

ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА ДЛЯ ВЭЖХ



Сосуды для подвижной фазы

- Наряду с основными узлами в хроматографическую систему входит ряд вспомогательных элементов и принадлежностей.
- **Сосуды для подвижной фазы**
- Вместимость сосуда должна обеспечить дневную потребность растворителя без его замены.
- При односменной аналитической работе удобны стеклянные бутылки вместимостью 0,7— 1 л.
- Для повышения безопасности при круглосуточной или препаративной работе лучше использовать резервуары из нержавеющей стали вместимостью 5—20 л.
- В отдельных случаях (применение легко окисляющихся или особо взрывоопасных растворителей) пространство над жидкостью продувают с небольшой скоростью инертным газом.

Сосуды для подвижной фазы

- Большое значение имеет тщательная дегазация подвижной фазы. Предпочтительнее выполнять эту операцию непосредственно в рассматриваемом сосуде, чтобы исключить переливание растворителя.
- При использовании смешанных подвижных фаз, особенно, если их компоненты заметно различаются по температуре кипения, весьма желательно непрерывно перемешивать содержимое сосуда магнитной мешалкой для поддержания однородности системы.
- Некоторые приборы комплектуются специальными сосудами для подвижной фазы, которые в наибольшей степени удовлетворяют перечисленным требованиям, однако хорошие результаты можно получить и на значительно более простых системах.
- Так, при осуществлении дегазации продувкой гелием в качестве сосуда используют стандартную стеклянную бутылку с завинчивающейся полиэтиленовой крышкой, в которую помещают элемент магнитной мешалки. В крышке проделывают два отверстия, через которые вводят трубки подачи гелия и отбора растворителя.
- Трубки не должны доходить до дна бутылки на такое расстояние, чтобы за них не задевал магнитный элемент.
- Избыток газа выходит в атмосферу через зазоры между трубками и крышкой.

Сосуды для подвижной фазы

- Обычно используют фильтры с размером пор 2—5 мкм. Растворитель протекает через фильтр за счет вакуума, создаваемого насосом
- Наиболее целесообразно использовать предколоночный фильтр в эксклюзионной хроматографии полимеров, так как в этом случае вероятность присутствия нерастворимых частиц в анализируемых образцах гораздо выше, чем при анализе смесей индивидуальных соединений.
- При установке такого фильтра в систему с общей эффективностью 20000 т.т., включающую две эксклюзионные колонки длиной по 30 см, потеря эффективности составляет 1000—1500 т.т.
- В других вариантах жидкостной хроматографии широко применяют предколоники. Они защищают основную колонку как от химических, так и от механических загрязнений, т. е. являются высокоэффективными фильтрующими элементами.

Колонки

- Общая конструктивная схема колонки включает в себя корпус, фильтры и наконечники



- Корпус колонки представляет собой цилиндрическую трубку из нержавеющей стали, стекла или полимерных материалов; он служит емкостью для слоя сорбента. Верхний и нижний концы корпуса закрывают фильтры. Чаще всего это диски из пористой нержавеющей стали, по диаметру соответствующие наружному диаметру колонки. Диаметр пор фильтров 0,5—2 мкм, их назначение — удерживать слой сорбента в колонке. Кроме того, фильтр на входе в колонку задерживает механические примеси из подвижной фазы и образцов.
- Наконечники герметизируют всю колонку и служат для подключения капиллярных трубок, соединяющих колонку с дозатором и детектором.
- Конструкция наконечников должна быть такой, чтобы свести к минимуму внеколоночное размывание пробы и разделенных компонентов.
- Наконечник хорошей конструкции так формирует поток на входе в колонку, что поперечное размывание и отрицательное влияние стеночного эффекта сводятся к МИНИМУМУ.

Колонки

- Фактически в колонке работает при этом только центральная часть сорбента.
- Такие колонки характеризуются высокой эффективностью.
- Однако при указанной конструкции колонки сорбент будет легко перегружаться по мере увеличения массы вводимой пробы, и поэтому наконечники препаративных колонок призваны решать прямо противоположную задачу — распределять пробу по возможно большей части поперечного сечения.
- В настоящее время чаще всего применяются колонки трех типов:
 - цельнометаллические,
 - разборные со сменными разделительными патронами,
 - полимерные для работы в режиме радиального сжатия.

Колонки

- Разработка суспензионных методов приготовления колонок позволила резко поднять эффективность и использовать сорбенты размером 10 мкм и меньше.
- Однако суспензионный метод еще недостаточно отработан, и существует множество его вариантов, каждый из которых имеет свои особенности.
- **Вкратце процесс суспензионной упаковки выглядит следующим образом.**
- Взвешивают требуемое для колонки данного размера количество сорбента, заливают его растворителем и приготавливают суспензию, тщательно перемешивая смесь, нередко с использованием ультразвука.
- После этого суспензию помещают в резервуар, соединенный с колонкой, на конце которой установлен фитинг с фильтром, и под давлением 20—60 МПа продавливают суспензию через колонку, подавая резервуар насосом растворитель.

Колонки

- Суспензия фильтруется на фильтре колонки, формируя упорядоченный слой сорбента, обеспечивающий эффективное разделение при ВЭЖХ.
- Останавливают поток растворителя, дают давлению упасть до нуля и снимают колонку.
- Аккуратно удаляют избыток сорбента с конца колонки, присоединявшегося к резервуару, и присоединяют второй фитинг с фильтром.
- Полученную таким образом колонку устанавливают на хроматограф, прокачивают через нее до установления равновесия рабочий растворитель, после чего она готова к работе.

ХРАНЕНИЕ, РЕГЕНЕРАЦИЯ И РЕМОНТ КОЛОНОК ДЛЯ ВЭЖХ

- Колонки для высокоэффективной жидкостной хроматографии являются тонким инструментом, сердцем хроматографа и требуют бережного обращения.
- Ошибка оператора прежде всего сказывается на колонке; она может полностью или частично потерять свои качества в результате превышения давления, ввода нефильтрованного растворителя или пробы, неосторожного удара, слишком сильной затяжки резьбы и т.д.
- Поэтому правильному хранению колонок, их регенерации и ремонту необходимо уделять внимание.

Хранения колонок.

Фирмы, производящие тестированные и не тестированные, а также пустые колонки для ВЭЖХ поставляют их в специальных коробках, имеющих мягкий пенополиуретановый вкладыш с гнездом для колонки или такие же прокладки.

Иногда колонку дополнительно помещают в трубку из пластика и фиксируют на концах держателями.

Концы колонки герметично закрывают заглушками разного типа, предотвращающими высыхание сорбента.

ХРАНЕНИЕ, РЕГЕНЕРАЦИЯ И РЕМОНТ КОЛОНОК ДЛЯ ВЭЖХ

- На самой колонке есть спецификация, в которой даны каталожный и порядковый номер колонки, ее размеры, сорбент и его зернение, направление потока растворителя и другие данные.
- Если колонка тестирована, то в коробке лежит тест-хроматограмма с условиями испытания колонки и его результатами, если не тестирована, то, как правило, инструкция по тестированию.
- Хранить колонку желательно в коробке, в которой она получена; в ней же следует хранить всю соответствующую информацию.
- Желательно перенумеровать все колонки и на каждую завести паспорт, в котором следует отмечать все виды анализов и растворителей, примерную длительность работы, давление при работе и другие сведения.
- Хранить все коробки с колонками желательно в одном месте, надежно защищенном от ударов, вибрации, нагрева.

ХРАНЕНИЕ, РЕГЕНЕРАЦИЯ И РЕМОНТ КОЛОНОК ДЛЯ ВЭЖХ

- Перед началом эксплуатации новой колонки следует прежде всего снять и положить в коробку заглушки, так как они для разных колонок разные, и если будут перепутаны — нарушится герметичность при последующем использовании.
- Коробка должна иметь ту же маркировку, что и сама колонка.
- Всегда желательно провести ретестирование колонки в тех же условиях, в которых ее тестировали. Это позволяет установить, не потеряла ли колонка эффективность при транспортировке, проверить эффективность вашей хроматографической системы в целом (по сравнению с системой, использованной фирмой-производителем) и получить свою тест-хроматограмму для новой колонки, которая служит эталоном при следующих проверках в процессе эксплуатации колонки.
- Если вы переходите на новую систему растворителей, уточните, каким растворителем заполнена колонка — это обычно указывает фирма-изготовитель или отмечено в паспорте колонки.
- Помните о возможности образования гетерофазной системы при смене растворителя, всегда используйте в сомнительных случаях промежуточные, полностью смешивающиеся растворители, например изопропанол

ХРАНЕНИЕ, РЕГЕНЕРАЦИЯ И РЕМОНТ КОЛОНОК ДЛЯ ВЭЖХ

- После работы колонку следует подготовить к хранению: ее промывают и заполняют растворителем для хранения (**для обращенно-фазных сорбентов—метанолом**,
- **для силикагеля—гексаном или гептаном**,
- **для ионообменников — метанолом**,
- для других колонок—по рекомендации фирмы-производителя).
- Промытую колонку герметично закрывают заглушками и помещают в коробку для хранения, сделав запись в паспорте о проведенной работе и растворителе для хранения.
- Помните, что колонка без паспорта (особенно пролежавшая какое-то время) практически бесполезна, ибо установить ее сорбент невозможно или требует большого труда.
- Особенно следует предостеречь от спешки при смене колонок, когда, не убрав одну колонку, достают другую для установки, кладут рядом, чем-то отвлекаются и... не могут вспомнить, какую колонку нужно поставить, а какую колонку убрать.

ХРАНЕНИЕ, РЕГЕНЕРАЦИЯ И РЕМОНТ КОЛОНОК ДЛЯ ВЭЖХ

• Регенерации колонок

- Под регенерацией колонок понимают восстановление разделительных и эксплуатационных характеристик колонки, потерянных в процессе эксплуатации.
- **Утрата первоначальных характеристик колонки проявляется:**
 - в заметном увеличении рабочего давления при том же потоке,
 - в ухудшении разделения пиков за счет потери эффективности,
 - появлении хвостов пиков,
 - изменении порядка выхода компонентов,
 - в резком уменьшении или увеличении времени удерживания компонентов и т.д.
- **Как правило, колонка утрачивает свои свойства в процессе эксплуатации в силу следующих причин.**
- **Во-первых**, это нарушение допустимых параметров работы колонки по потоку и давлению растворителя, возникающее из-за ошибок оператора (неправильная задача расхода, использование высоковязких растворителей и т. п.). При этом, если давление превысит значение, использовавшееся при набивке колонки, сорбент неизбежно уплотнится, просядет, в начале колонки появится пустота (мертвый объем), пики будут размываться и эффективность колонки будет утрачена.

ХРАНЕНИЕ, РЕГЕНЕРАЦИЯ И РЕМОНТ КОЛОНОК ДЛЯ ВЭЖХ

- **Во-вторых**, это ошибки оператора, связанные с выбором растворителя, т.е. использование растворителя с рН ниже 3 или выше 8. В этом случае происходит ускоренное разрушение, особенно при повышенных температурах, силикагелевой матрицы с растворением силикагеля, уменьшением его механической прочности, химическим отщеплением привитой фазы. Изменение природы сорбента, естественно, меняет параметры, удерживания веществ и приводит к нарушению хроматографического процесса, а также к проседанию сорбента в начале колонки из-за ухудшения его прочности.
- **В-третьих**, это загрязнение входного фильтра колонки частицами, попадающими в поток вследствие применения нефильтрованных растворителей, содержащих взвеси проб, а также появляющихся за счет износа уплотнений поршней, клапанов, инжектора. Это приводит к уменьшению числа пор фильтра, росту его гидравлического сопротивления и возрастанию давления на колонке. Необходимо фильтровать растворители и пробы и устанавливать дополнительные фильтры в линии для улавливания частиц, образующихся в процессе работы поршней, клапанов, инжектора.

ХРАНЕНИЕ, РЕГЕНЕРАЦИЯ И РЕМОНТ КОЛОНОК ДЛЯ ВЭЖХ

- **В-четвертых**, это химическое загрязнение колонки. Его избежать полностью не удастся, так как даже высокочистые растворители для ВЭЖХ, не говоря о технических видах, содержат некоторое количество примесей, продуктов фотохимической и окислительной деструкции растворителей, их стабилизаторов, примесей, тары и др. К «химическому» загрязнению, изменяющему параметры удерживания, приводит использование силикагеля, а в качестве подвижной фазы — влажного гексана или гептана, постепенно «загрязняющих» безводный силикагель водой.

ХРАНЕНИЕ, РЕГЕНЕРАЦИЯ И РЕМОНТ КОЛОНОК ДЛЯ ВЭЖХ

- Регенерацию вышедшей из строя колонки (в отличие от ремонта колонки) проводят без снятия концевых фитингов.
- Выбирают комплекс растворителей и химикатов, который позволяет удалить нежелательные загрязнения с сорбента и фильтров химическим или физико-химическим воздействием.
- Регенерация успешна только в том случае, если в процессе эксплуатации колонки не произошло физической или химической деградации слоя сорбента, т. е. образования каналов, пустот или отщепления привитой фазы.
- Первый вопрос, который возникает при регенерации, — это можно ли для ускорения и улучшения процесса изменить направление потока через колонку, чтобы загрязнения с сорбента и фильтра на входе сразу удалялись, не проходя через весь слой сорбента.
- Вопрос не праздный, так как некоторые опытные специалисты считают это возможным, а другие решительно отрицают, указывая на возможность нарушения плотности упаковки, образования каналов и т.д. Фирмы-производители также не единодушны: некоторые считают изменение направления потока через колонку опасным; другие, напротив, рекламируют свои колонки как способные работать при любом-направлении потока; третьи даже не указывают для своих колонок направления потока, полагая, что это безразлично.

ХРАНЕНИЕ, РЕГЕНЕРАЦИЯ И РЕМОНТ КОЛОНОК ДЛЯ ВЭЖХ

- Какими растворителями и в какой последовательности вести регенерацию колонок—это зависит от типа сорбента и от предполагаемых загрязнений, которые следует удалить.
- Имеется много рекомендаций, какие растворители, в какой последовательности и для каких сорбентов использовать, однако никто лучше хроматографиста не знает, какие загрязнения он «посадил» на колонку и какой растворитель пригоден для их удаления.
- Если загрязнениями являются соли, то для их удаления лучше всего вода, если полимеры — хлороформ или тетрагидрофуран, если вода — безводные спирты, хлоруглеводороды и т.д.
- Для трудноудаляемых загрязнений, особенно биологических, используют диметилформамид, диметилсульфоксид, сильные буферные растворы.
- Не следует забывать о принципе полной смешиваемости последующего и данного растворителей, иначе возможно образование гетерофазных систем.
- Если в результате регенерации не удалось восстановить работоспособность колонки, следует попытаться провести ее ремонт.

УДЕРЖИВАНИЕ И СИЛА РАСТВОРИТЕЛЯ

- Для того чтобы анализируемые вещества разделялись на колонке, как уже упоминалось выше, коэффициент емкости K' должен быть больше 0 (задается от 2 до 8), т.е. вещества должны удерживаться неподвижной фазой, сорбентом.
- Однако коэффициент емкости не должен быть и слишком большим, чтобы получить приемлемое время элюирования.
- Если для данной смеси веществ выбрана неподвижная фаза, которая их удерживает, то дальнейшая работа по разработке методики анализа заключается в выборе такого растворителя, который обеспечил бы в идеальном случае различные для всех компонентов, но приемлемо не очень большие k' .
- Этого добиваются, меняя элюирующую силу растворителя.
- В случае адсорбционной хроматографии на силикагеле или оксиде алюминия, как правило, силу двухкомпонентного растворителя (например, гексана с добавкой изопропанола) увеличивают, увеличивая в нем содержание полярного компонента (изопропанола), или же уменьшают, уменьшая содержание изопропанола.
- Если содержание полярного компонента становится слишком малым (менее 0,1%), следует заменить его более слабым по элюирующей силе.

УДЕРЖИВАНИЕ И СИЛА РАСТВОРИТЕЛЯ

- Так же поступают, заменяя на другие либо полярную, либо неполярную составляющую и в том случае, если данная система не обеспечивает желаемой селективности по отношению к интересующим компонентам смеси.
- При подборе систем растворителей принимают во внимание как растворимости компонентов смеси, так и элюотропные ряды растворителей, составленные разными авторами.
- Примерно так же подбирают силу растворителя в случае использования привитых полярных фаз (нитрил, амино, диол, нитро и др.), учитывая возможные химические реакции и исключая опасные для фазы растворители (например, альдегиды и кетоны для аминофазы).
- В случае обращенно-фазной хроматографии силу растворителя увеличивают, повышая содержание в элюенте органической составляющей (метанола, ацетонитрила или ТГФ) и уменьшают, добавляя больше воды.
- Если не удастся добиться желаемой селективности, используют другую органическую составляющую либо пытаются изменить ее с помощью разных добавок (кислот, ион-парных реагентов и др.).

УДЕРЖИВАНИЕ И СИЛА РАСТВОРИТЕЛЯ

- При разделении методом ионообменной хроматографии силу растворителя меняют, увеличивая или уменьшая концентрацию буферного раствора или меняя рН, в некоторых случаях используют модификацию органическими веществами.
- Однако, особенно в случае сложных природных и биологических смесей, зачастую не удастся подобрать силу растворителя таким образом, чтобы все компоненты пробы элюировались за приемлемый срок.
- Тогда приходится прибегать к градиентному элюированию, т.е. использовать растворитель, элюирующая сила которого в процессе анализа изменяется так, что она постоянно увеличивается по заранее заданной программе.
- Таким приемом удастся добиться элюирования всех компонентов сложных смесей за относительно короткий промежуток времени.

ПОДВИЖНАЯ ФАЗА ДЛЯ ВЭЖХ

- Роль подвижной фазы (растворителя) в жидкостной хроматографии весьма многообразна.
- Наряду с чисто транспортной функцией растворитель активно участвует в самом процессе разделения и оказывает существенное влияние на возможности детектирования.
- Часто незначительное изменение состава подвижной фазы дает возможность оптимизировать процесс, улучшить форму пиков, разрешение отдельных компонентов и даже изменить механизм разделения.
- Поэтому при выборе растворителей необходимо учитывать весь комплекс их свойств, в той или иной степени влияющих на проведение хроматографического эксперимента

ПОДВИЖНАЯ ФАЗА ДЛЯ ВЭЖХ

ОСНОВНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К РАСТВОРИТЕЛЯМ

Растворители, применяемые в ВЭЖХ, должны удовлетворять следующим основным требованиям:

- - чистота,
- -химическая инертность,
- -совместимость с детектором,
- -достаточная растворяющая способность по отношению к анализируемым веществам,
- -низкая вязкость,
- -безопасность,
- -доступность.

В некоторых случаях существенное значение имеют смешиваемость с другими растворителями, температура кипения и возможность легкого извлечения вещества из элюата.

ПОДВИЖНАЯ ФАЗА ДЛЯ ВЭЖХ

Наличие примесей в растворителе может вызвать следующие типичные затруднения.

- 1. Ухудшение эффективности разделения и воспроизводимости результатов (пример — неконтролируемая влажность растворителя в адсорбционной хроматографии).
- 2. Сильное отклонение нулевой линии и образование ложных пиков при градиентном элюировании.
- 3. Ухудшение возможностей детектирования (примеры — примеси олефинов в парафиновых углеводородах при УФ-детектировании, примесь этанола в хлороформе при ИК-детектировании).

ПОДВИЖНАЯ ФАЗА ДЛЯ ВЭЖХ

- 4. Порча сорбента: примеси оснований приводят к растворению силикагеля; примеси диенов и других лабильных соединений осмоляются и блокируют поверхность адсорбентов, особенно оксида алюминия; примеси карбонильных соединений реагируют с привитыми сорбентами, содержащими аминогруппу; пероксиды окисляют привитые фазы и полистирольные гели.
- 5. Загрязнение веществ, выделяемых из элюата.
- В препаративной хроматографии приходится выделять вещества из очень разбавленных растворов. При этом даже незначительные примеси или добавки, которые не мешают аналитическому разделению, могут концентрироваться в извлекаемом веществе, существенно снижая его чистоту.
- 6. Разложение или химическое изменение компонентов пробы (типичные примеры—гидролиз многих металлоорганических соединений, окисление лабильных веществ пероксидами или растворенным кислородом).
- 7. Коррозия аппаратуры (пример—примеси HCl в

ОСНОВНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К РАСТВОРИТЕЛЯМ

- **Химическая инертность.** Все, что сказано выше о химически активных примесях, имеет гораздо большее значение применительно к химической активности самих растворителей. Дополнительно можно отметить, что такие классы соединений, как кетоны, алифатические и ароматические амины, следует применять с особой осторожностью и только в тех случаях, когда их трудно заменить более стабильными растворителями.
- Такие элюенты, как хлорорганические соединения, тетрагидрофуран и другие простые эфиры, следует использовать только свежеччищенными.

ОСНОВНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К РАСТВОРИТЕЛЯМ

- **Совместимость с детектором.** Наиболее распространенными детекторами в настоящее время являются УФ-детекторы и дифференциальные рефрактометры.
- Возможность использования тех или иных растворителей в сочетании с УФ-детектором принято определять минимальной длиной волны, на которой при оптическом пути 10 мм падение интенсивности светового потока составляет 90%.
- С УФ-детектором практически не могут быть использованы такие растворители, как **бензол, толуол, тетрахлорид углерода, диметилформамид и хлороформ, а также сложные эфиры и кетоны.**
- С рефрактометрическим детектором в принципе можно применять любые растворители, но его чувствительность определяется разностью показателей преломления растворителя и анализируемого вещества. Поэтому при

ОСНОВНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К РАСТВОРИТЕЛЯМ

- **Вязкость растворителя** должна быть по возможности низкой, так как ее повышение ведет к ухудшению массопередачи, а тем самым и эффективности разделения, а также затрудняет работу насосов. При прочих равных условиях следует выбирать растворители, имеющие вязкость 0,5—0,7 мПа·с при температуре разделения.
- **Безопасность работы** с теми или иными растворителями определяется их воспламеняемостью и токсичностью. Практически все растворители, применяемые в ВЭЖХ, либо имеют весьма низкую температуру вспышки, либо в определенной степени токсичны.
- Поэтому помещение, в котором проводят работы по жидкостной хроматографии, должно иметь эффективную приточно-вытяжную вентиляцию.
- На рабочем месте недопустимы плохо продуваемые и застойные зоны, так как в них могут накапливаться пары растворителей, имеющие большую плотность чем воздух.
- Нижний предел взрываемости многих растворителей составляет 1—2%, поэтому в застойных зонах возможно образование взрывоопасной смеси.

ОСНОВНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К

РАСТВОРИТЕЛЯМ

- Во всех случаях следует выбирать наименее пожароопасные и токсичные растворители, руководствуясь соответствующими данными. Так, диэтиловый эфир можно заменить диизопропиловым, а бензол — толуолом практически без ущерба для разделения.
- **С нашей точки зрения, токсичность является более важным фактором**, чем пожароопасность. При хорошей организации рабочего места и тщательном соблюдении правил техники безопасности опасность загорания практически исключена, а контакта с растворителем полностью избежать невозможно.
- Многие ароматические и хлорсодержащие растворители обладают способностью накапливаться в организме человека. По последним данным, некоторые из них, считавшиеся ранее малотоксичными (хлороформ, тетрахлорэтилен) являются канцерогенами, поэтому работа с этими растворителями требует осторожности.
- Следует отметить, что ПДК необходимо рассматривать с учетом температуры кипения растворителя: хотя метилхлорид и хлорбензол имеют одинаковую ПДК (50 мг/м³), но при прочих равных условиях в случае

ОСНОВНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К РАСТВОРИТЕЛЯМ

- **Температура кипения** — менее существенный фактор, чем характеристики, рассмотренные выше. Ее следует учитывать в основном в двух аспектах: **в надежности работы насосов и детекторов и легкости выделения вещества из элюата.**
- Низкокипящие растворители часто образуют пузырьки в насосах и детекторах.
- При использовании наиболее распространенных в настоящее время плунжерных насосов вероятность образования пузырьков тем больше, чем выше давление паров растворителя и скорость плунжера в фазе всасывания.
- Наличие пузырьков в насосе резко снижает точность подачи растворителя, а пузырьки в детекторе вызывают сильный шум и нестабильность нулевой линии.
- Для предотвращения этого явления проще всего применять растворители, температура кипения которых по крайней мере на 20—50 °С выше комнатной.
- С другой стороны, при необходимости препаративного выделения вещества нецелесообразно использовать

ОСНОВНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К РАСТВОРИТЕЛЯМ

- Смешиваемость с другими растворителями необходимо учитывать при работе в режиме градиентного элюирования и при подготовке анализируемого образца с использованием предварительного экстракционного разделения. Следует помнить, что подвижная фаза в ВЭЖХ всегда должна быть гомогенной. Однако такие важные полярные растворители, как метанол и ацетонитрил, ограниченно смешиваются с гексаном. Для расширения диапазона концентраций, соответствующих гомогенным смесям, гексан заменяют на циклогексан или изооктан. Полная смешиваемость в подобных системах достигается заменой полярного компонента на этанол или изопропанол.