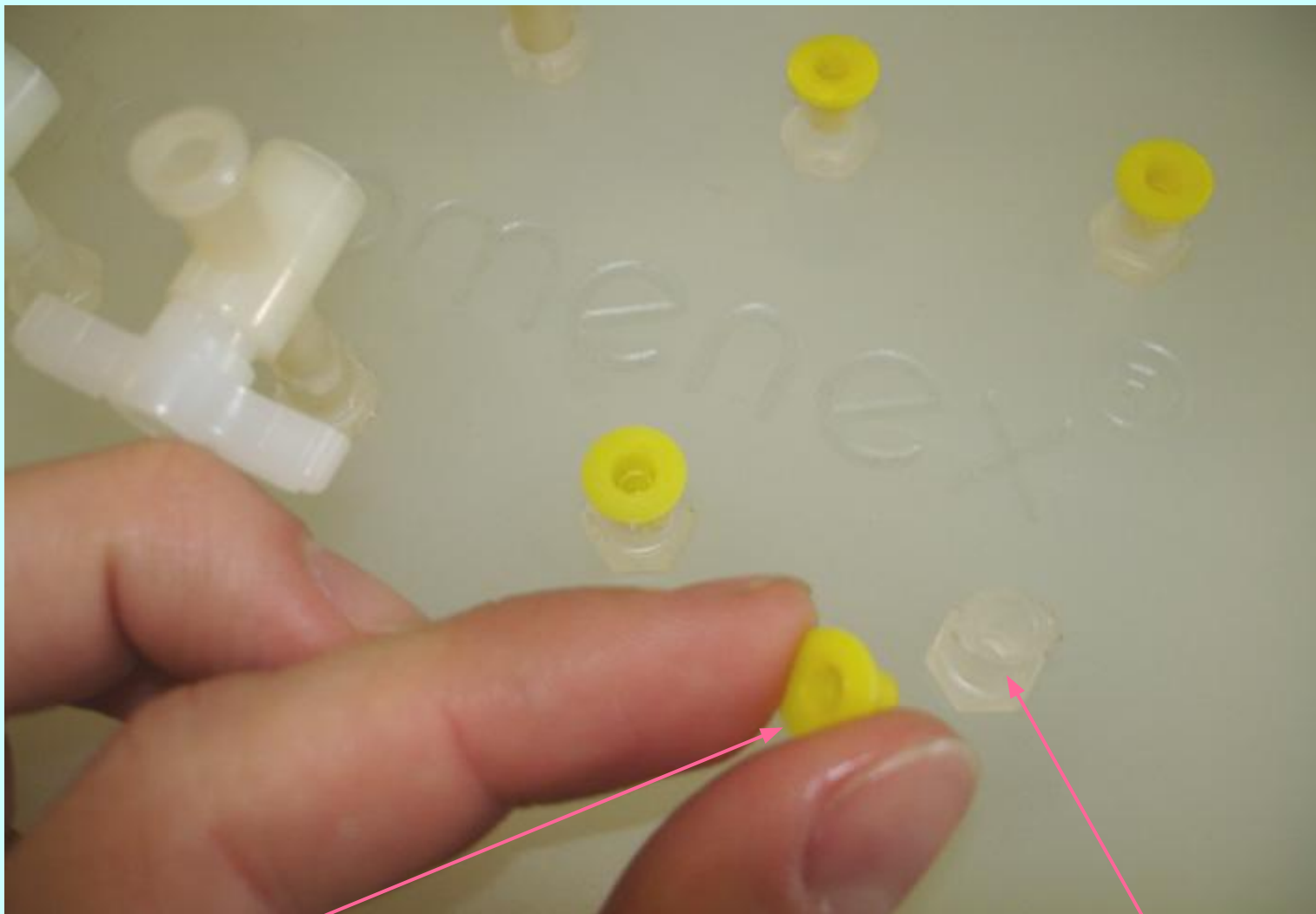
Вид устройства с емкостью для слива внутри.



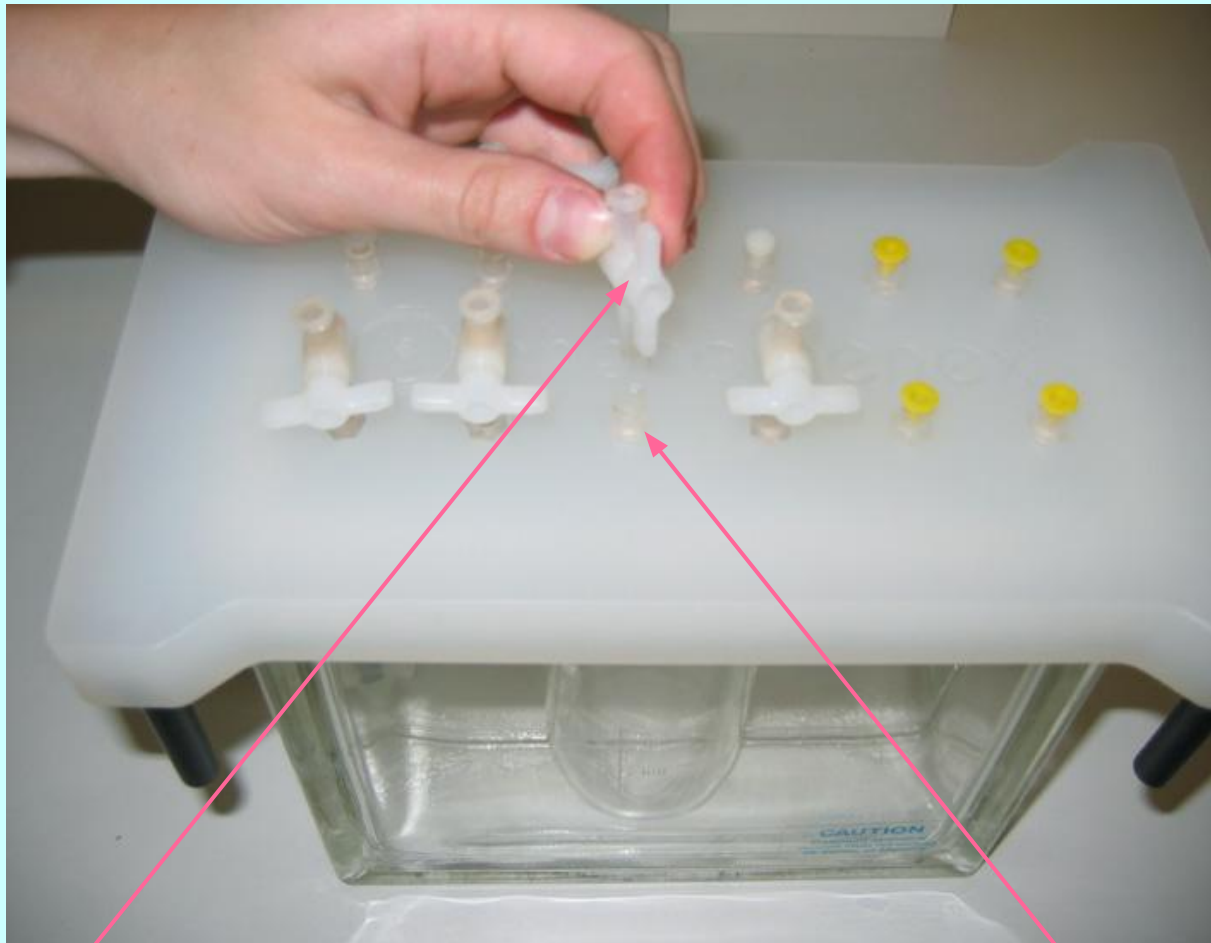
Для сбора слива при удерживающей ТФЭ или целевого компонента при неудерживающей ТФЭ возможно использование стакана.



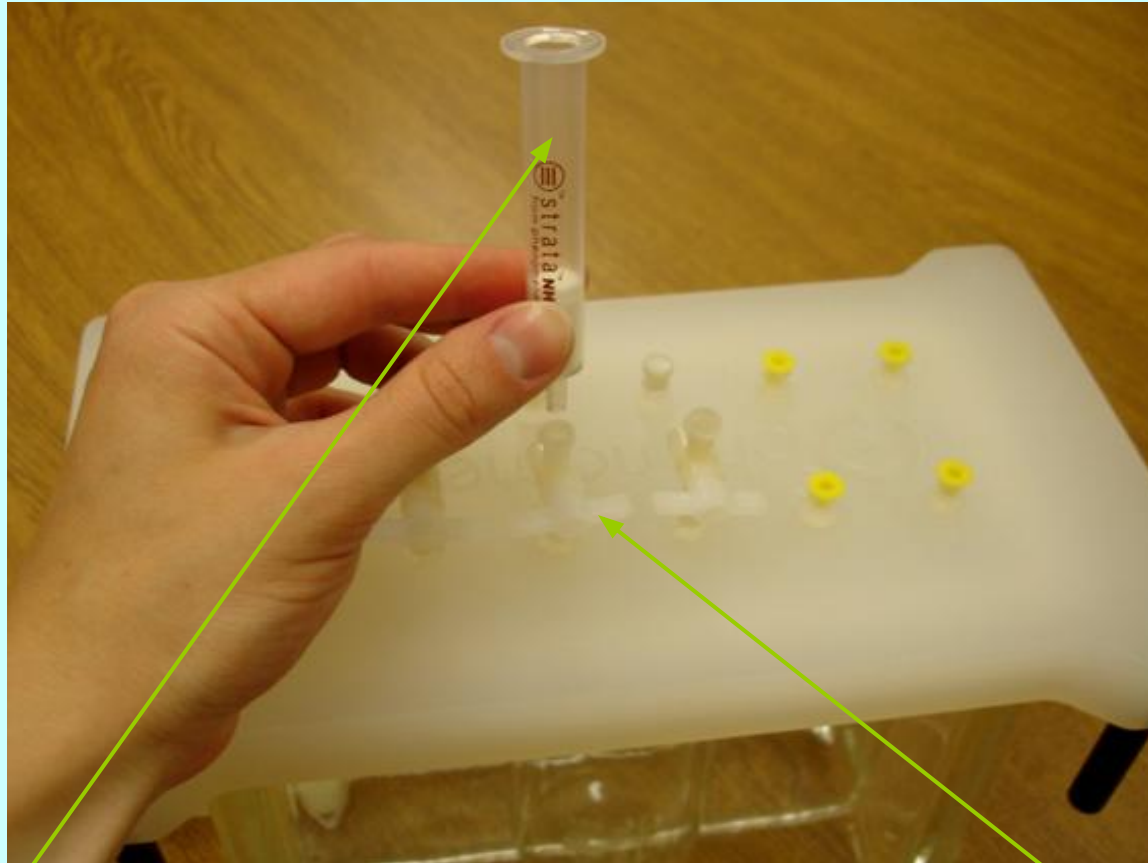
6. Камера со стаканом закрывается подготовленной крышкой устройства.



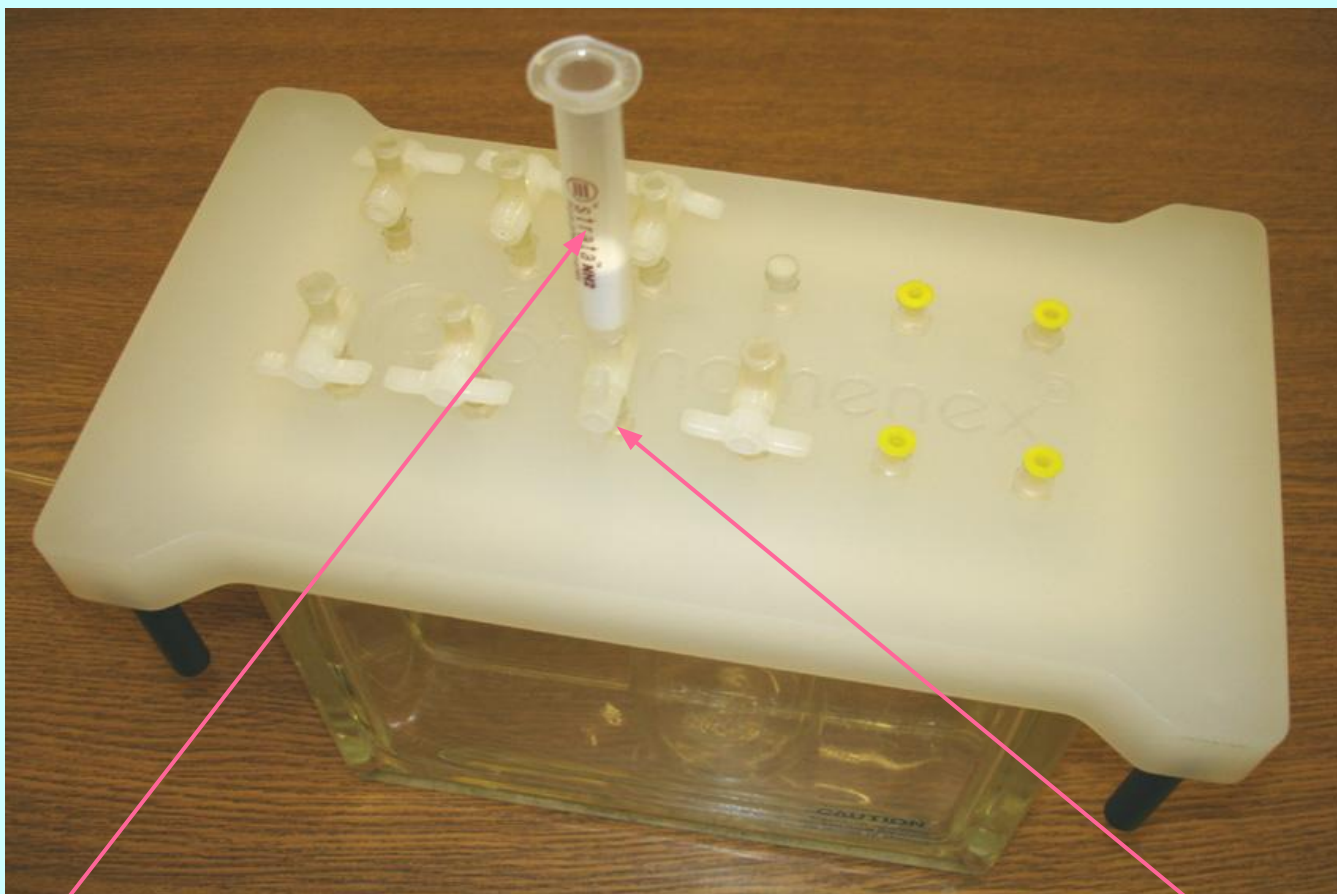
7. Заглушки присоединяются к внешним фитингам, которые не будут задействованы в процессе твердофазной экстракции или использованы для регулировки давления в системе.



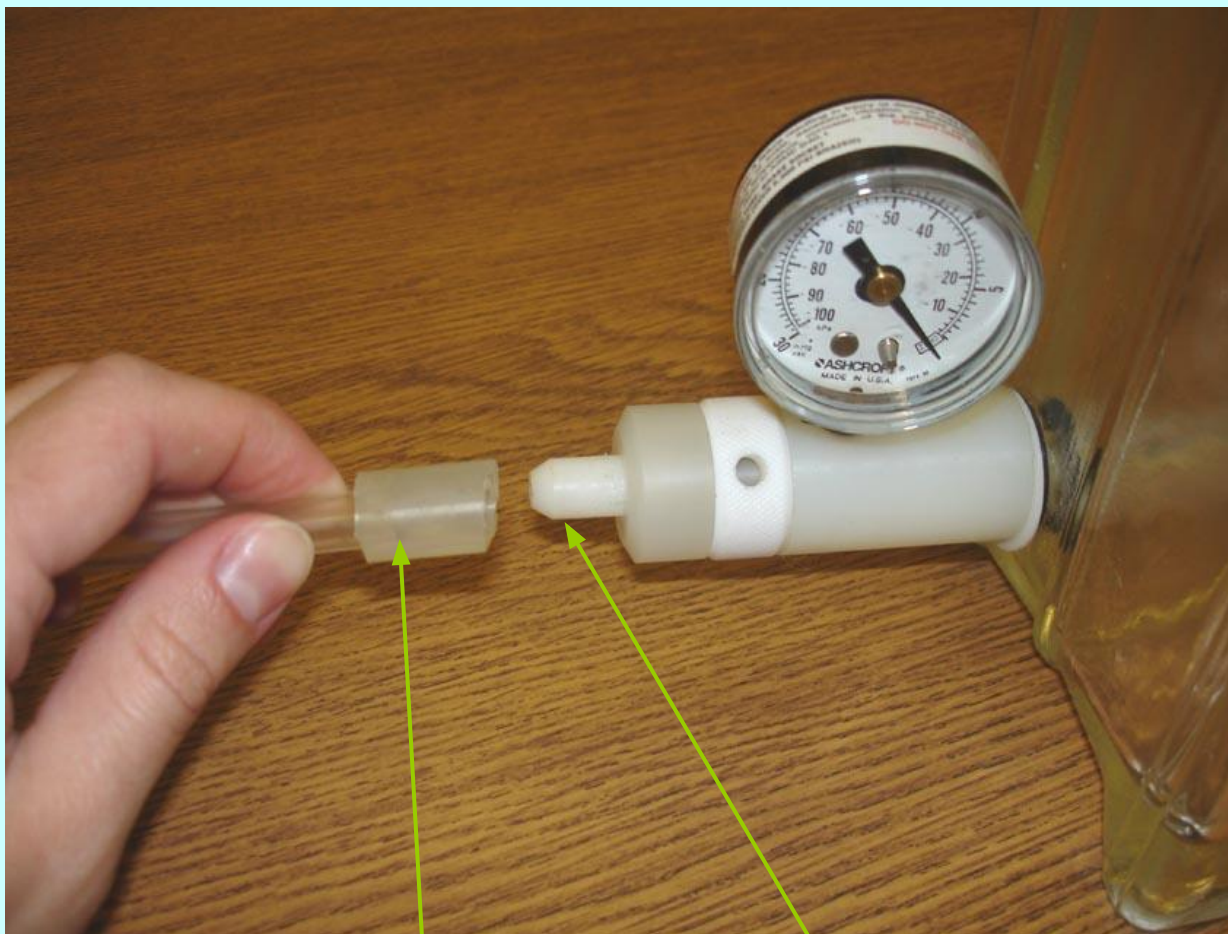
8. Запорные краны вставляются во внешние фитинги, которые будут задействованы в процессе твердофазной экстракции либо будут использоваться для регулировки давления в системе.



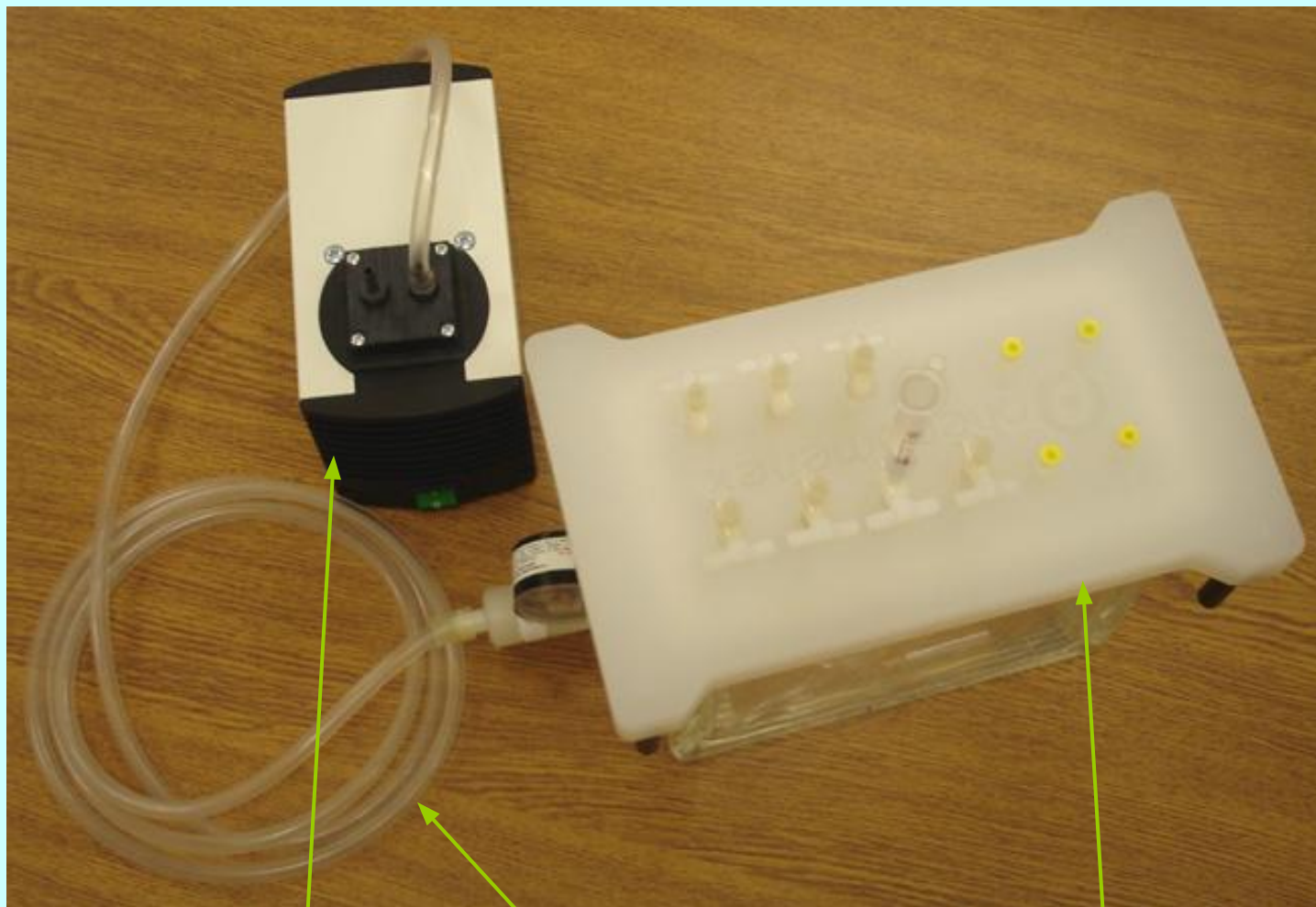
9. Патрон (картридж) присоединяется к запорному крану, который будет задействован в процессе твердофазной экстракции.



Патрон (картридж), присоединенный к запорному крану.



10. Шланг насоса присоединяется к устройству.
Возможно использование не только вакуумного, но и
обычного силиконового шланга, т.к. перепад давления в
установке по сравнению с атмосферным невелик
(обычно 0.2 – 0.4 бар).



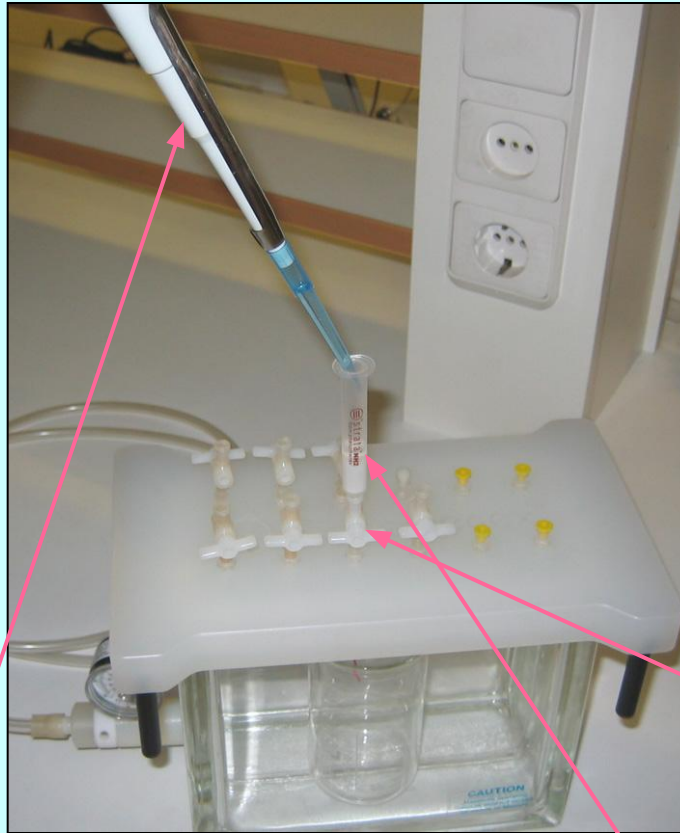
Насос, соединенный шлангом с устройством.
Длина шланга выбирается исходя из места
расположения насоса.



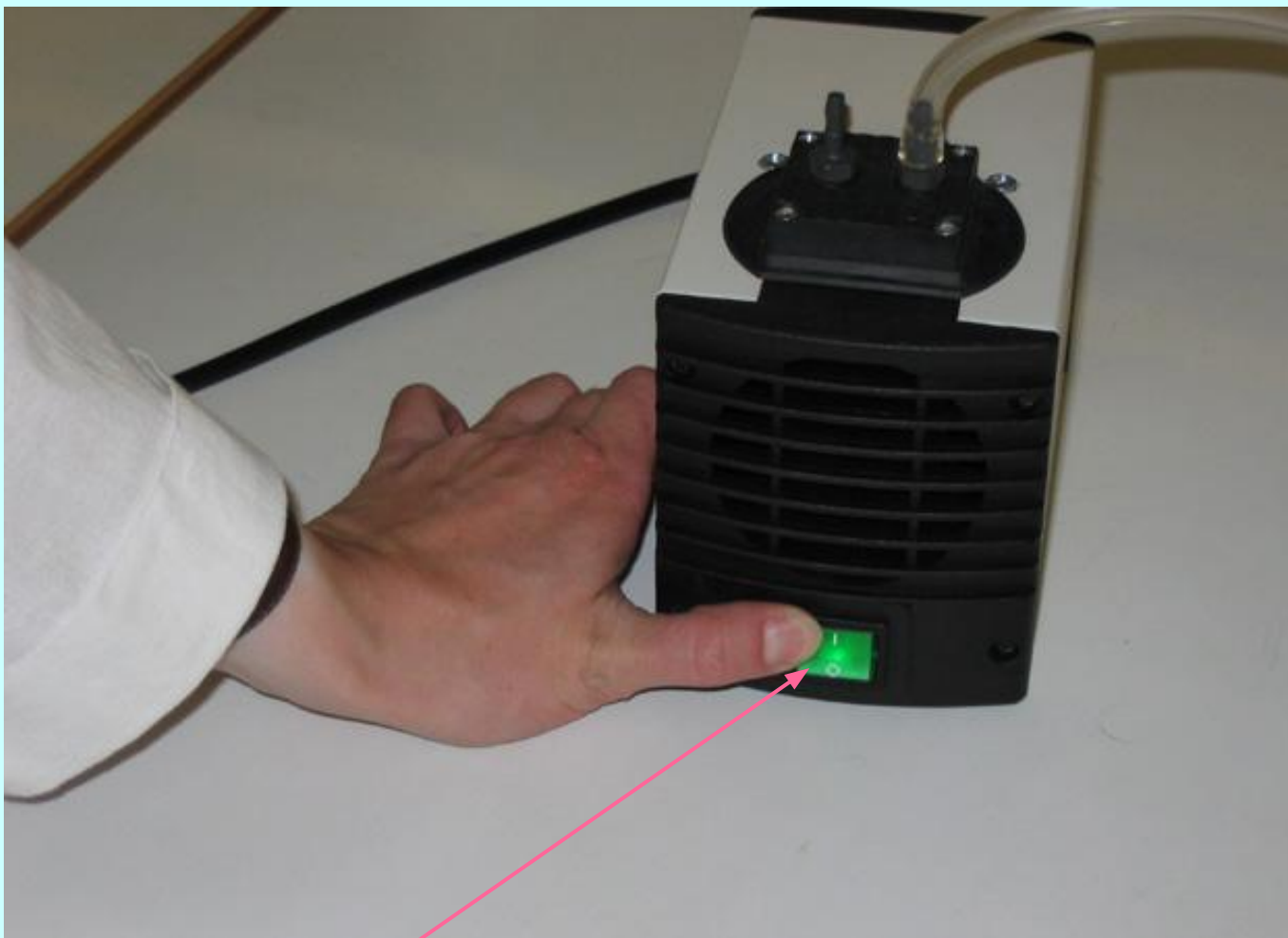
Установка в сборе.

**ПРОЦЕСС
ПРОВЕДЕНИЯ
УДЕРЖИВАЮЩЕЙ
ТФЭ**

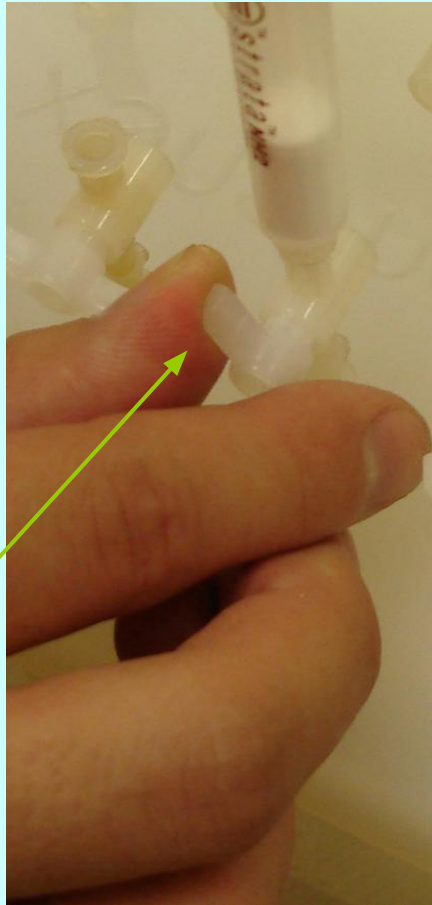
КОНДИЦИОНИРОВАНИЕ/ УРАВНОВЕШИВАНИЕ



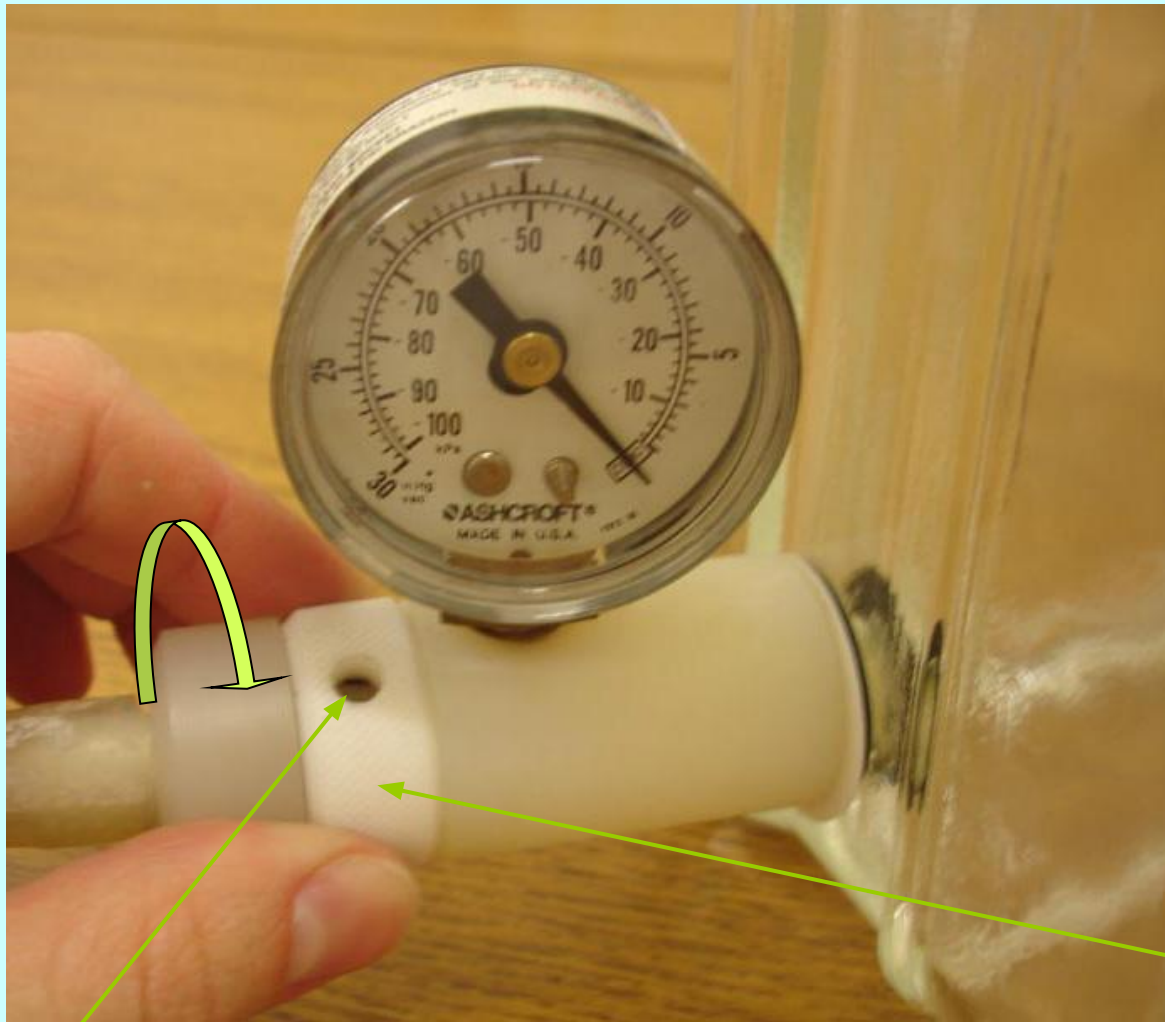
1. С помощью пипет-дозатора или пипетки на патрон наносится жидкость для его кондиционирования/уравновешивания. Запорный кран под патроном должен быть **закрыт** (ручка установлена перпендикулярно оси протекания жидкости).



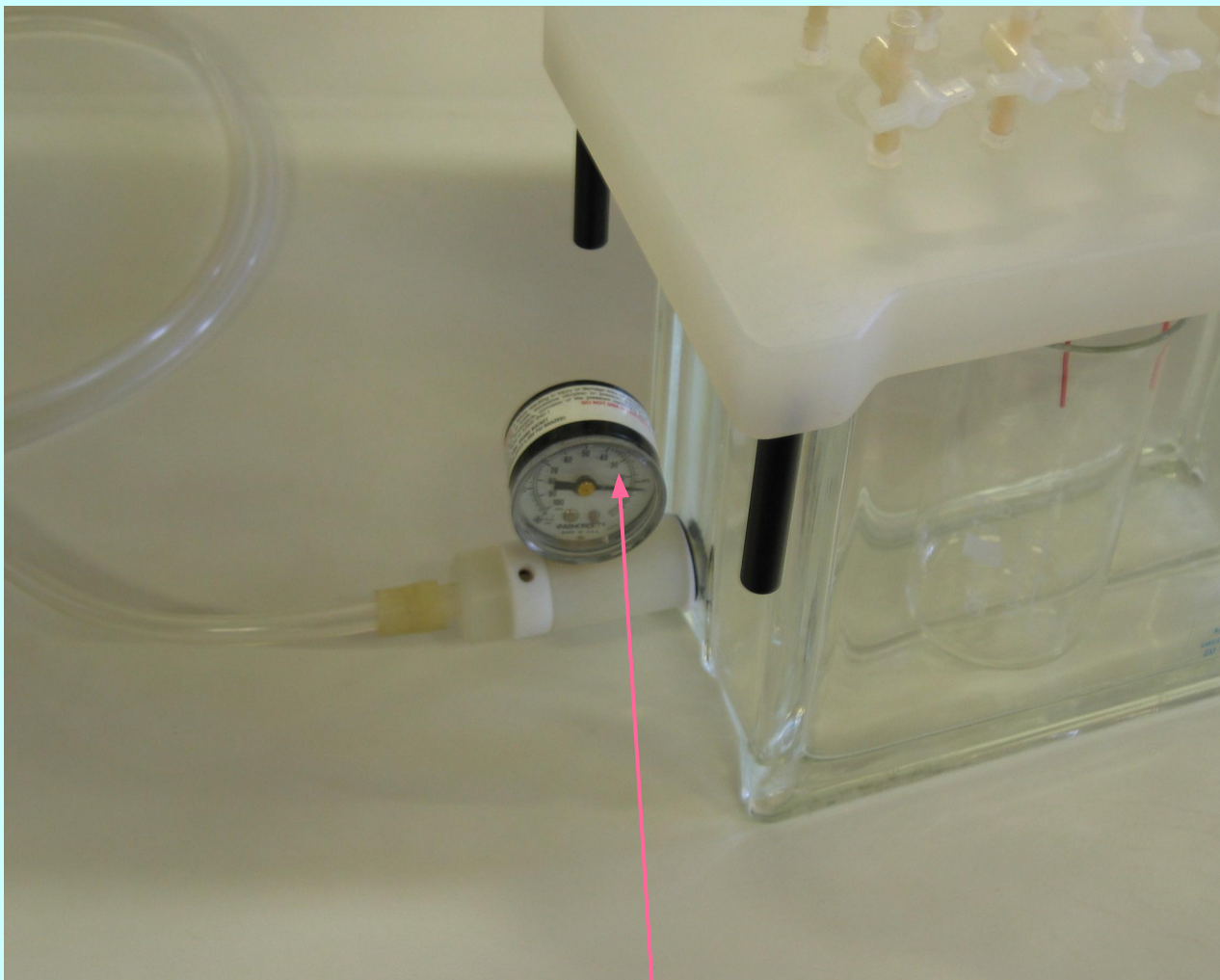
2. Включается вакуумный насос. Запорные краны при этом должны быть закрыты.



3. Запорный кран поворачивается в положение, позволяющее поддерживать нужную скорость элюирования. Управление скоростью потока жидкости, проходящего через патрон, осуществляется с помощью запорного крана,

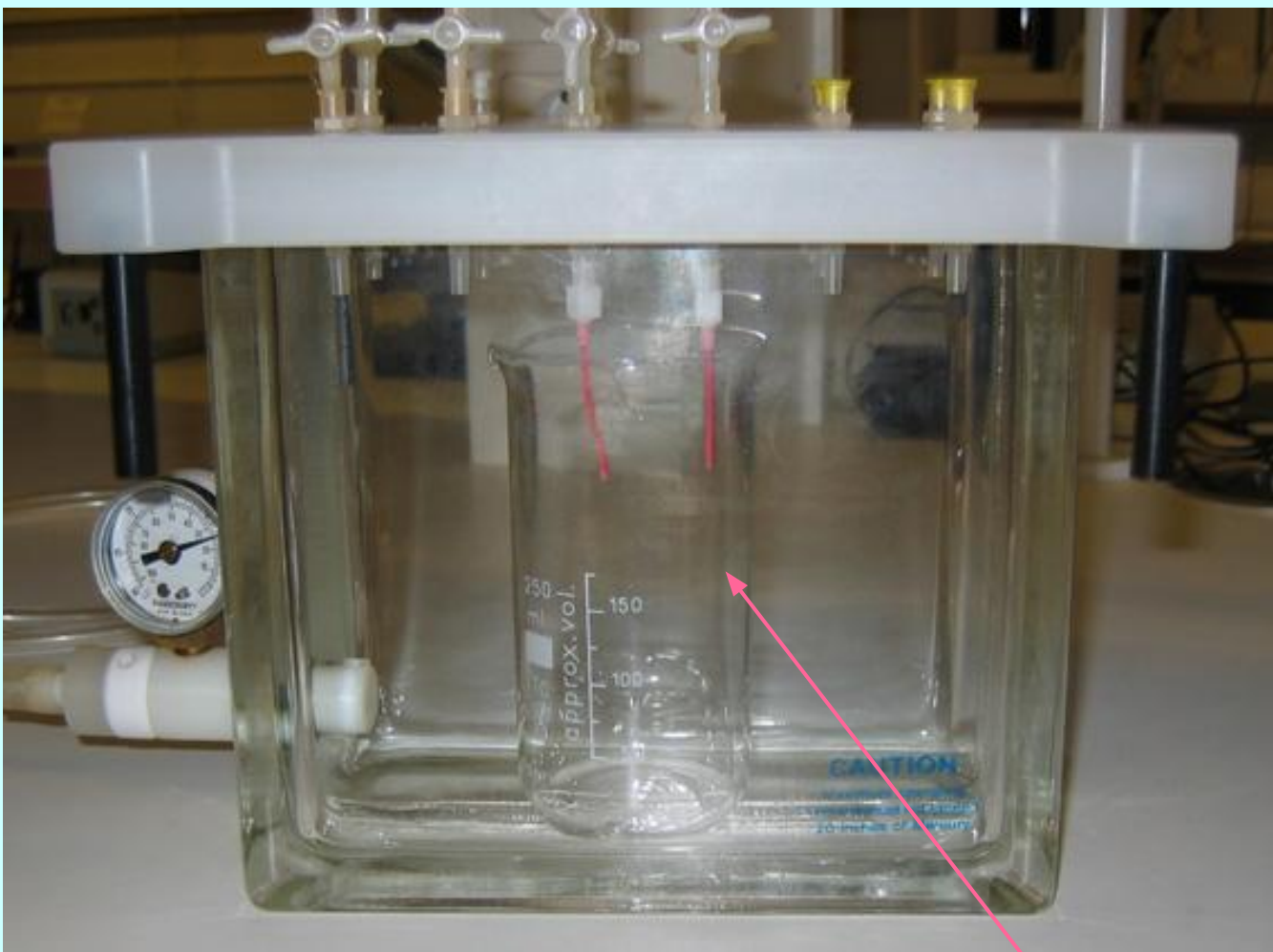


а также регулированием давления в системе (путем изменения размера отверстия в вакуумной линии регулирующим вентилем или с помощью незадействованных для твердофазной экстракции запорных кранов).

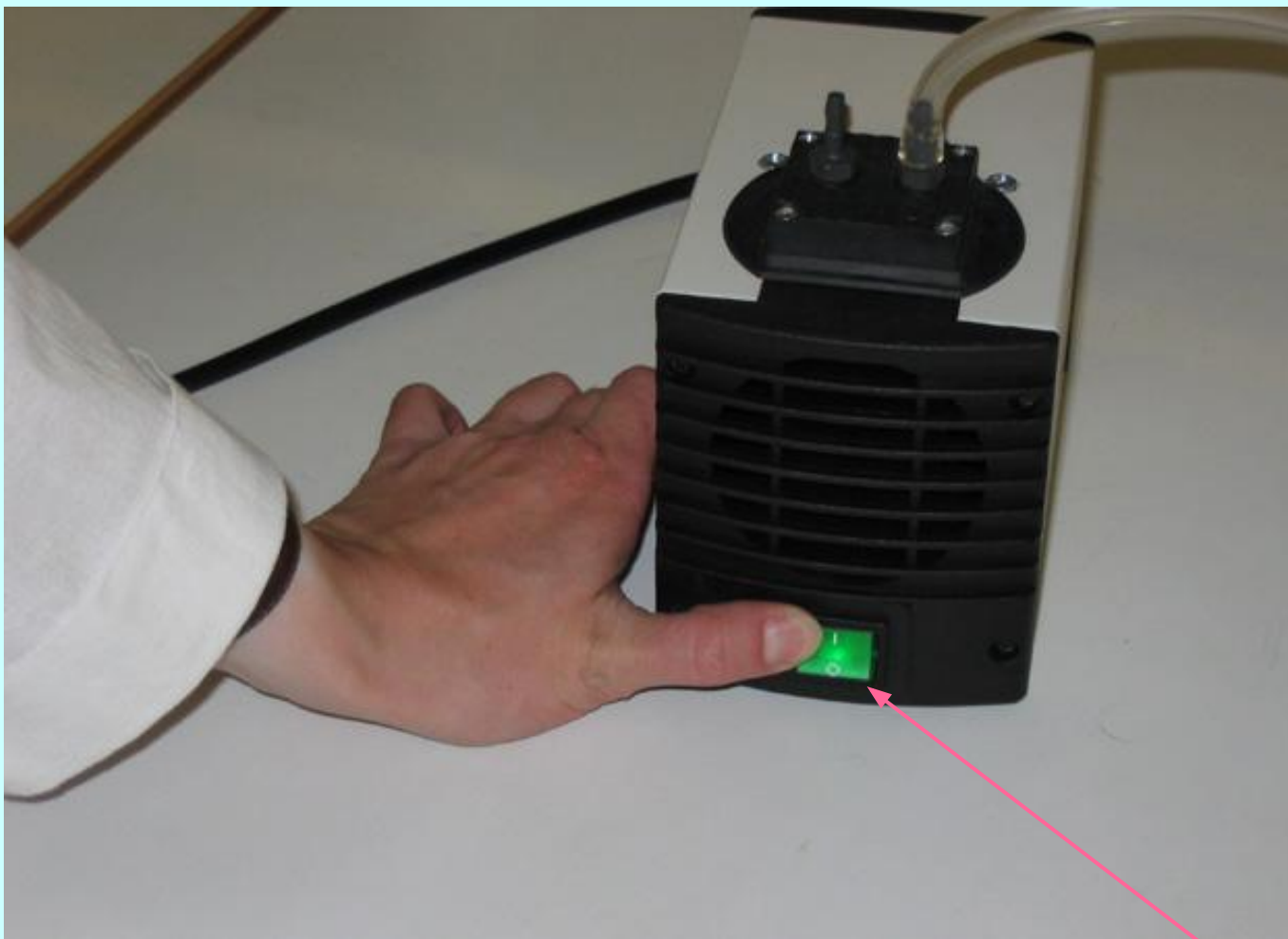


Во время элюирования вакуум желательно поддерживать на уровне примерно 30-40 кПа (по показанию манометра).

ВНИМАНИЕ! Предельно допустимый уровень давления составляет 65 кПа.



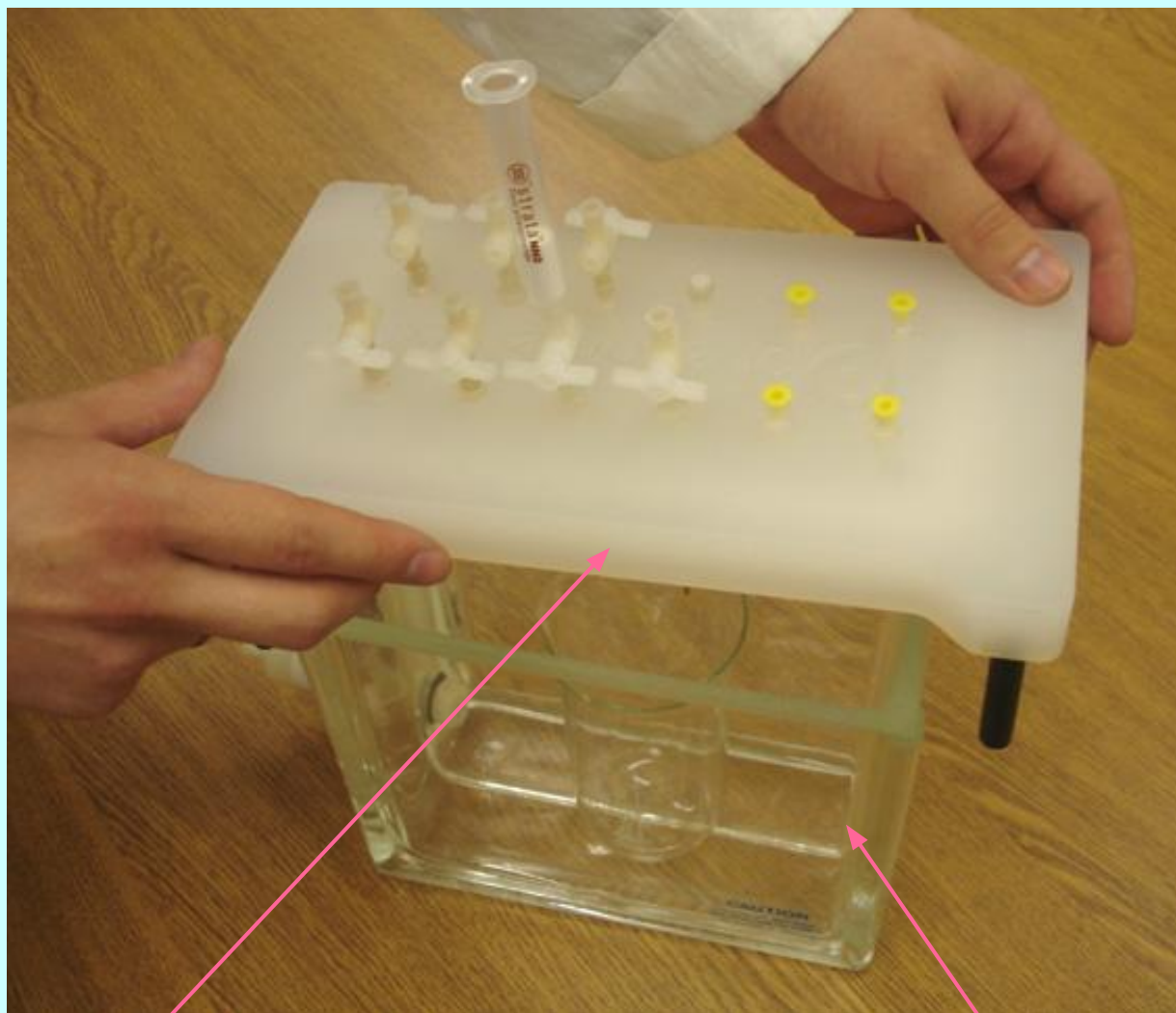
4. Элюат собирается в емкости для слива.



5. По окончании процесса элюирования вакуумный насос выключается.

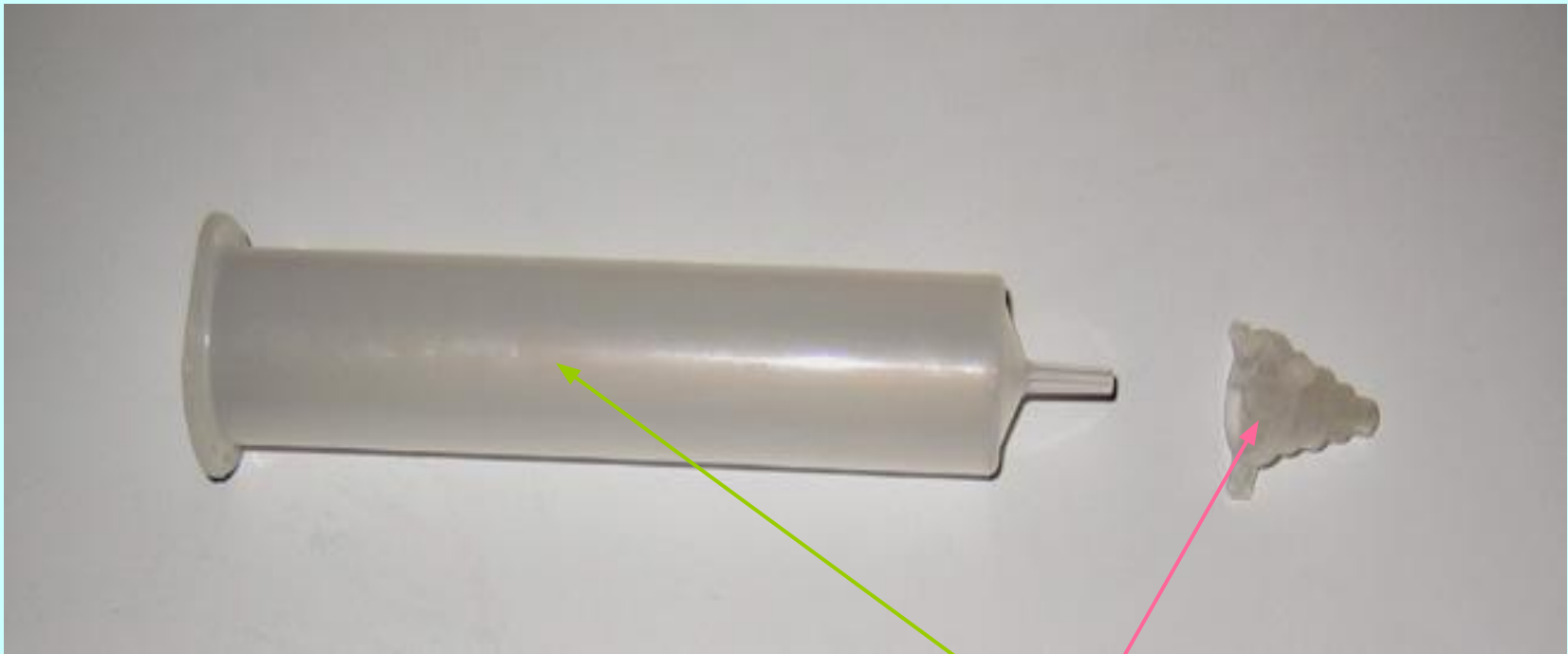


6. Вакуум в системе сбрасывают, максимально открывая отверстие вакуумной линии при помощи регулировочного вентиля.



7. Крышка устройства снимается с камеры.

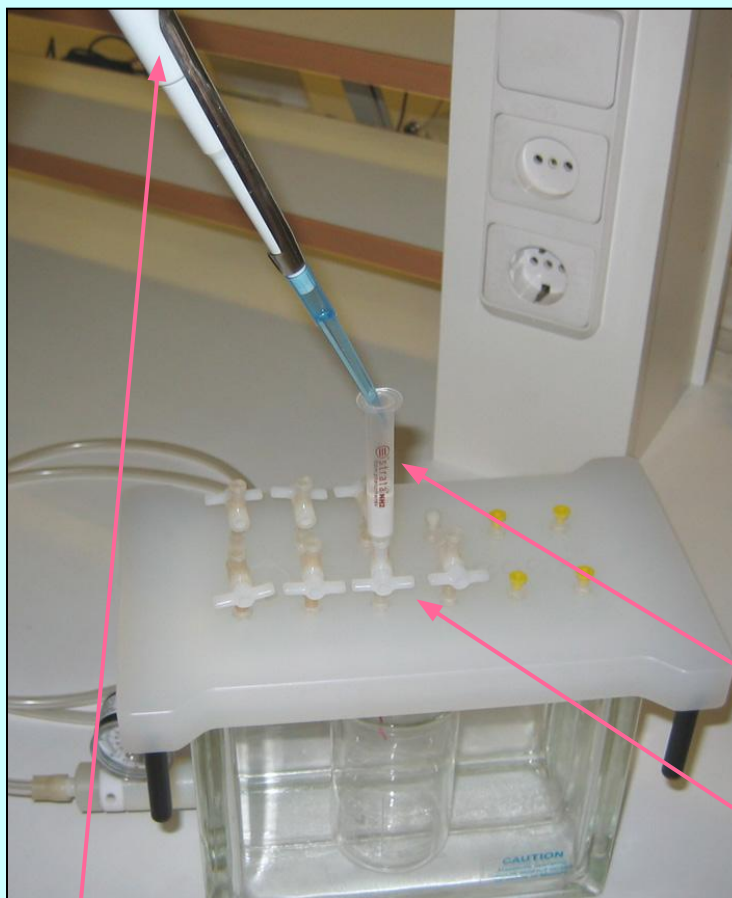
НАНЕСЕНИЕ ПРОБЫ



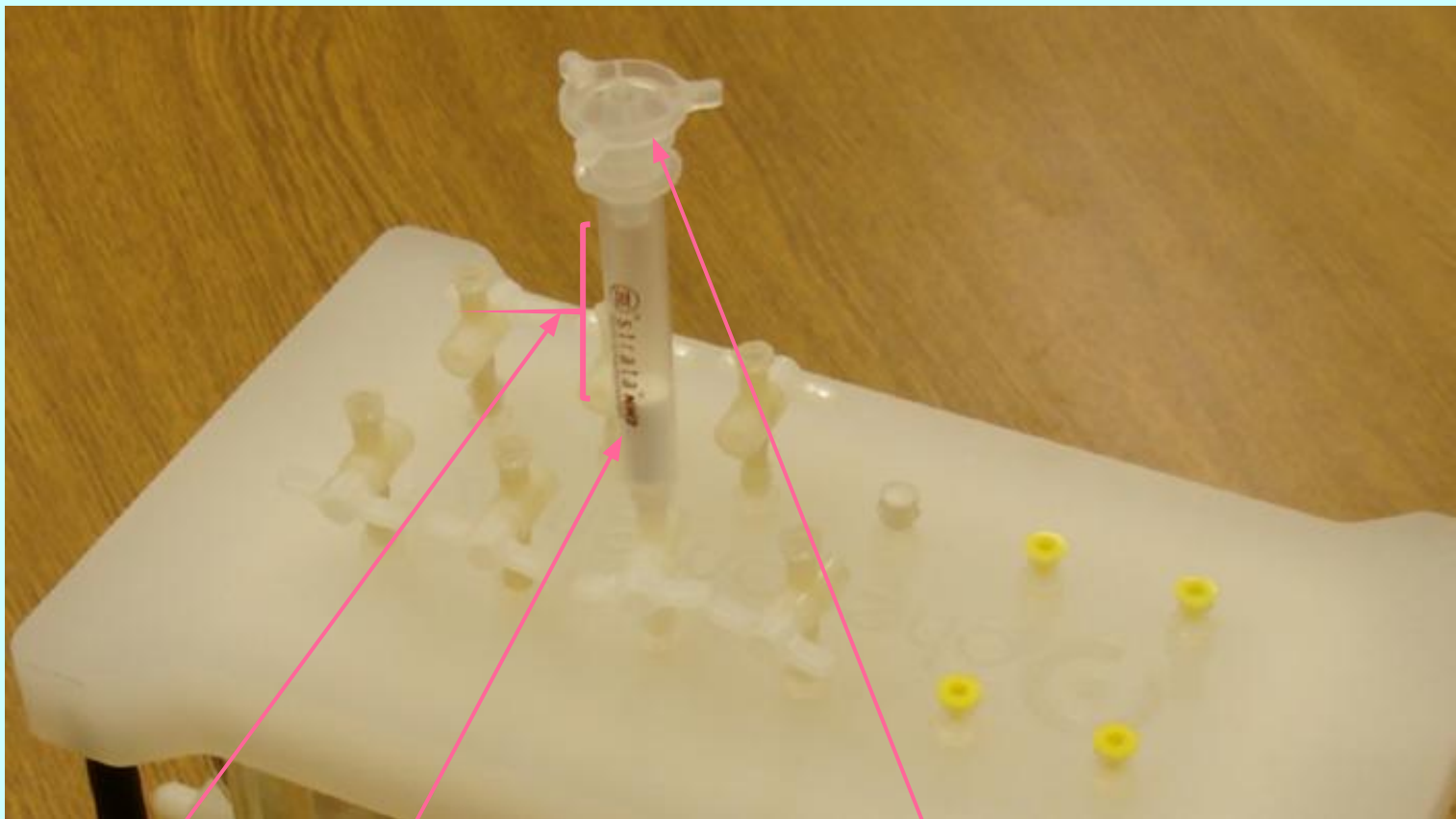
За процессами кондиционирования и уравнивания следует процесс нанесения пробы.

1. Для нанесения проб больших объемов применяются резервуары с адаптерами.

В качестве резервуара может быть использован корпус обычного одноразового медицинского пластикового шприца.

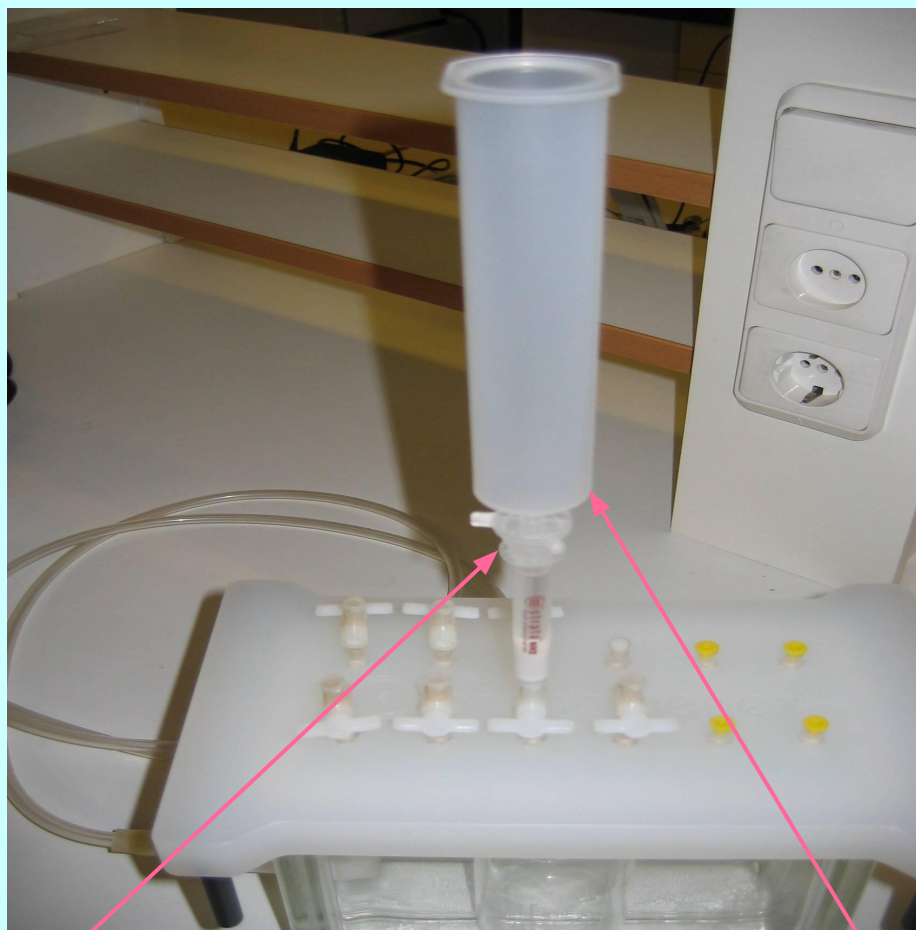


2. С помощью пипет-дозатора или пипетки на патрон наносится количество пробы, составляющее около $3/4$ вместимости патрона. Запорный кран под патроном должен быть закрыт.



3. К патрону присоединяется адаптер.

Это необходимо, если объем пробы по сравнению с «мертвым» объемом патрона достаточно велик, – чтобы постоянно не подливать пробу в патрон.



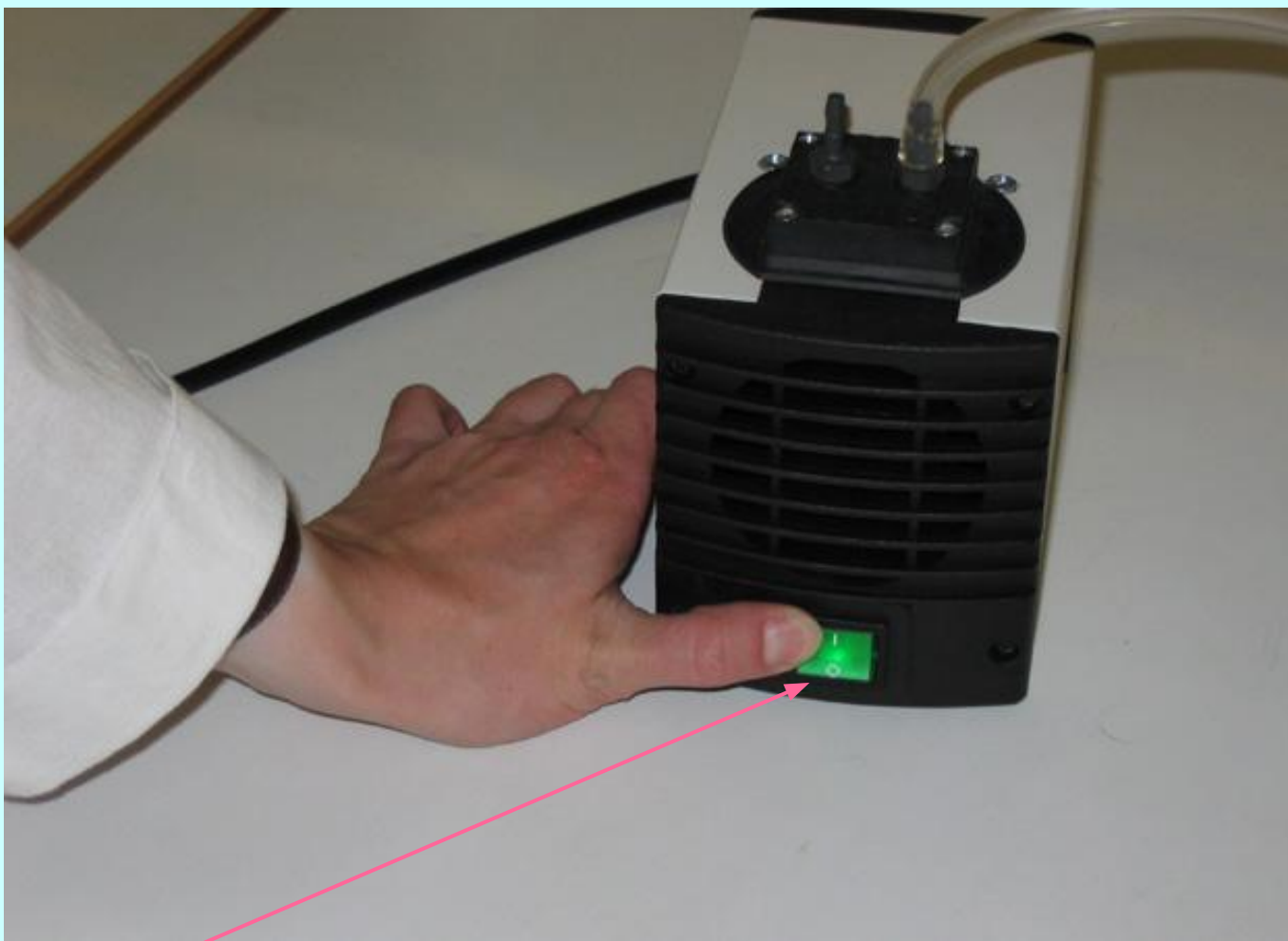
4. К адаптеру присоединяется резервуар.



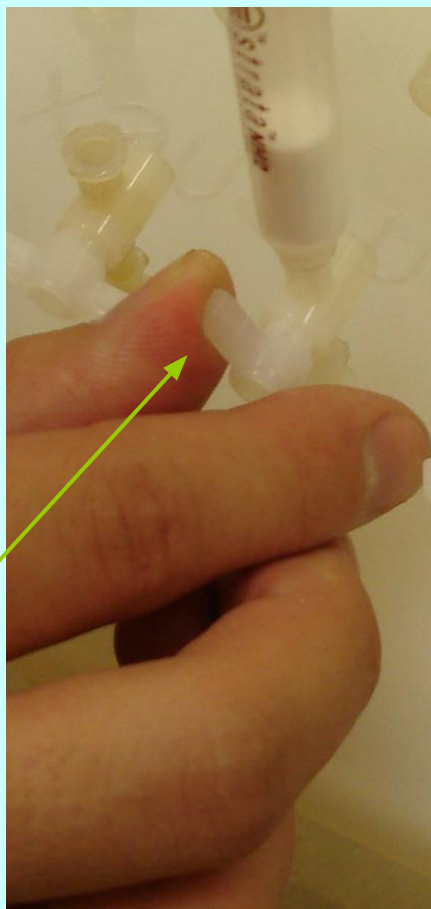
Вид установки сверху в случае одновременного использования четырех позиций для ТФЭ.



5. Из цилиндра (или другой емкости) в резервуар наливается проба.

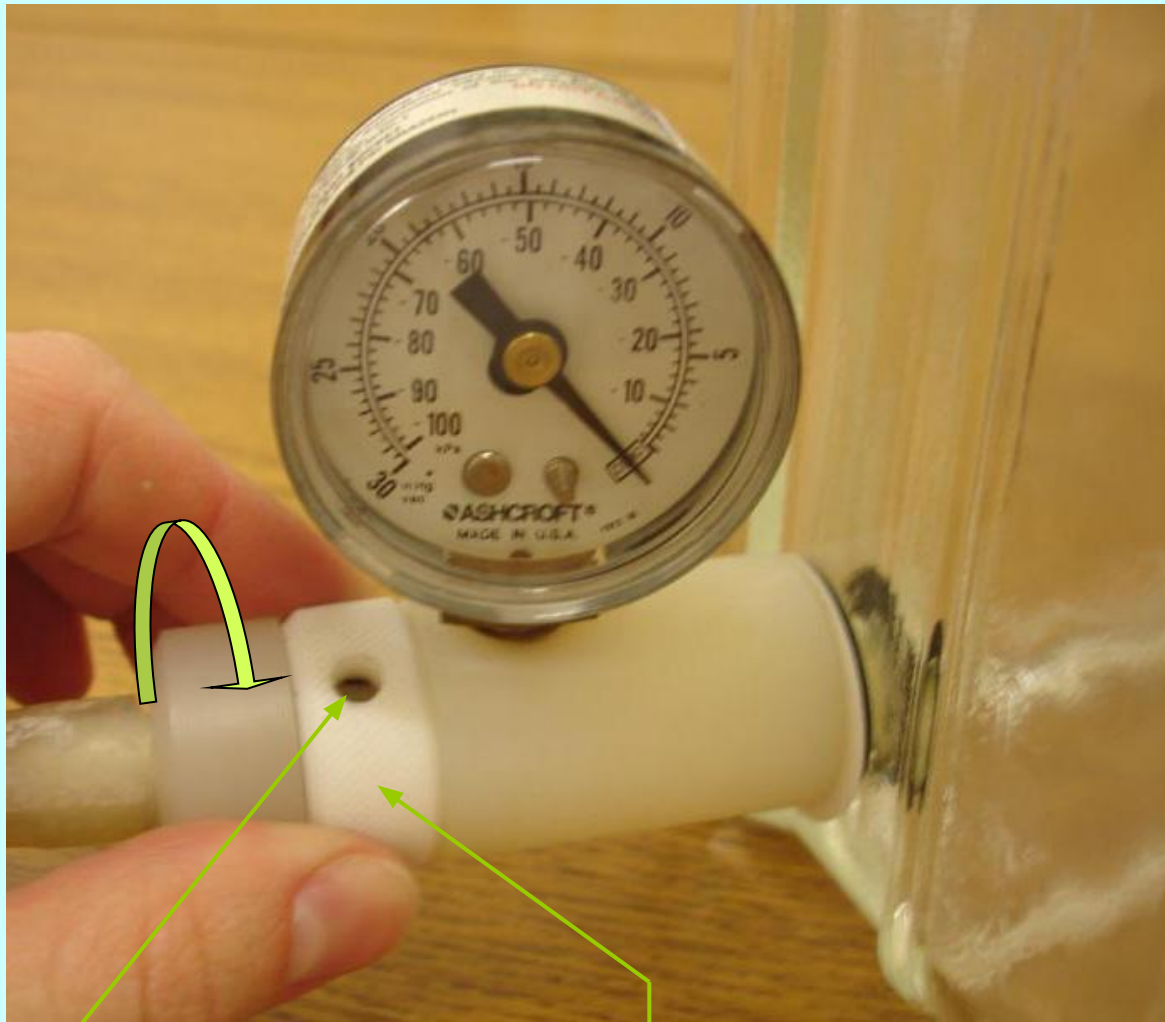


6. Включается вакуумный насос. Запорные краны при этом должны быть закрыты.

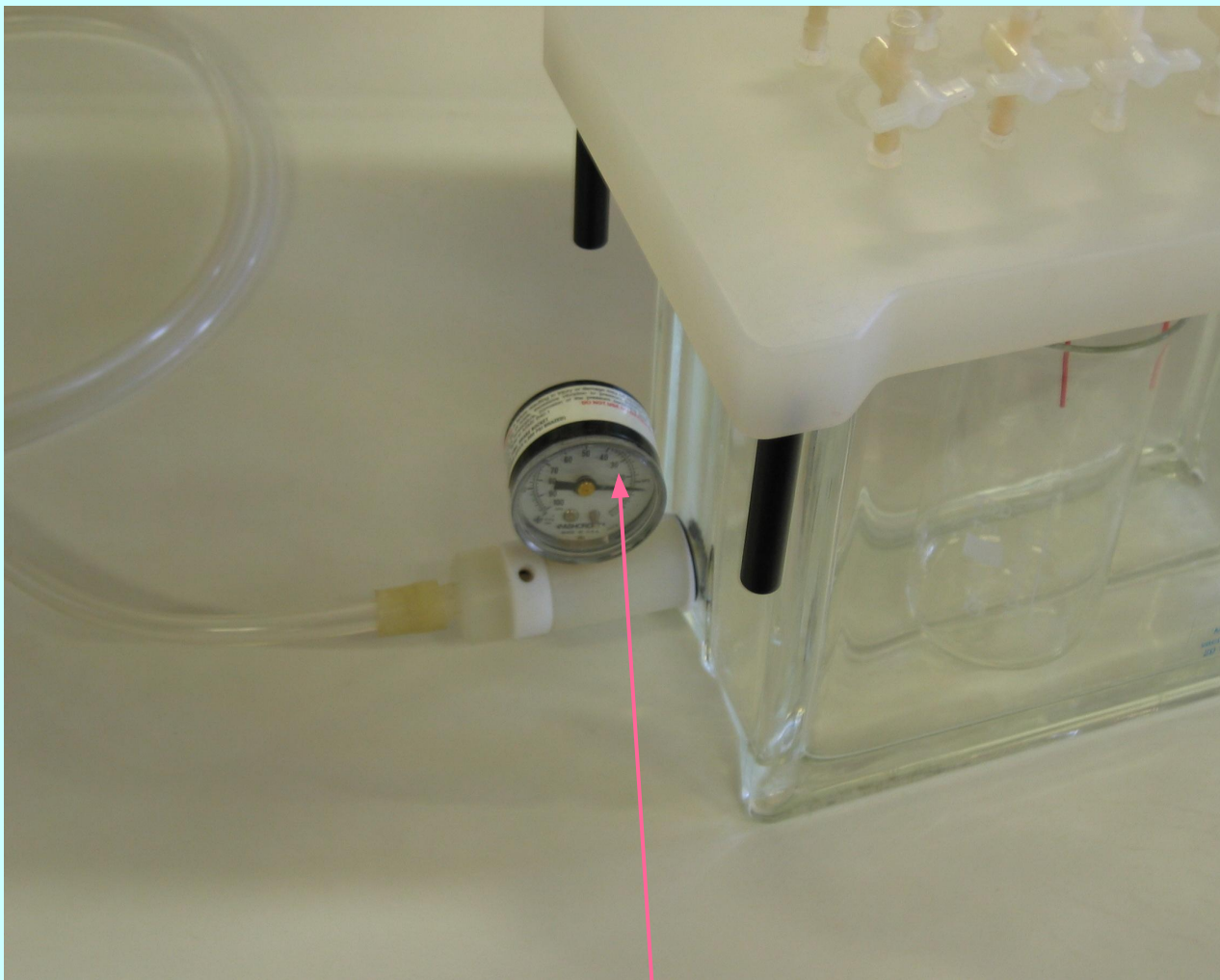


7. Запорный кран поворачивается в положение, позволяющее поддерживать нужную скорость элюирования.

Управление скоростью потока жидкости, проходящего через патрон, осуществляется с помощью запорного крана,

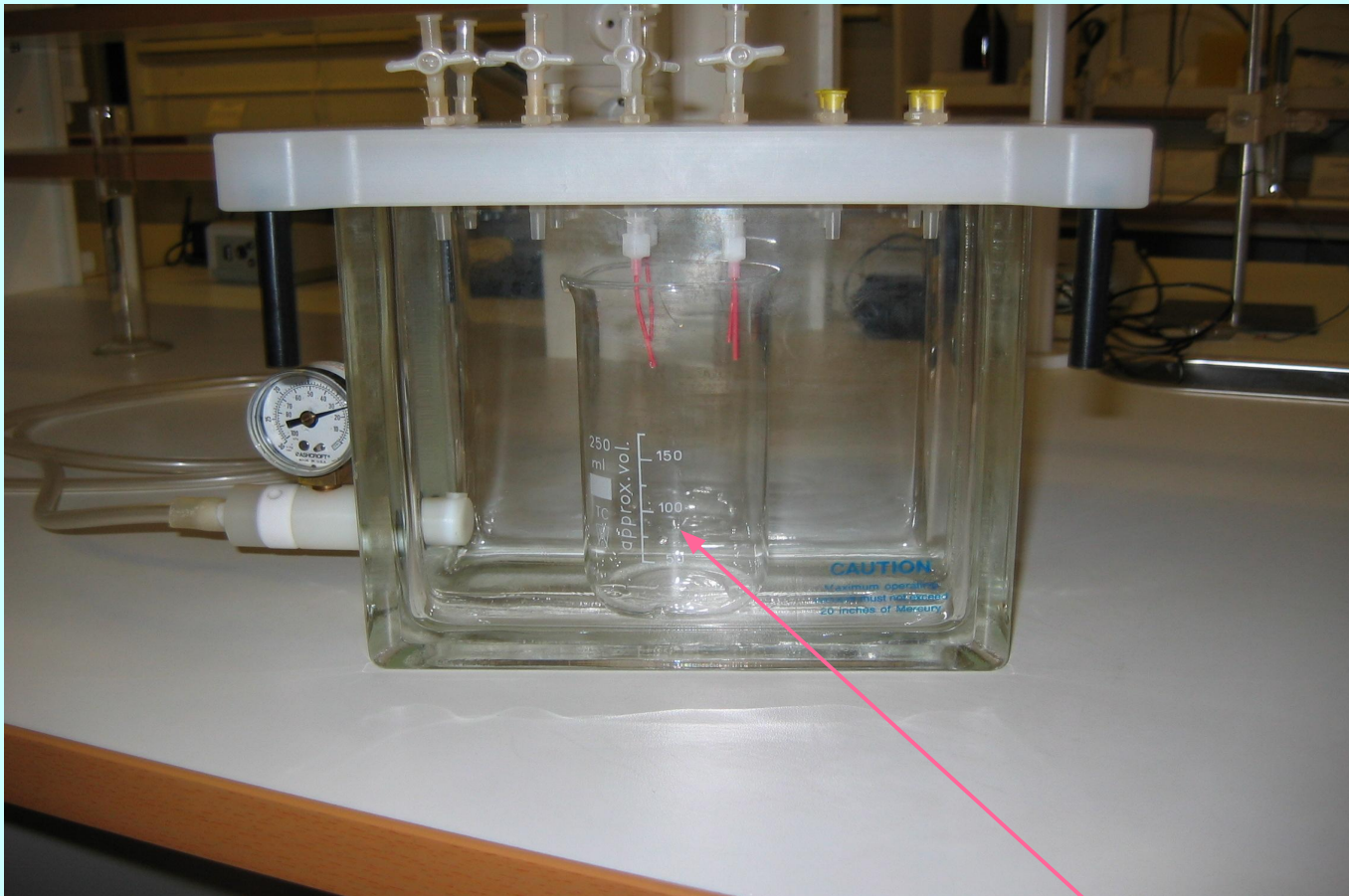


а также регулированием давления в системе (путем изменения размера отверстия в вакуумной линии регулирующим вентилем или с помощью незадействованных для твердофазной экстракции запорных кранов).

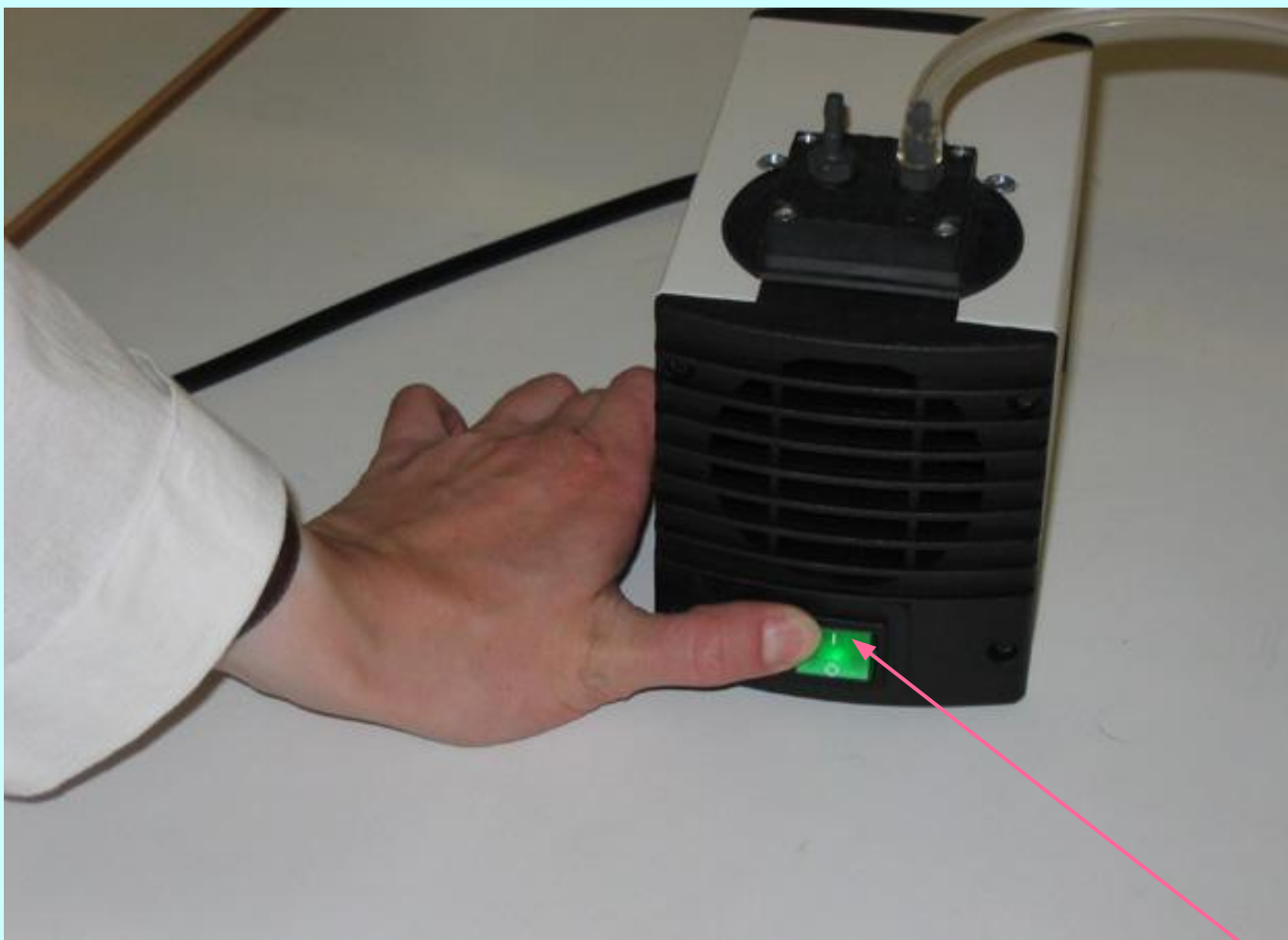


Во время элюирования вакуум желательно поддерживать на уровне примерно 30-40 кПа (по показанию манометра).

ВНИМАНИЕ! Предельно допустимый уровень давления составляет 65 кПа.



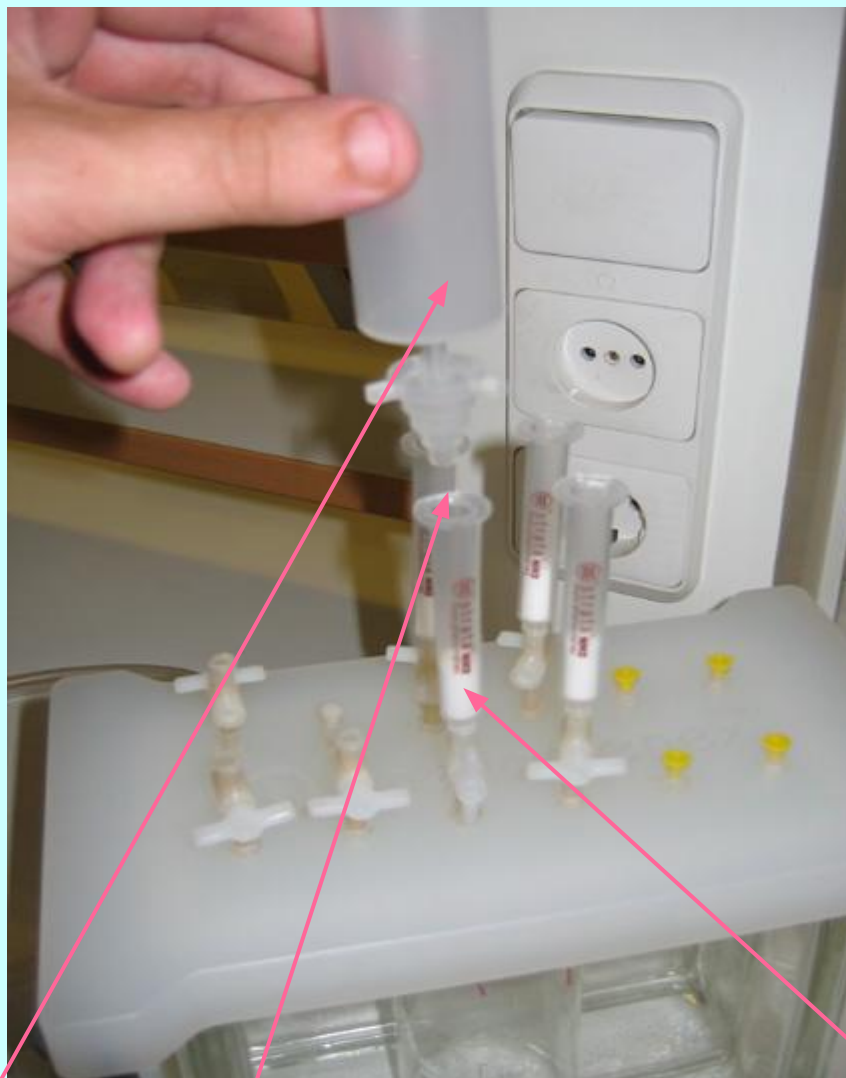
8. Элюат собирается в емкости для слива.



9. По окончании процесса элюирования вакуумный насос выключается.

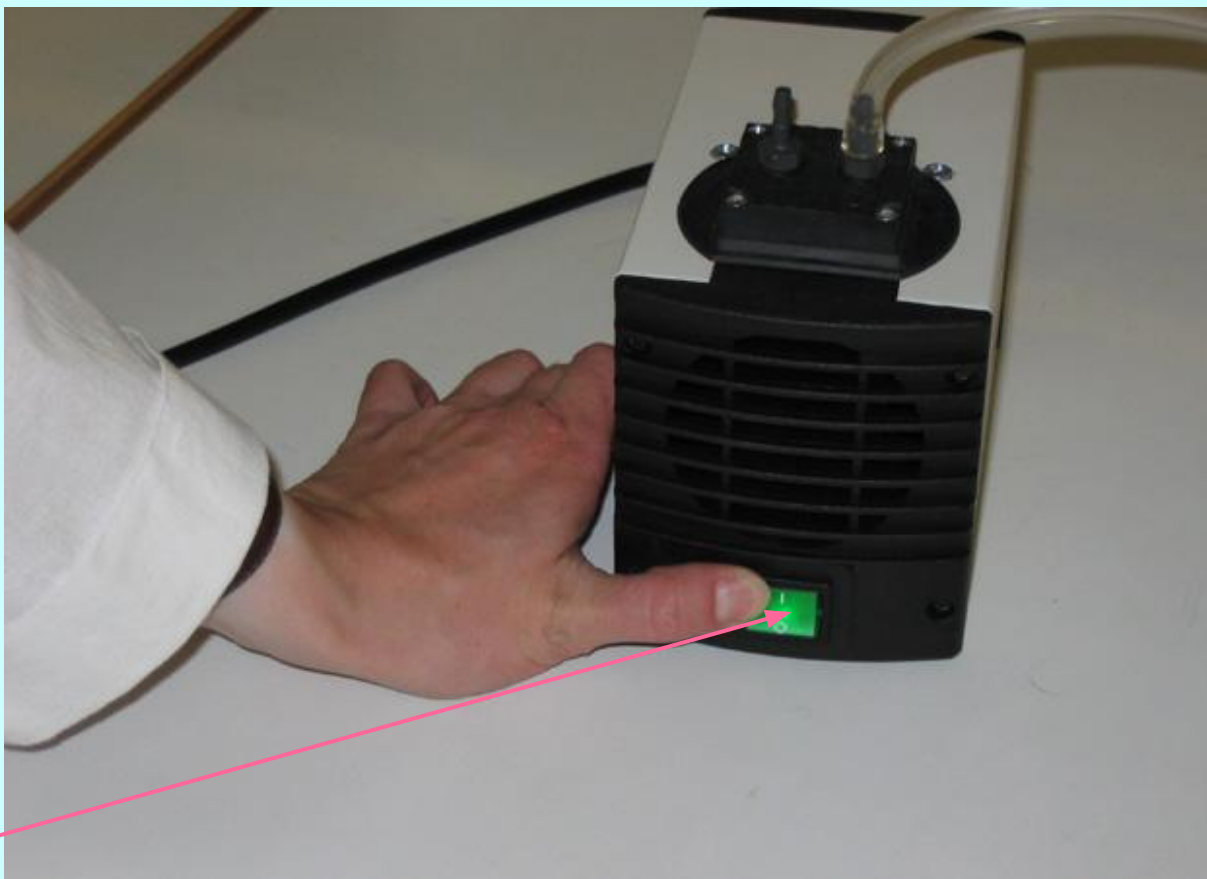


10. Вакуум в системе сбрасывают, максимально открывая отверстие вакуумной линии при помощи регулировочного вентиля.



11. Резервуар с адаптером снимается с патрона.

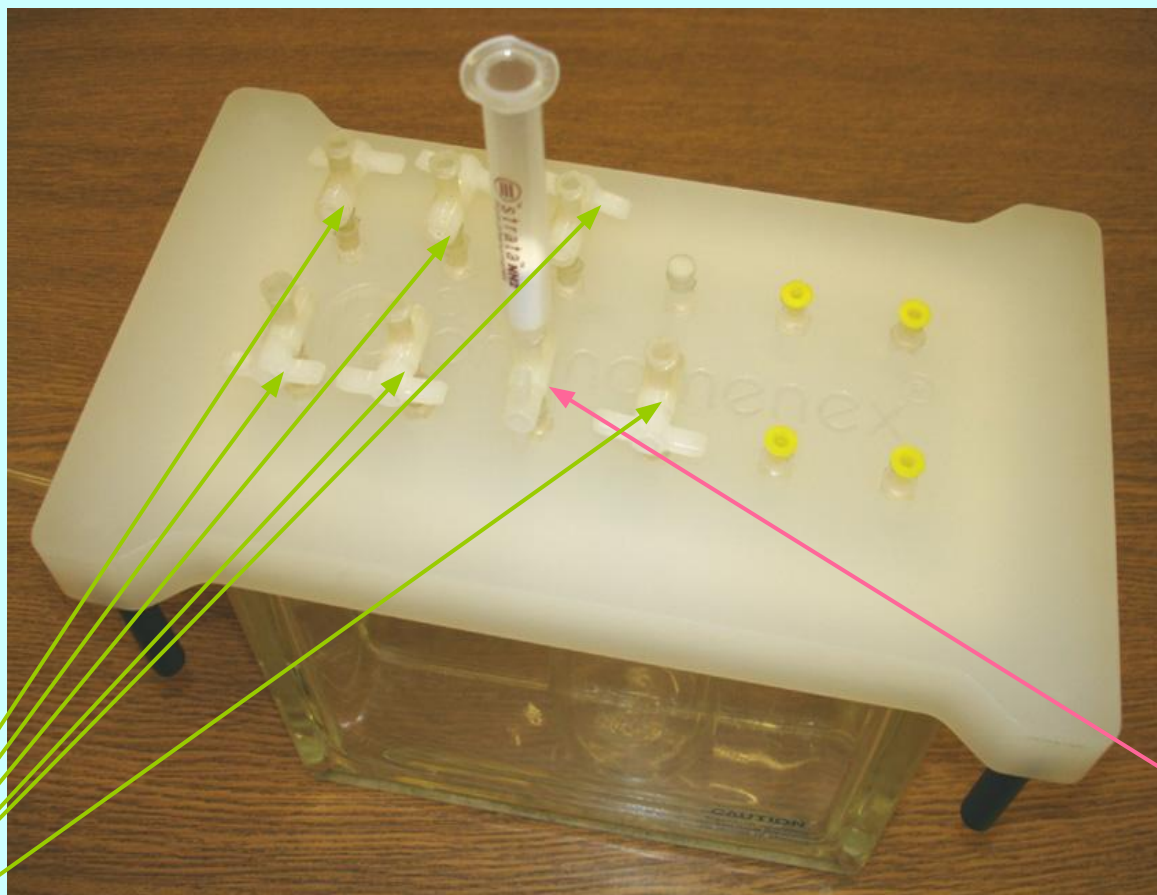
СУШКА СОРБЕНТА



После удаления резервуара с адаптером во многих методах ТФЭ необходима сушка сорбента.

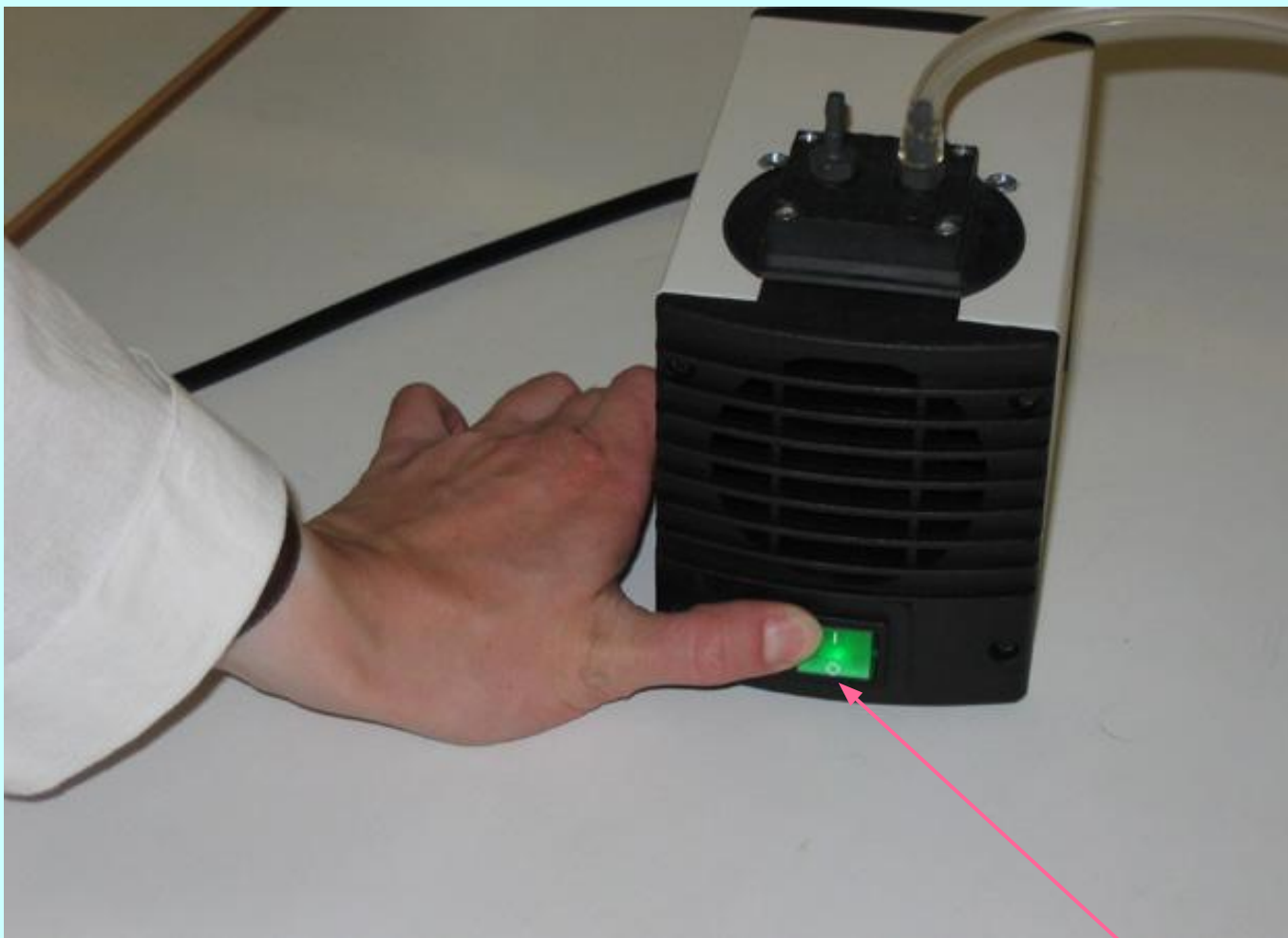
Для ее осуществления, **не разбирая установки**, следует:

1. Включить вакуумный насос. Все запорные краны, кроме крана, соединенного с высушиваемым патроном, при этом должны быть **закрыты**.



Все запорные краны, кроме крана, соединенного с высушиваемым патроном, закрываются.

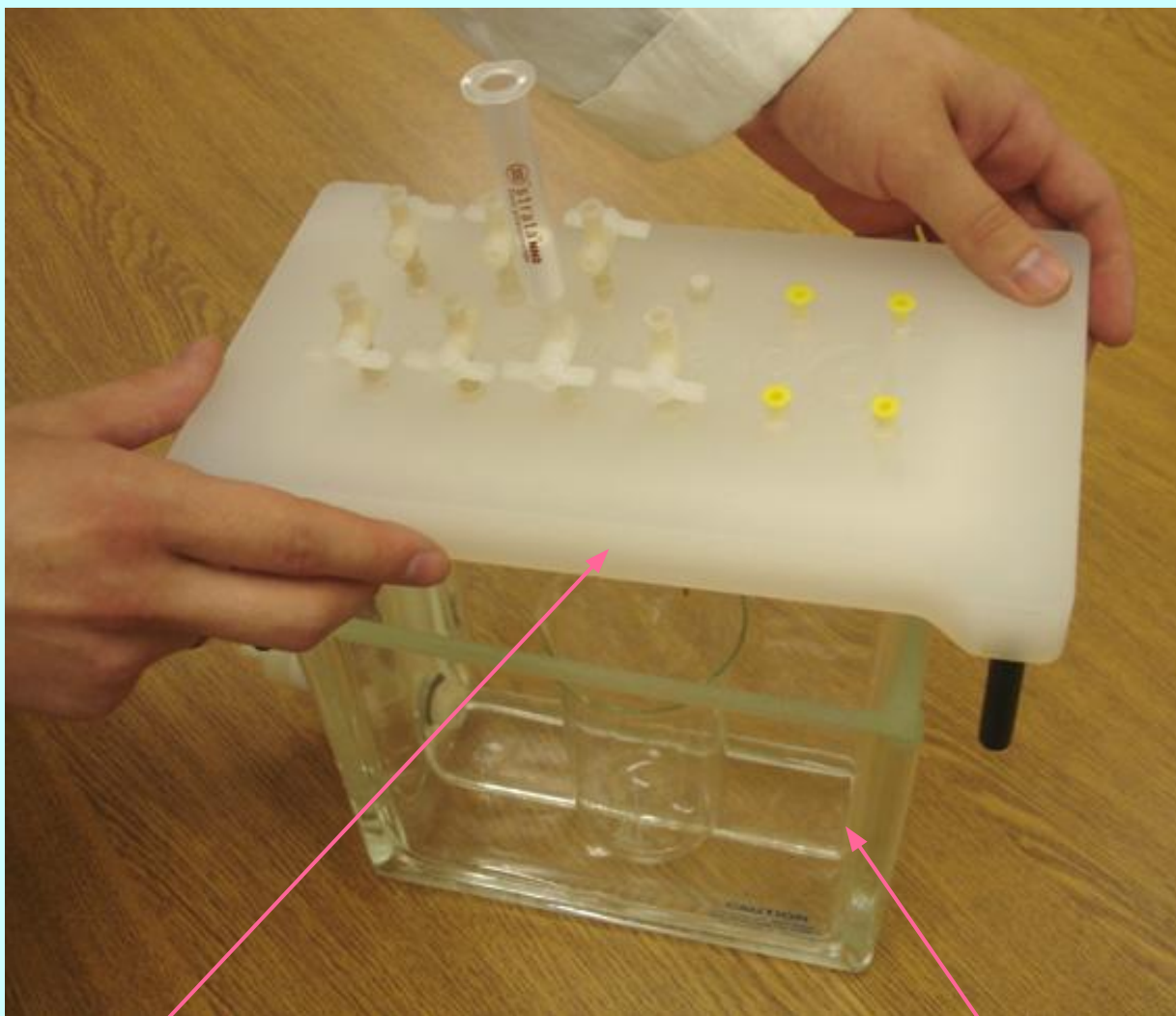
Время сушки указано в методике; сушку следует производить, контролируя вакуум в системе. Предельно допустимый уровень вакуума – 65 КПа.



2. По окончании процесса сушки вакуумный насос выключается.



3. Вакуум в системе сбрасывают, максимально открывая отверстие вакуумной линии при помощи регулировочного вентиля.



4. Крышка устройства снимается с камеры.

ПРОМЫВКА СОРБЕНТА

В зависимости от природы анализируемого вещества промывка сорбента может осуществляться как до процесса его сушки, так и после него.

Условия промывки – состав растворителя (растворителей), объемы и скорость элюирования отражены в методиках выполнения измерений и методических указаниях.

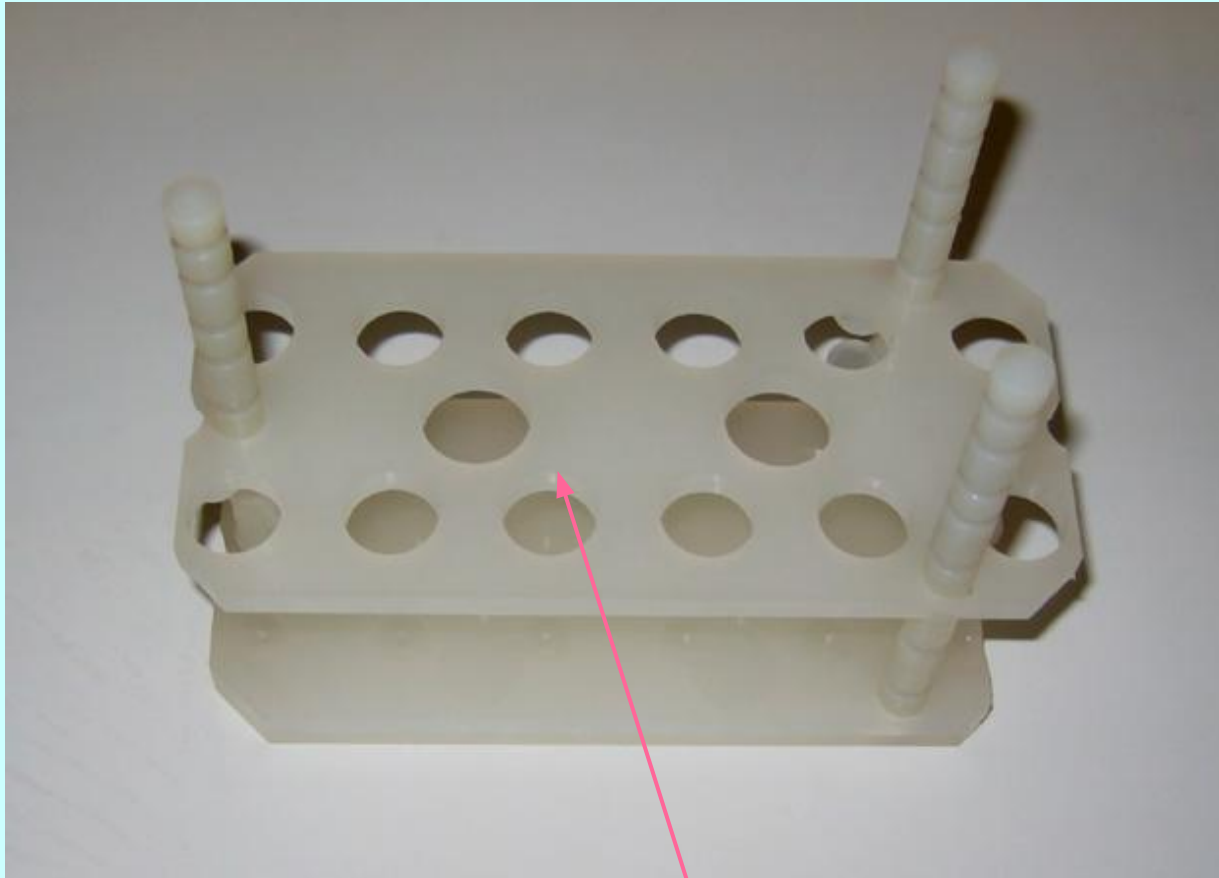
Техника нанесения растворителей на патрон при промывке аналогична применяемой в процессах кондиционирования/уравновешивания патрона ТФЭ (см. раздел «Кондиционирование/уравновешивание»).

Если метод требует использование нескольких растворителей, после нанесения и элюирования первого из них запорный кран закрывают, не допуская высушивания поверхности сорбента, и, не выключая вакуумный насос (обязательно следя за давлением в системе, чтобы его значение не превысило допустимое), наносят следующий. Таким образом процесс повторяют до использования последнего растворителя.

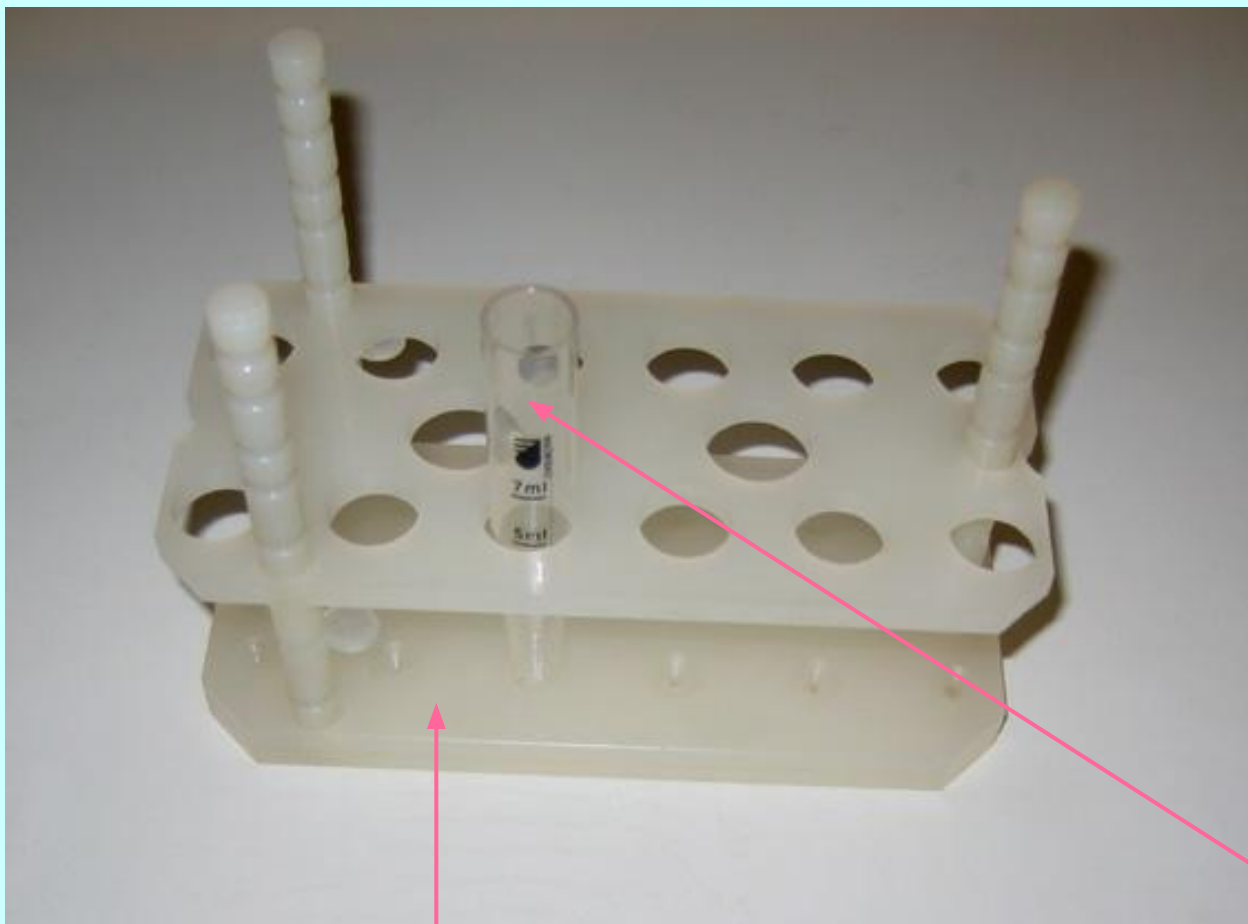


5. После промывки и сушки сорбента емкость для слива (в данном случае стакан) удаляется из камеры.

ЭЛЮИРОВАНИЕ ЦЕЛЕВОГО КОМПОНЕНТА

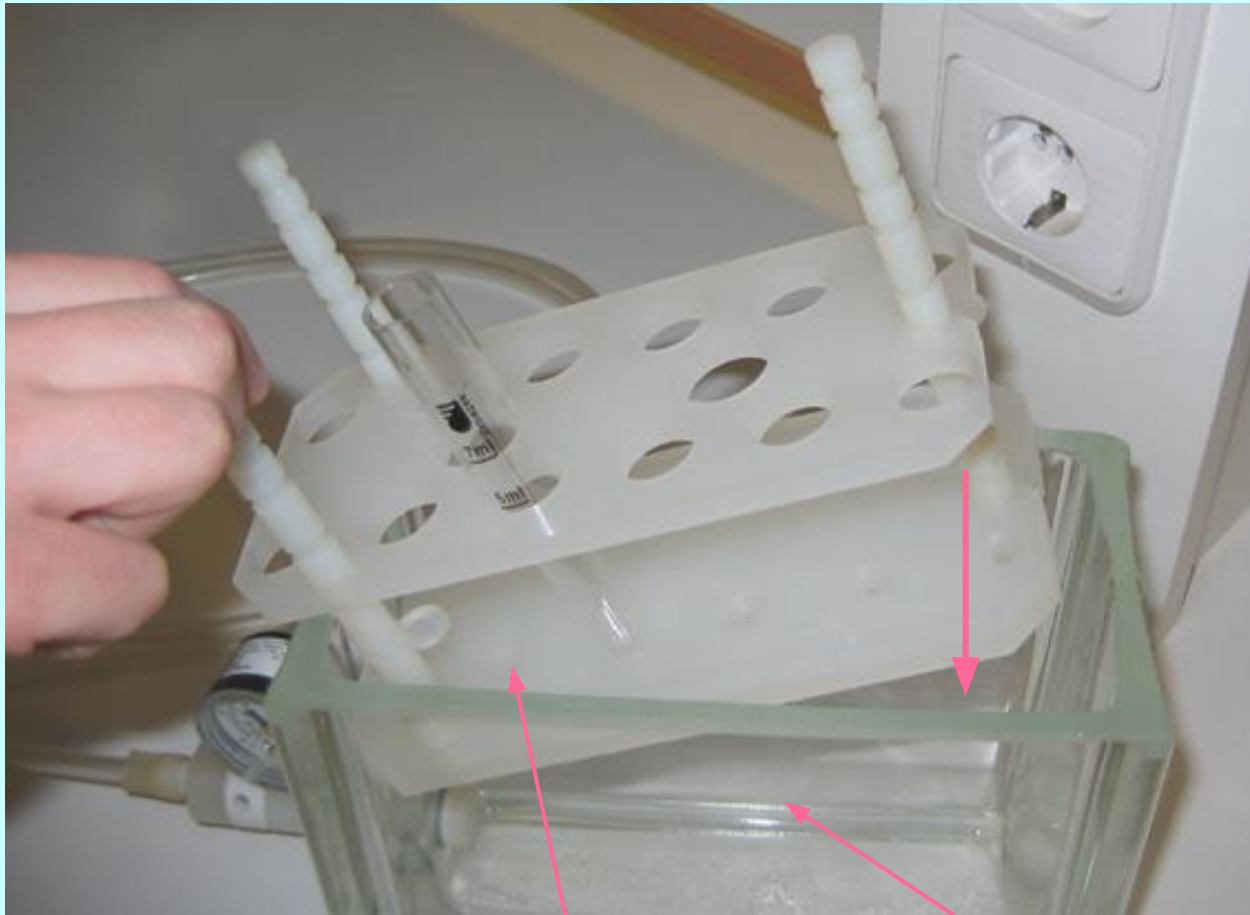


Далее проводится элюирование целевого компонента с патрона.
1. Готовится штатив для пробирок из комплекта устройства.

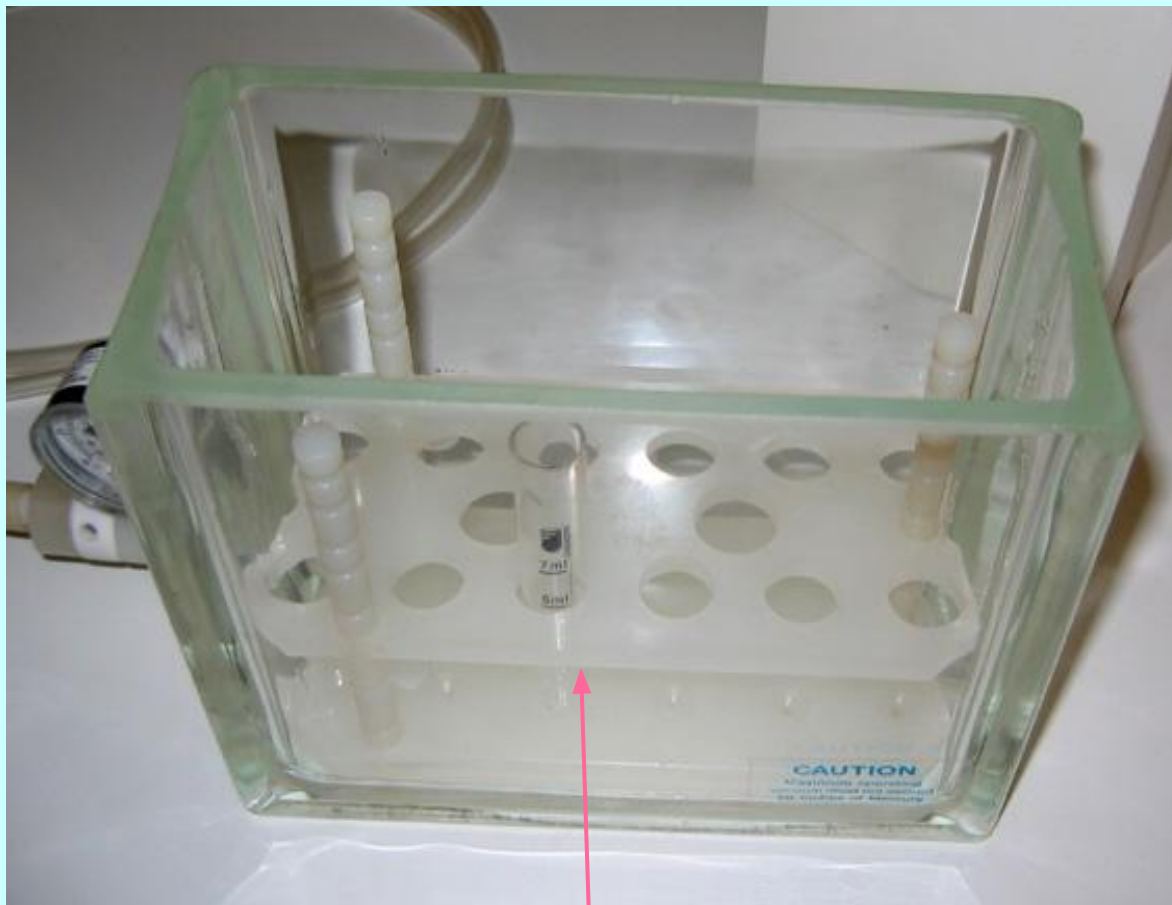


2. В штатив для пробирок помещается пробирка с коническим дном.

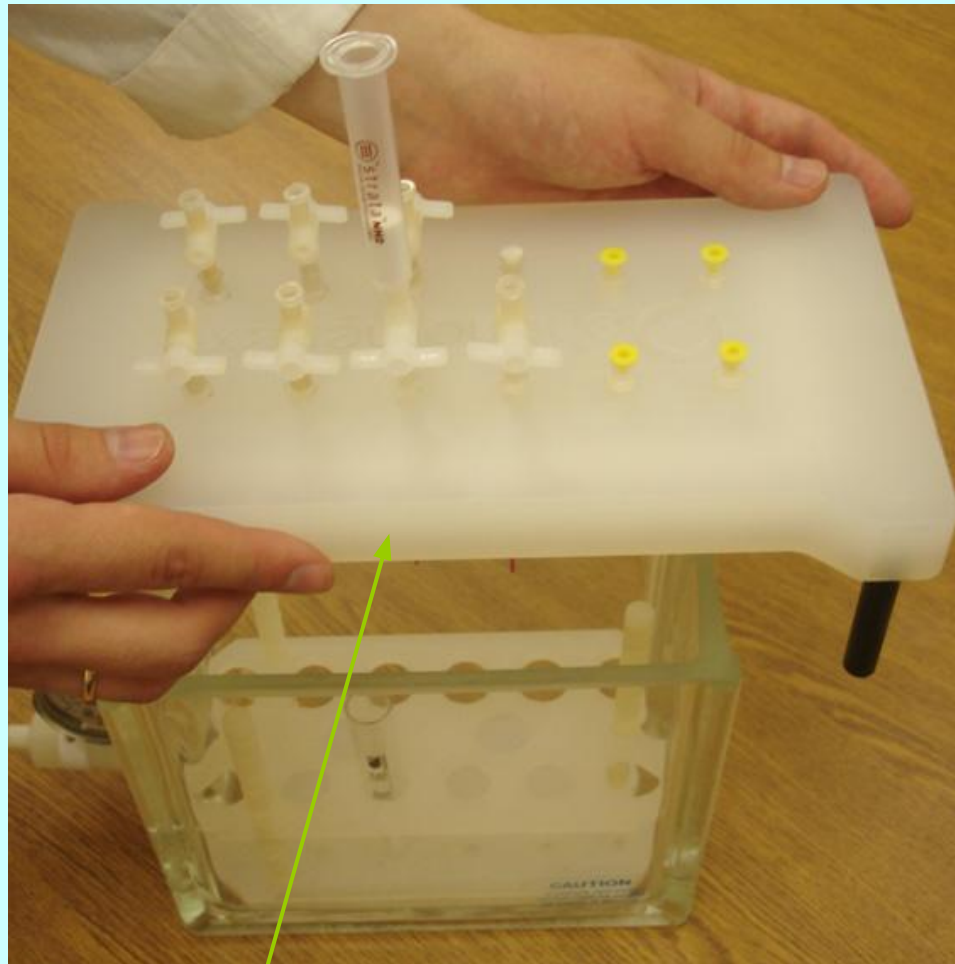
Пробирку следует устанавливать в ту позицию на штативе, которая будет находится под иглой, задействованной в элюировании.



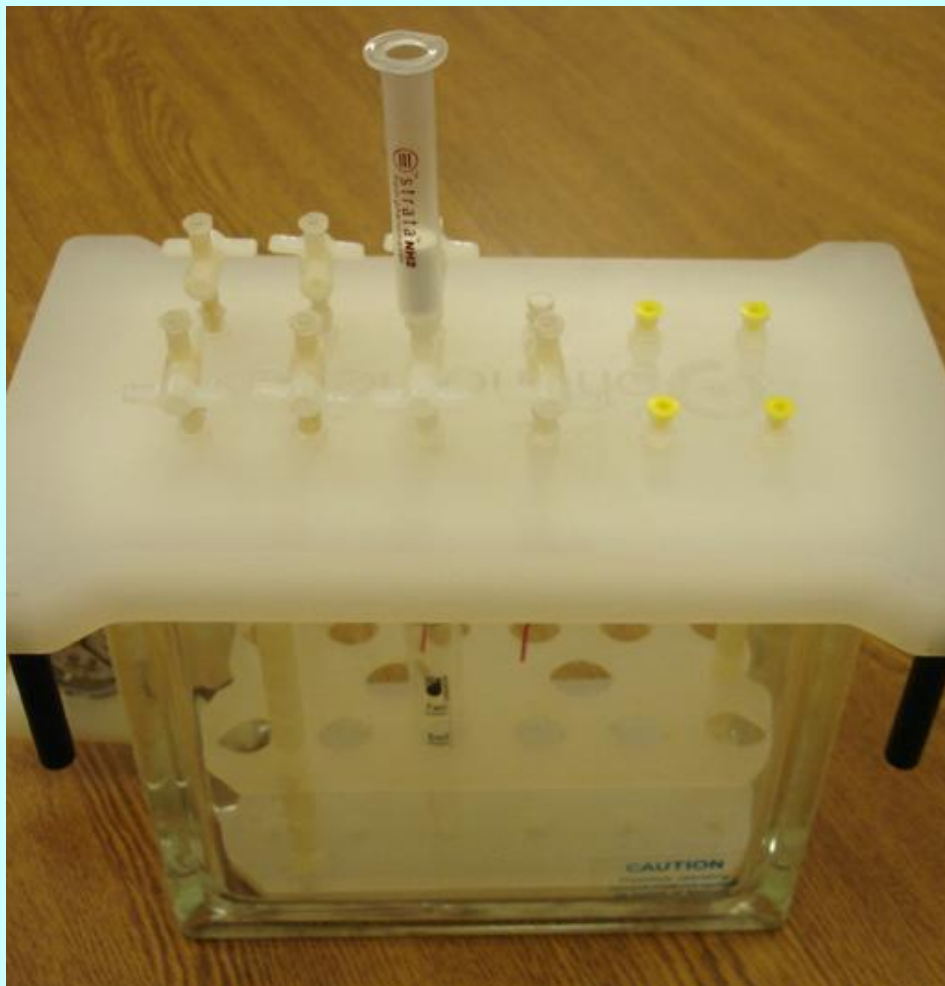
3. Штатив с пробиркой помещается в камеру.



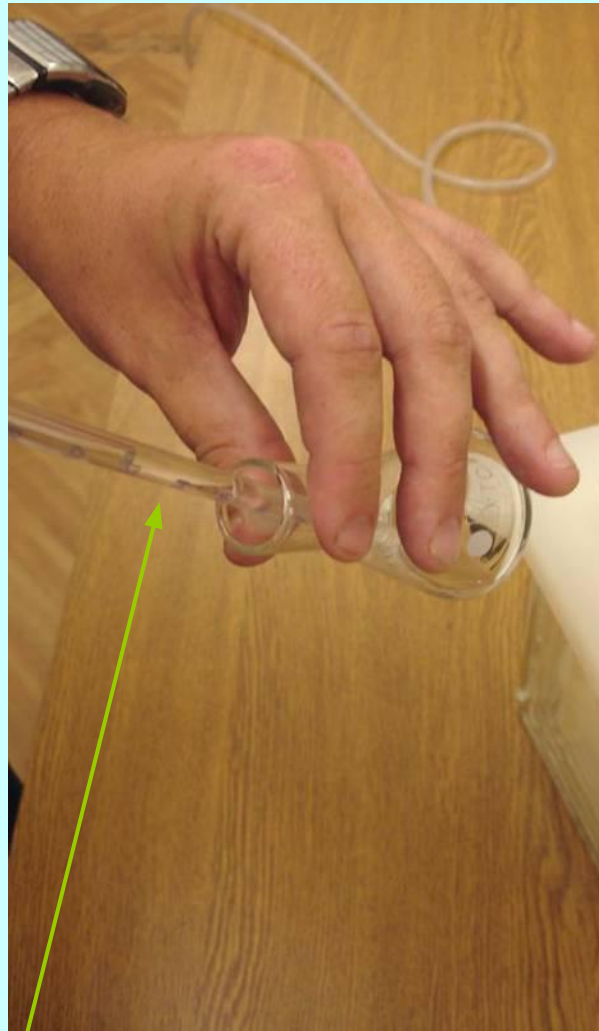
Штатив с пробиркой, помещенный в камеру.



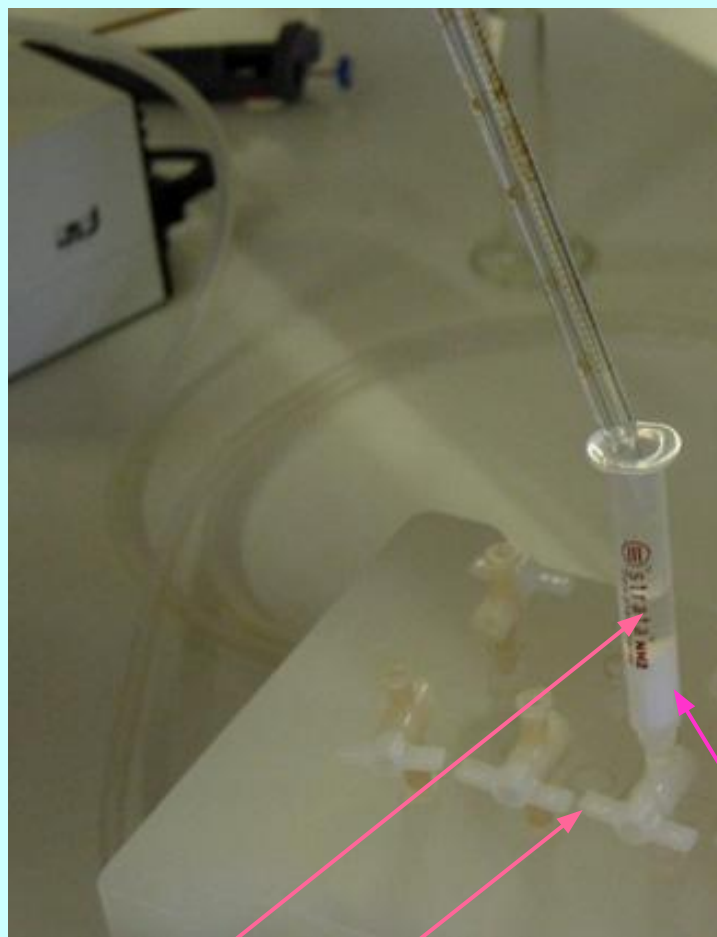
4. Камера закрывается крышкой устройства. Необходимо следить, чтобы игла была опущена в пробирку.



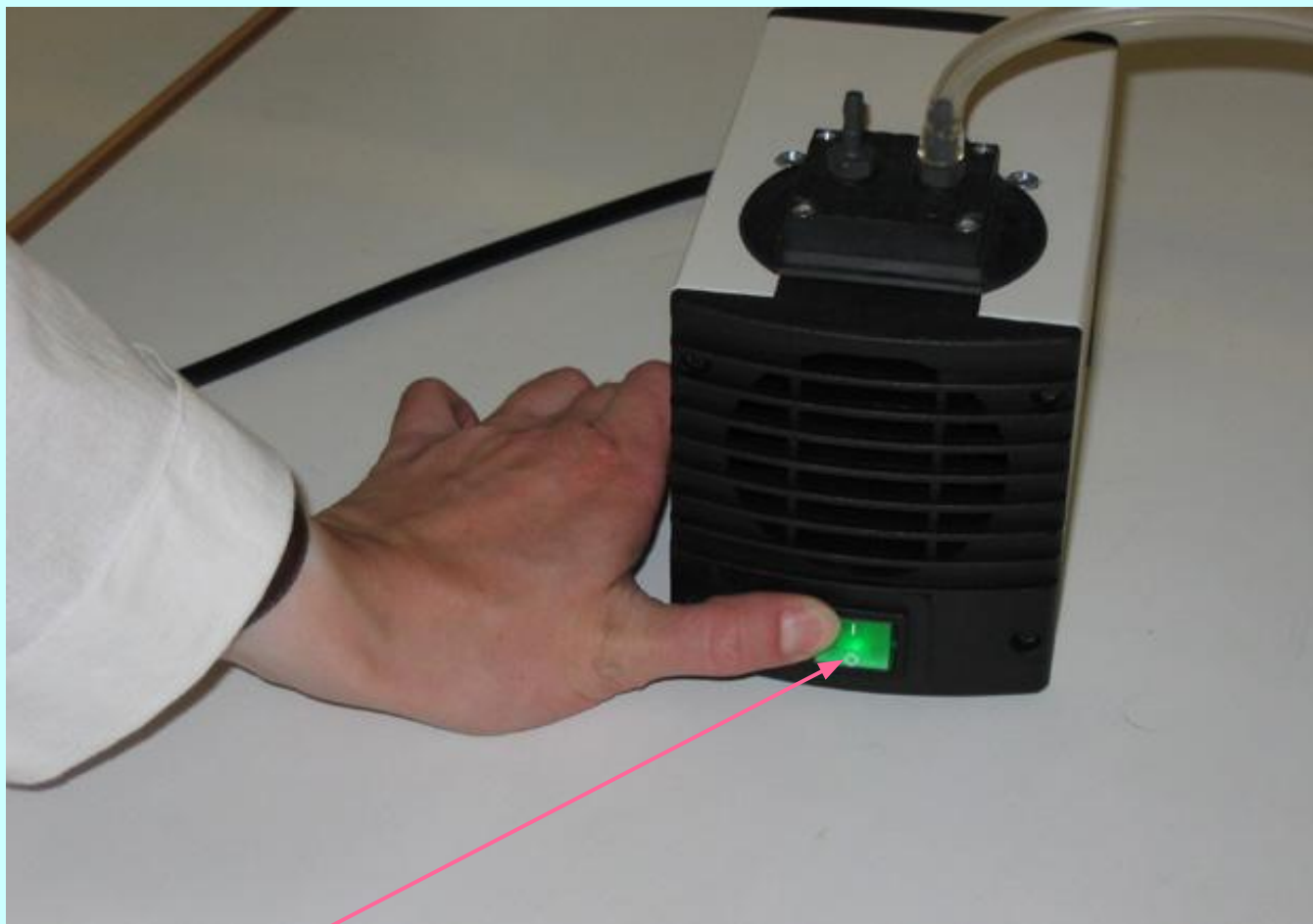
Установка, собранная для элюирования целевого компонента.



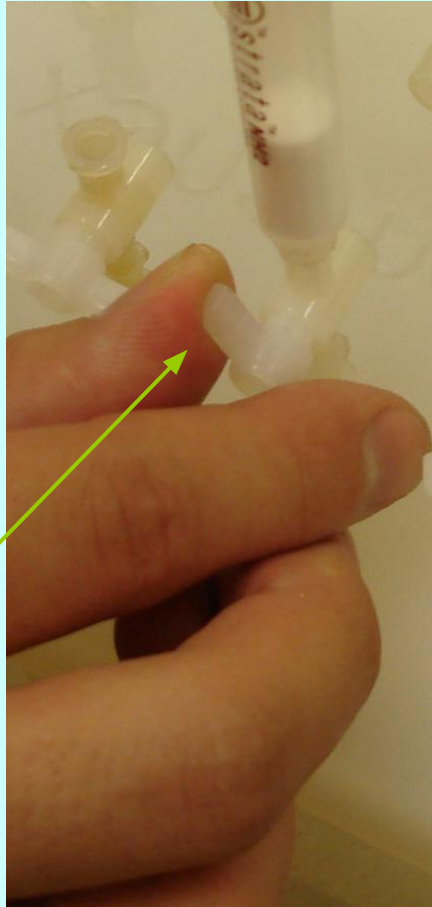
5. С помощью пипетки отбирается нужное количество элюирующей жидкости.



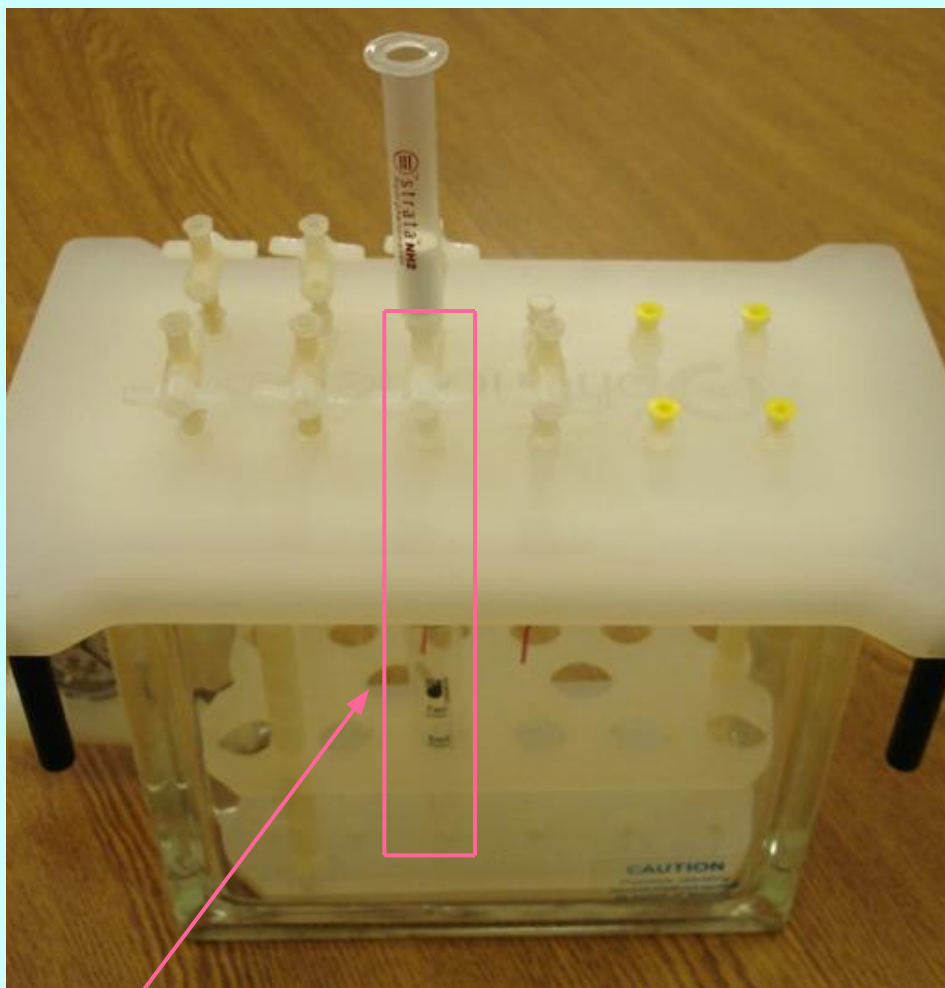
6. Производится загрузка элюирующей жидкости на патрон. При этом запорный кран должен быть **закрыт**.



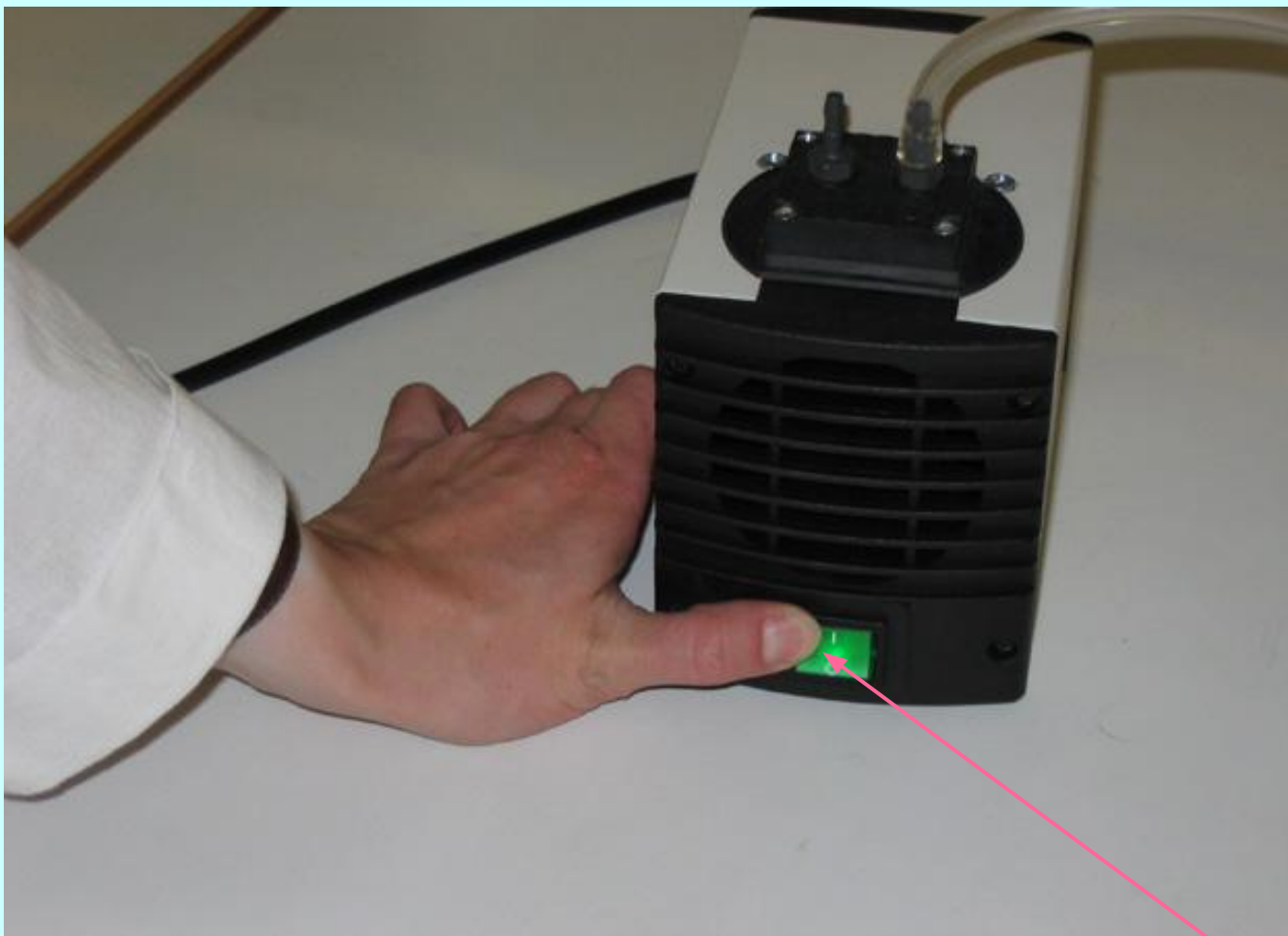
7. Включается вакуумный насос. Запорные краны при этом должны быть закрыты.



8. Запорный кран поворачивается в положение, позволяющее поддерживать нужную скорость элюирования.



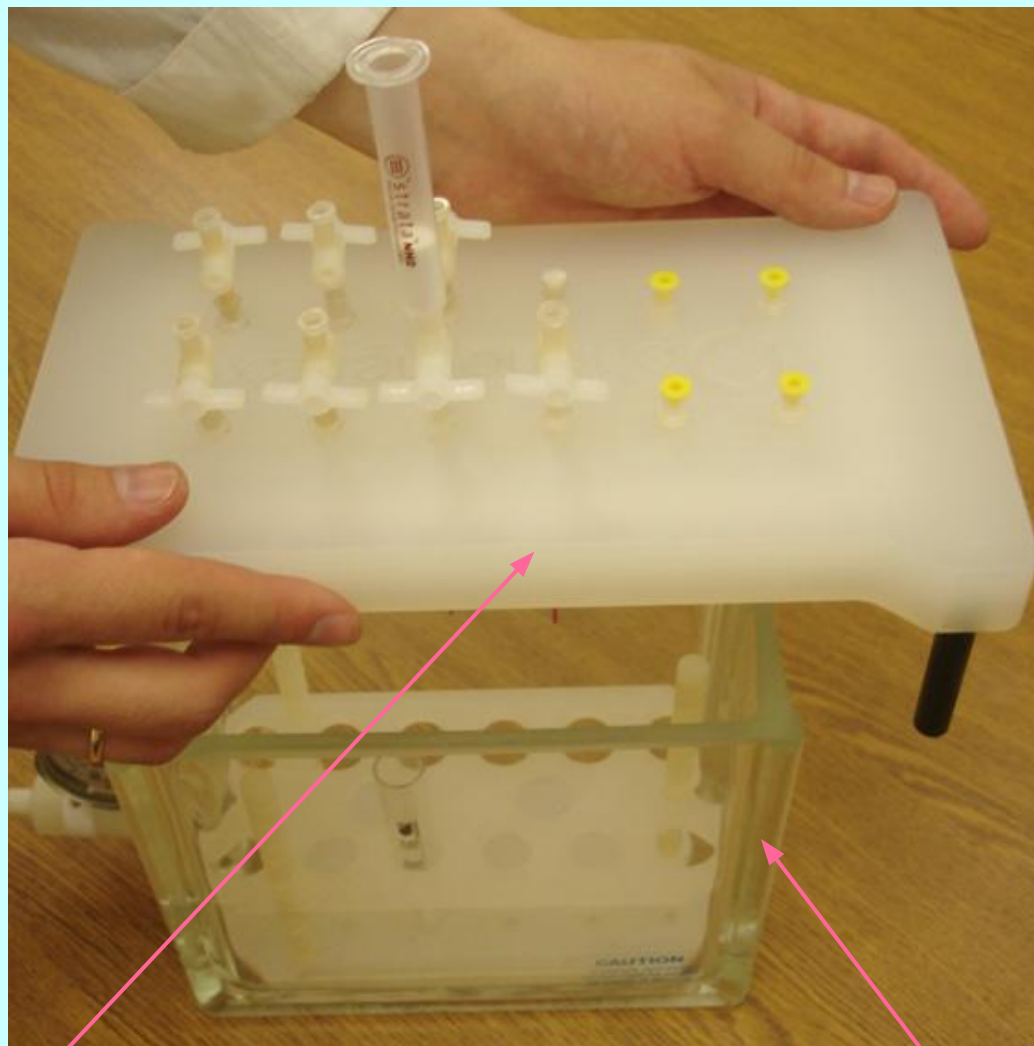
9. Процесс элюирования продолжается до полного выхода элюата.



10. По окончании процесса элюирования вакуумный насос выключается.



11. Вакуум в системе сбрасывают, максимально открывая отверстие вакуумной линии при помощи регулировочного вентиля.



12. Крышка устройства снимается с камеры.



13. Элюат из пробирки направляется на ввод ВЭЖХ-системы.

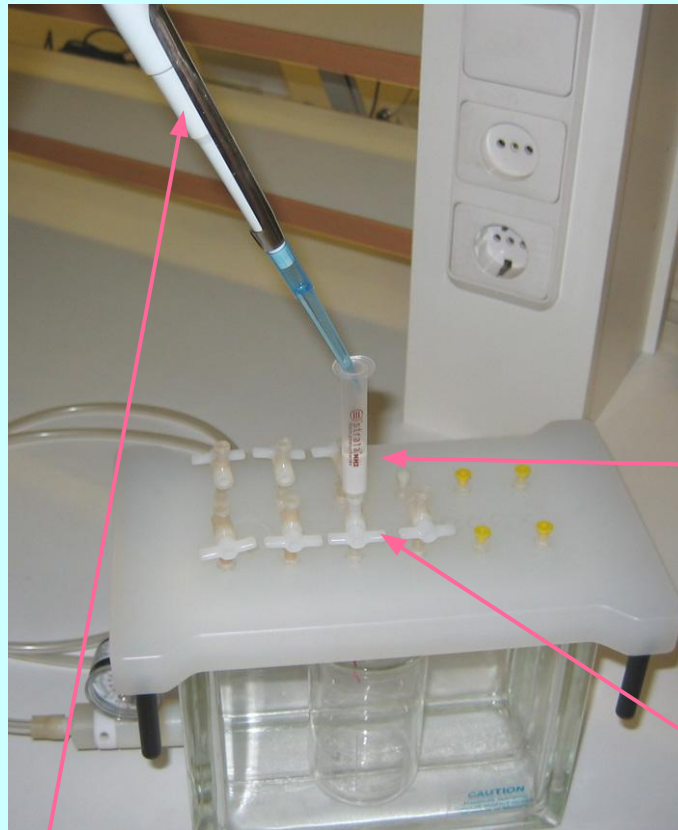
**ПРОЦЕСС
ПРОВЕДЕНИЯ
НЕУДЕРЖИВАЮЩЕЙ
ТФЭ**

Как отмечалось ранее, при **неудерживающей ТФЭ целевой компонент**, растворенный в нанесенной пробе, **не удерживается на сорбенте** (в картридже). Поэтому в данной модификации метода отсутствуют процессы сушки и промывки сорбента, а элюирование целевого компонента происходит одновременно с нанесением пробы.

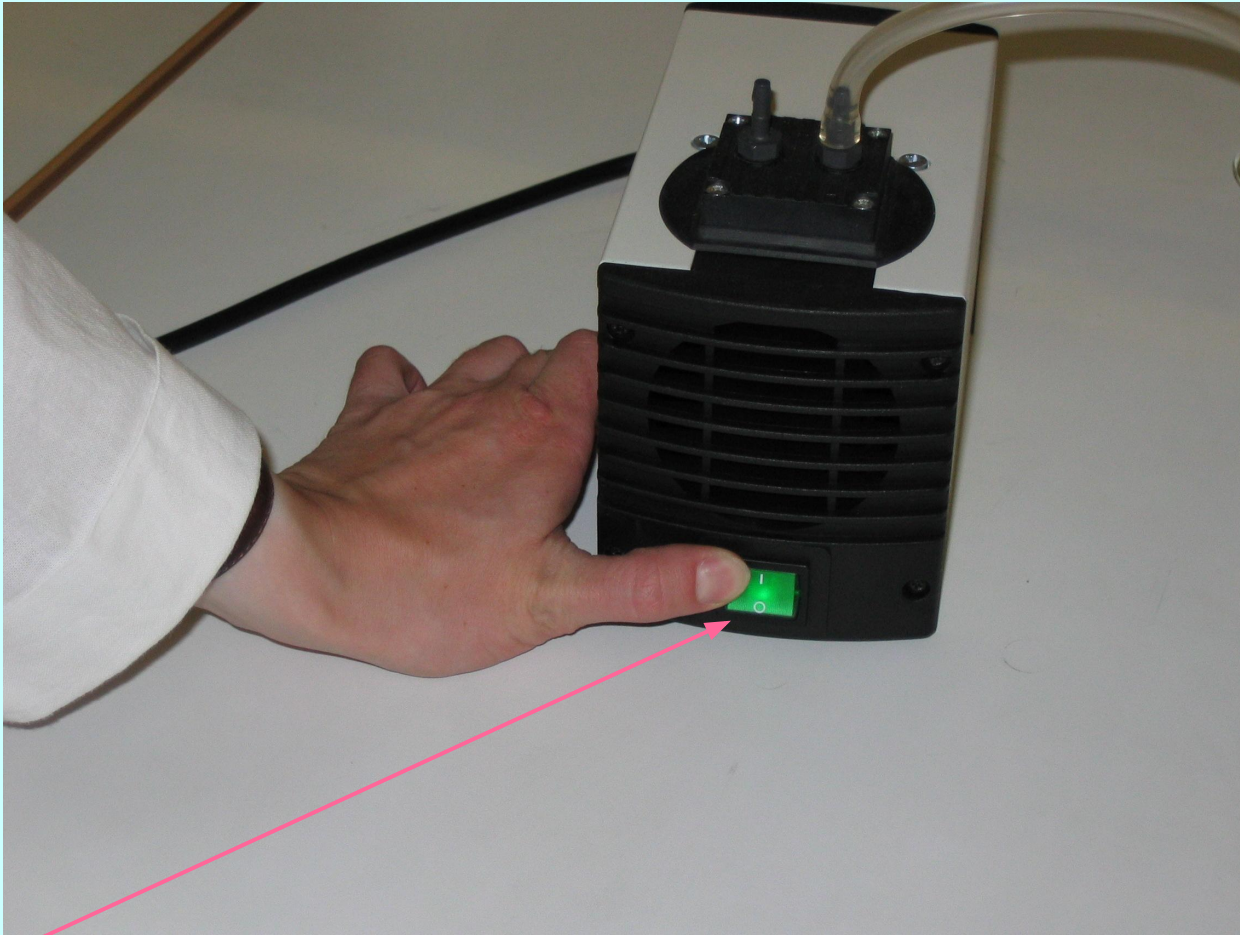
С практической точки зрения важен выбор посуды для сбора элюата, содержащего целевой компонент. Емкость для сбора должна иметь соответствующий **объем, превышающий объем наносимой пробы**. Кроме того, в большинстве случаев важен выбор материала, из которого она изготовлена. Например, для пробоподготовки при анализе большинства органических низкомолекулярных веществ предпочтительнее использовать стеклянную посуду, в то время как в случае ионообменных процессов лучшим вариантом является посуда из полимеров – полиэтилена или полипропилена.

Далее представлена последовательность проведения процесса **неудерживающей ТФЭ**.

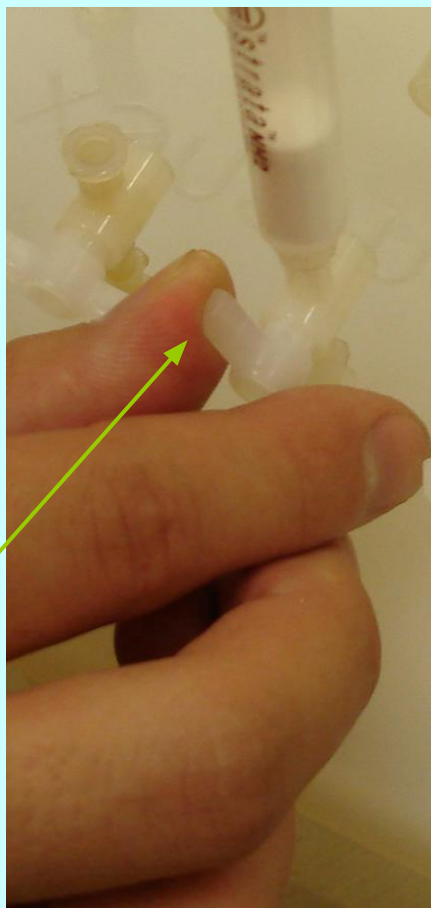
КОНДИЦИОНИРОВАНИЕ / УРАВНОВЕШИВАНИЕ



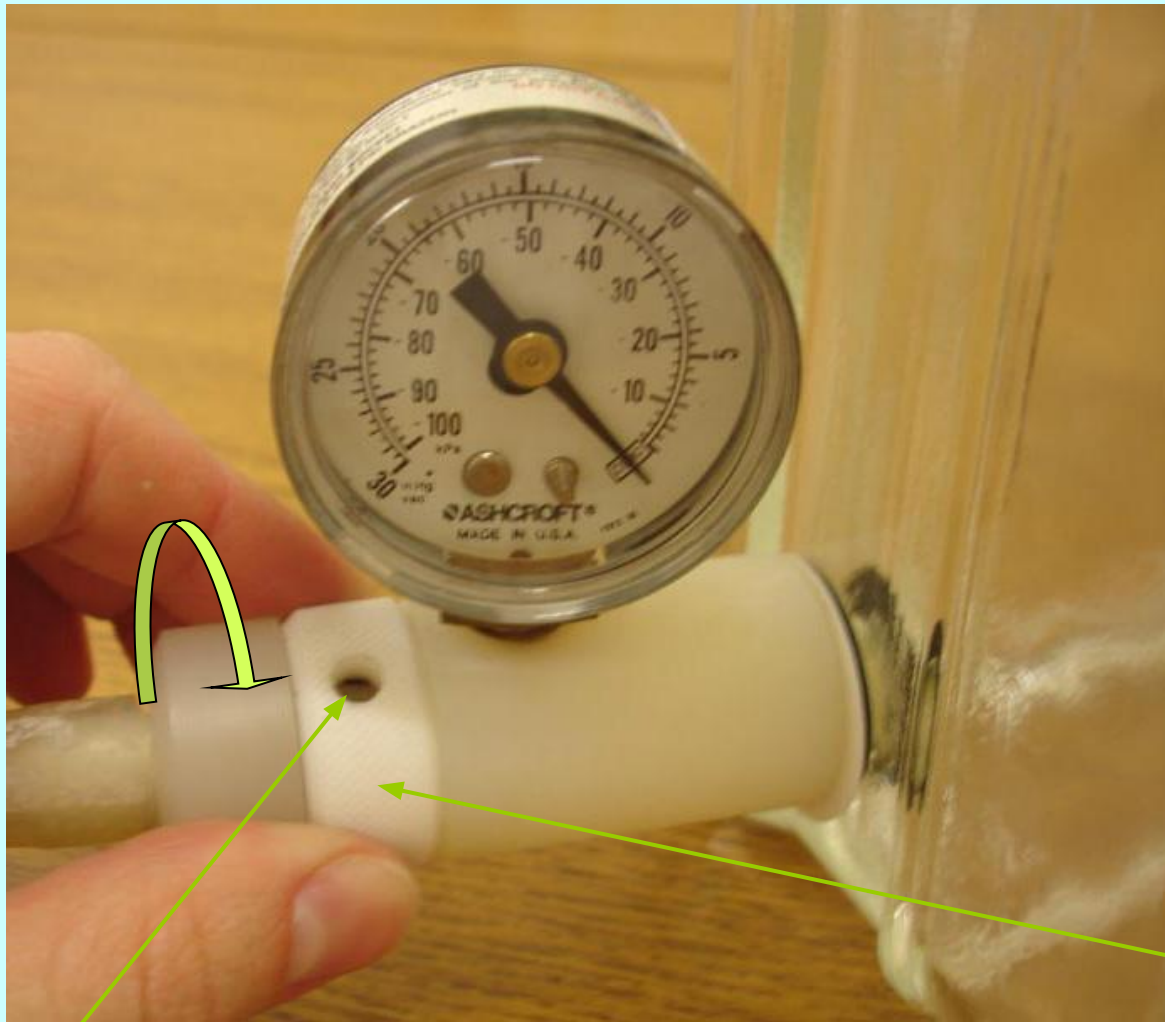
1. С помощью пипет-дозатора или пипетки на патрон наносится жидкость для кондиционирования/уравновешивания. Запорный кран под патроном должен быть **закр**ыт (ручка установлена перпендикулярно оси протекания жидкости).



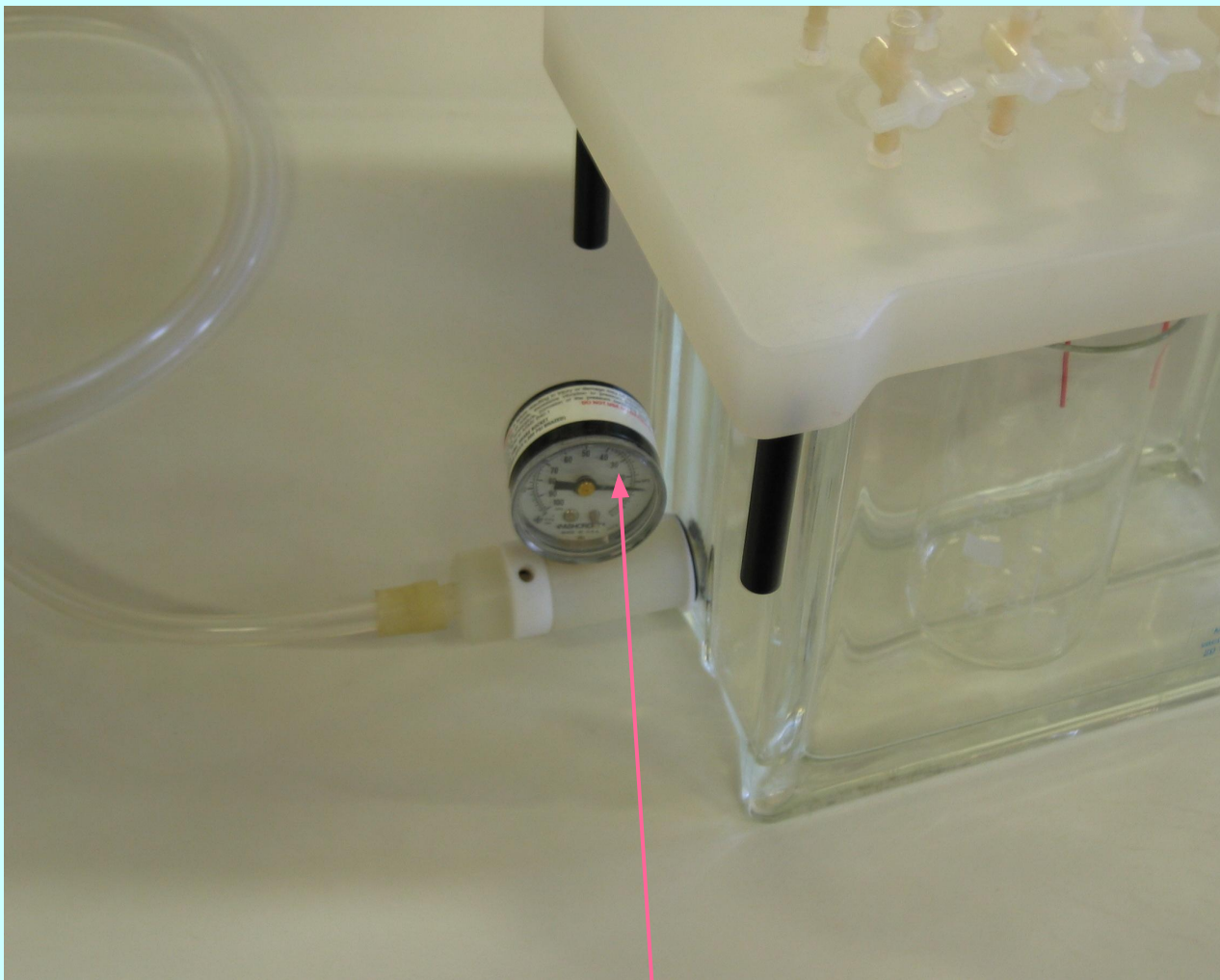
2. Включается вакуумный насос. Запорные краны при этом должны быть закрыты.



3. Запорный кран поворачивается в положение, позволяющее поддерживать нужную скорость элюирования. Управление скоростью потока жидкости, проходящего через патрон, осуществляется с помощью запорного крана,



а также регулированием давления в системе (путем изменения размера отверстия в вакуумной линии регулирующим вентилем или с помощью незадействованных для твердофазной экстракции запорных кранов).

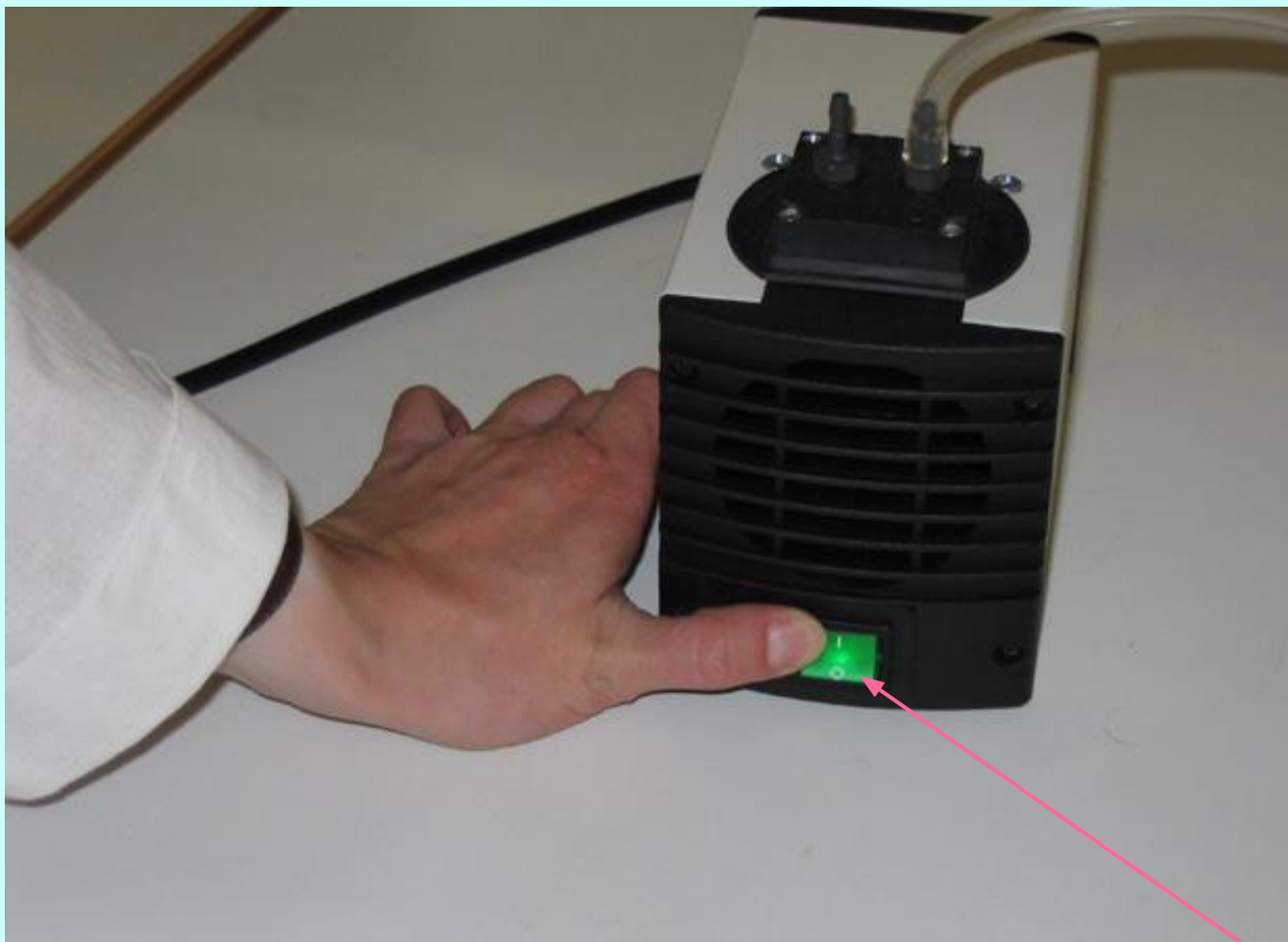


Во время элюирования вакуум желательно поддерживать на уровне примерно 30-40 кПа (по показанию манометра).

ВНИМАНИЕ! Необходимо помнить, что предельно допустимый уровень давления составляет 65 кПа.



4. Элюат собирается в емкости для слива.

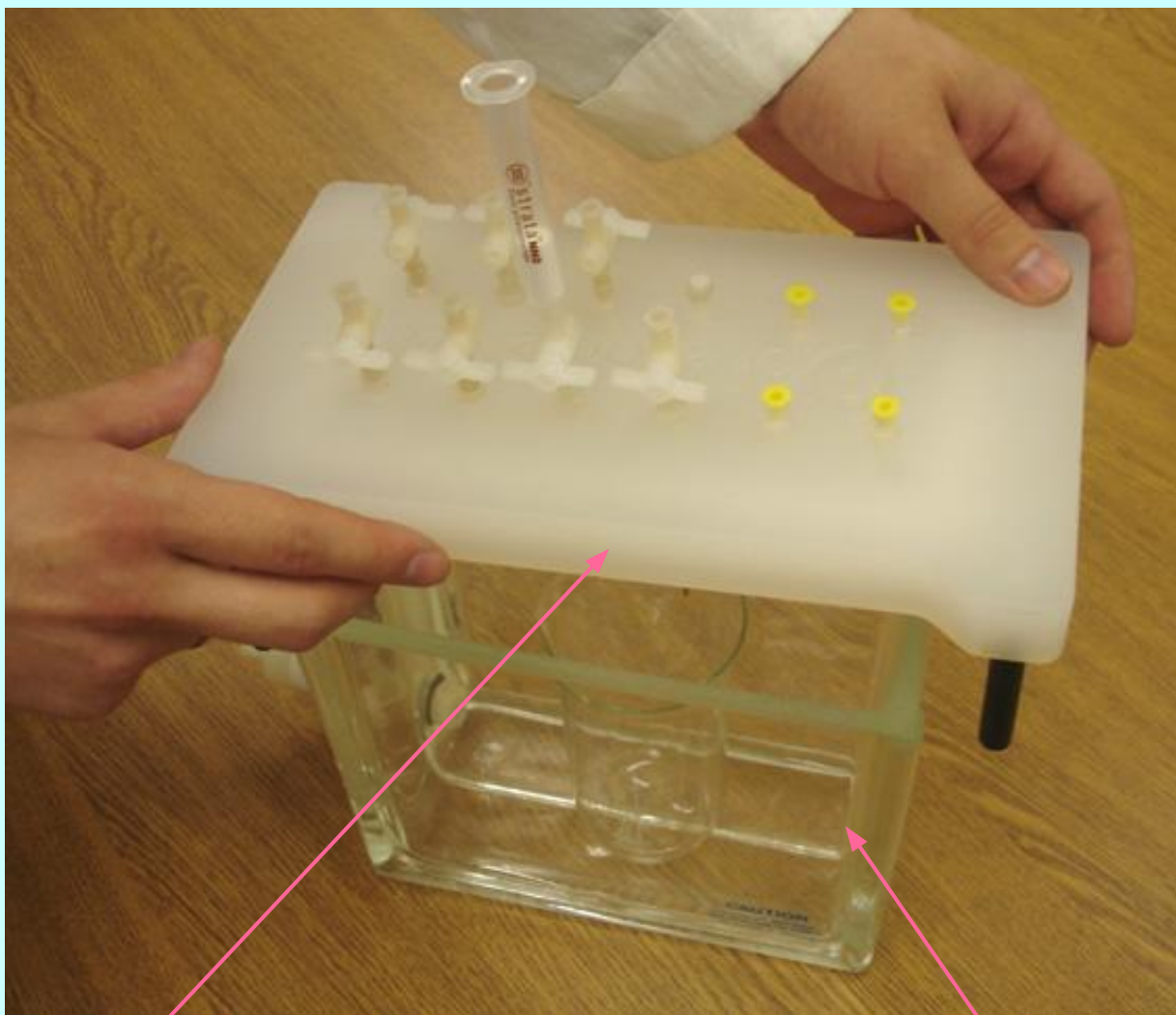


5. По окончании процесса элюирования вакуумный насос выключается.



6. Вакуум в системе сбрасывают, максимально открывая отверстие вакуумной линии при помощи регулировочного вентиля.

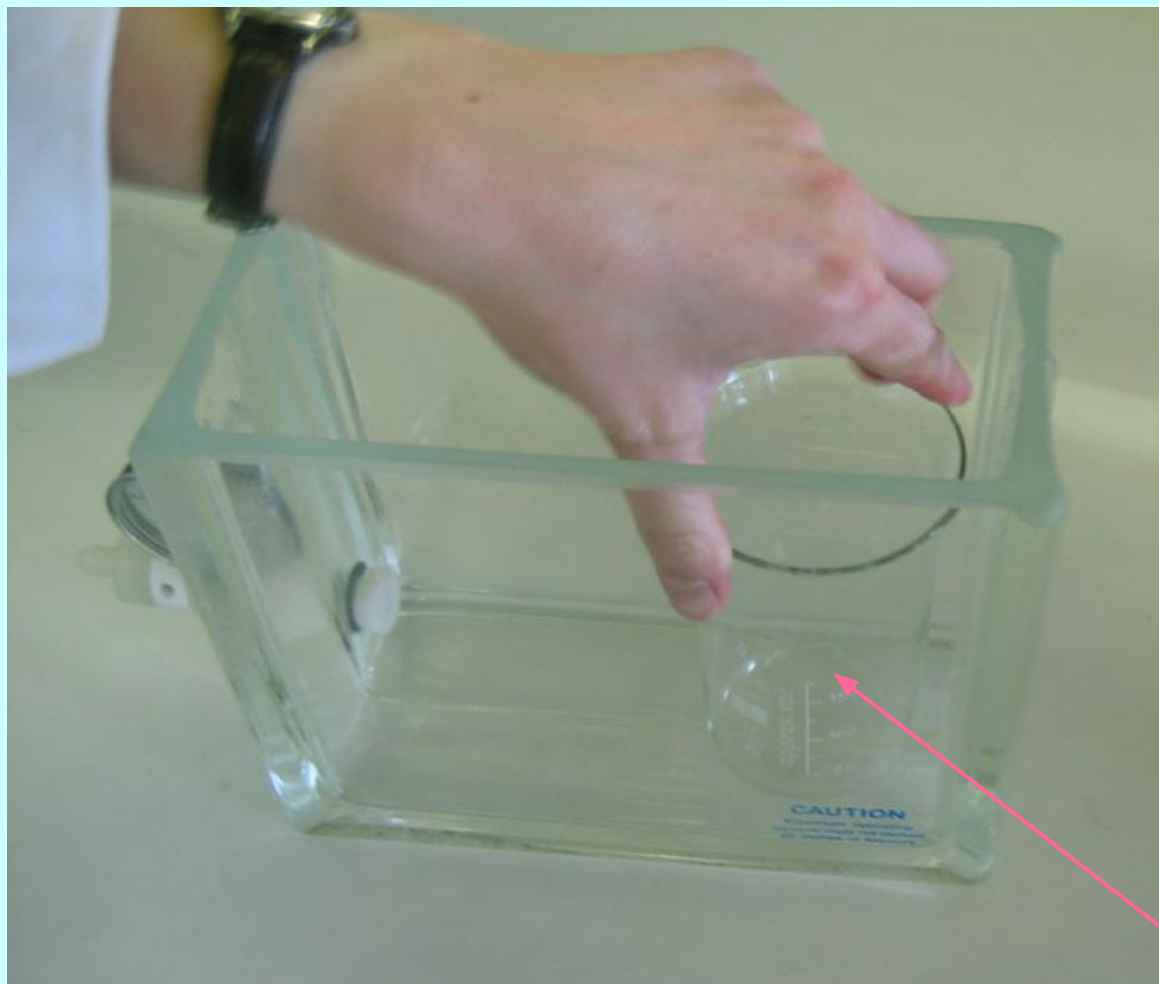
[вернуться к неудерживающей экстракции](#)



7. Крышка устройства снимается с камеры.



8. После кондиционирования и уравнивания сорбента стакан удаляется из камеры и заменяется на емкость для сбора элюата с целевым компонентом.



Для сбора элюата, содержащего целевой компонент при неудерживающей ТФЭ, можно использовать стакан.

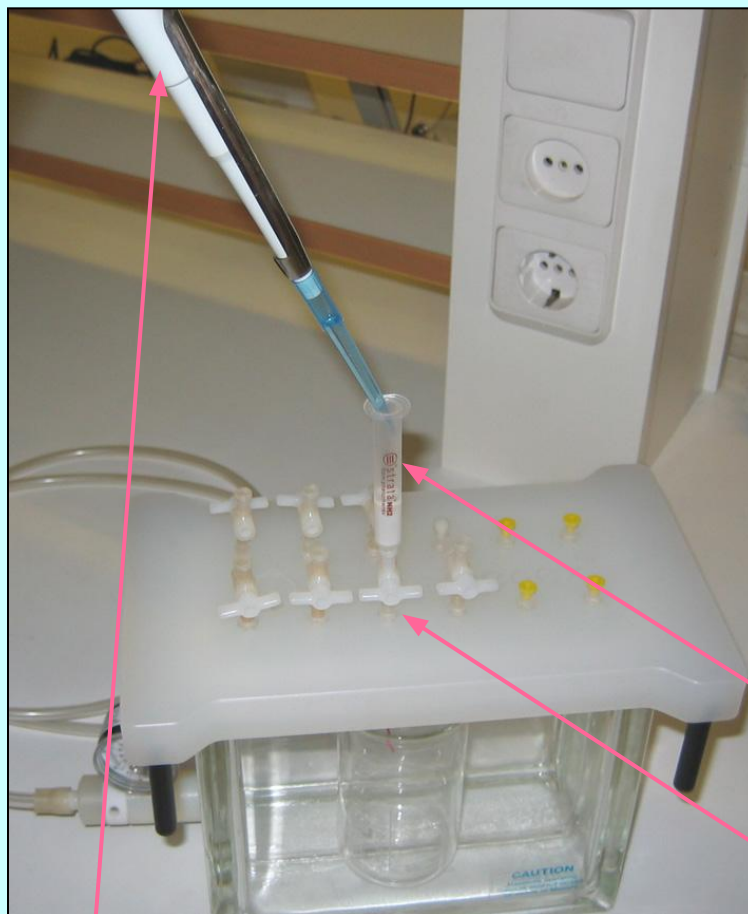
**НАНЕСЕНИЕ ПРОБЫ /
ЭЛЮИРОВАНИЕ
ЦЕЛЕВОГО КОМПОНЕНТА**



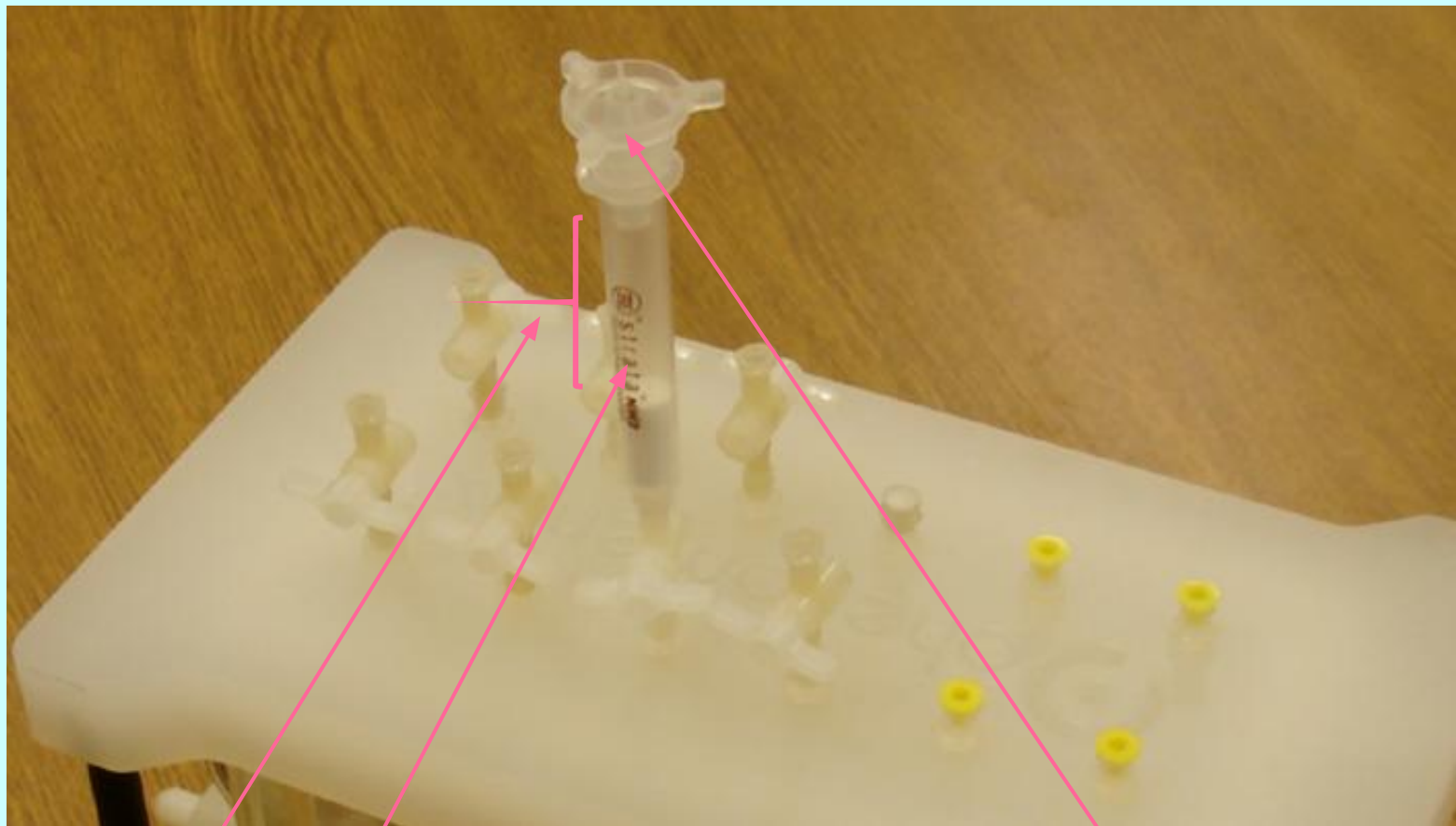
За процессами кондиционирования и уравнивания следует элюирование целевого компонента.

1. Для нанесения проб больших объемов применяются резервуары с адаптерами.

В качестве резервуара может быть использован корпус обычного одноразового медицинского пластикового шприца.

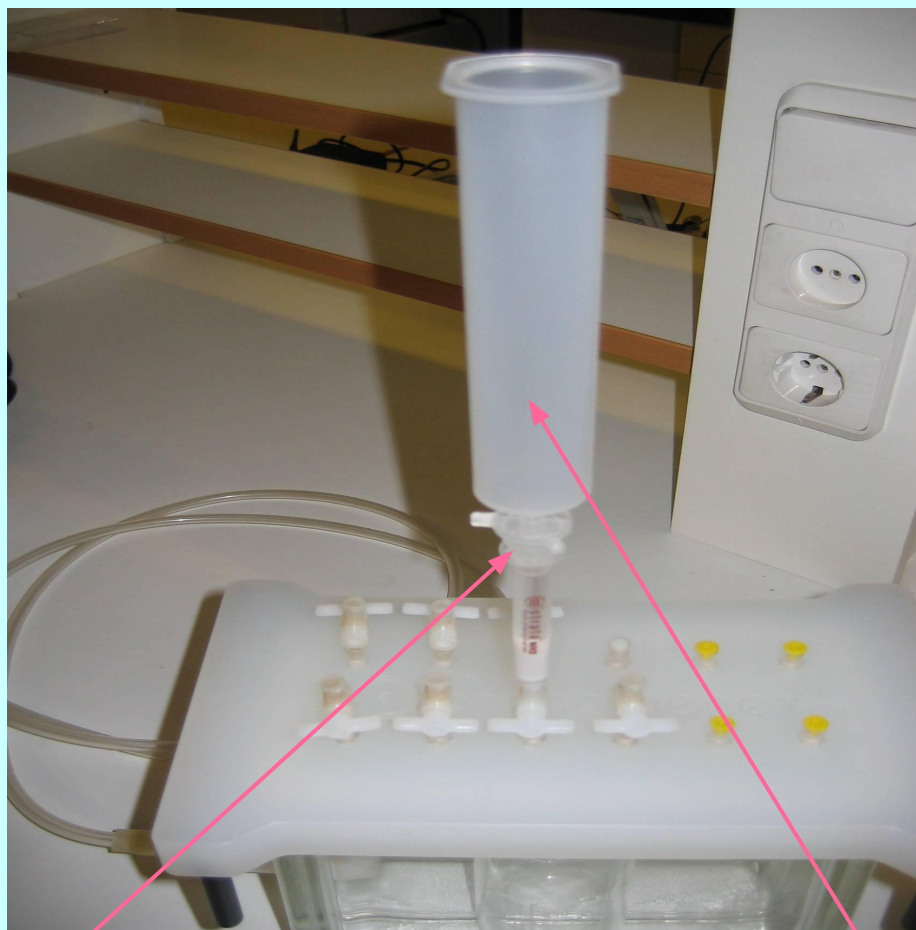


2. С помощью пипет-дозатора или пипетки на патрон наносится количество пробы, составляющее около $3/4$ вместимости патрона. Запорный кран под патроном должен быть закрыт.

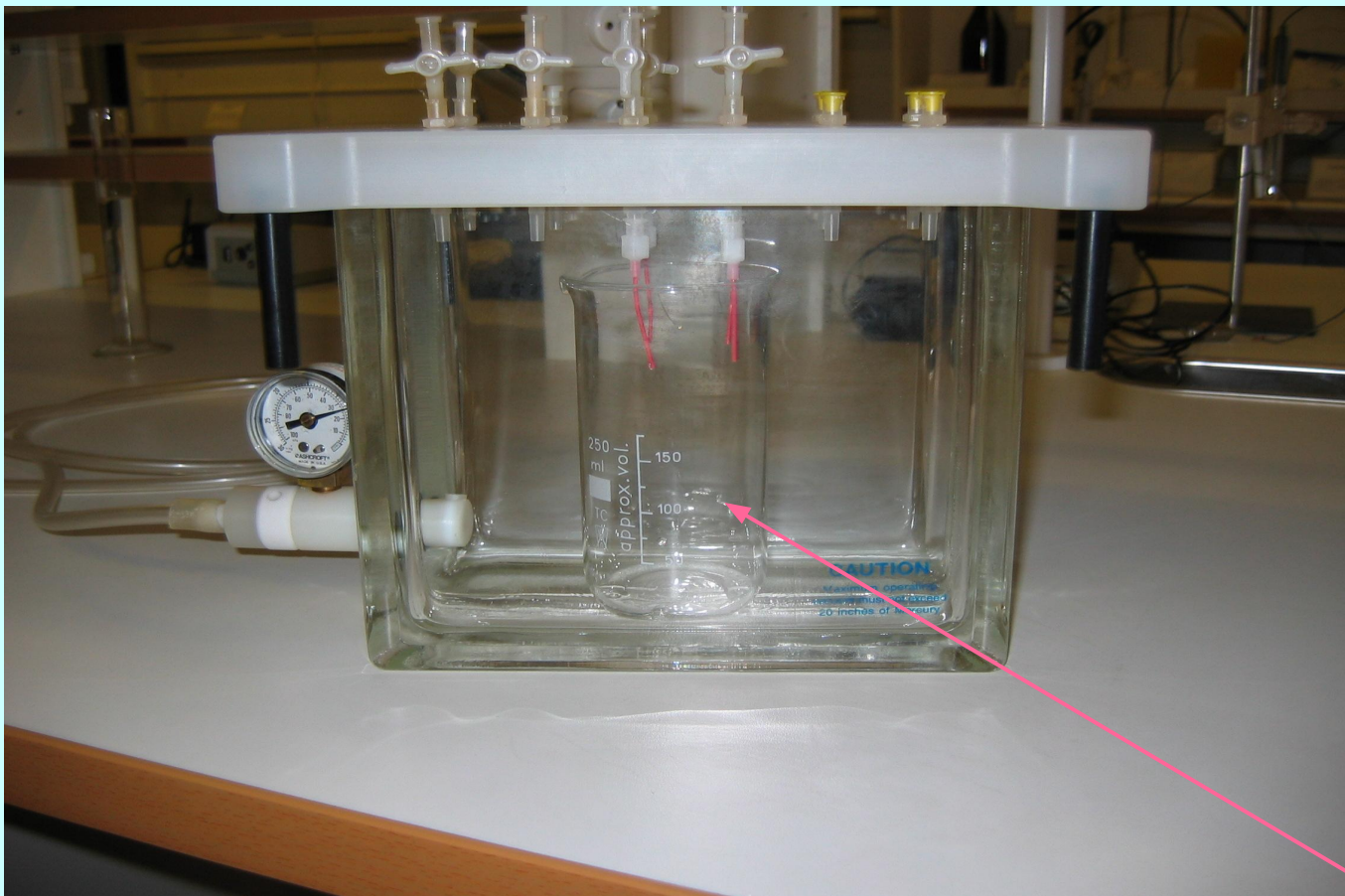


3. К патрону присоединяется адаптер.

Это необходимо, если объем пробы по сравнению с «мертвым» объемом патрона достаточно велик, – чтобы постоянно не подливать пробу в патрон.



4. К адаптеру присоединяется резервуар.



5. В резервуар наливается оставшийся объем пробы. Проводят элюирование аналогично описанному выше. Режим элюирования подробно описан в методиках выполнения измерений и методических указаниях.

ВНИМАНИЕ! Помните, что целевой компонент при неудерживающей ТФЭ после элюирования содержится в емкости для сбора элюата, т.е., в данном случае, в стакане.



6. По окончании элюирования емкость с элюатом, содержащим целевой компонент, извлекается из камеры и направляется на ввод ВЭЖХ-системы.