

Варианты подключения капиллярных колонок серии Peak[™] к хроматографической системе и к источнику ионизации масс-спектрометра

Описание колонок Peak[™]

Капиллярные колонки Peak[™] производятся из капилляров из плавленного кварца (Fused Silica) с полиимидным внешним покрытием с внешним диаметром (Outer Diameter – OD) 360 мкм. Колонки имеют интегрированный инертный стеклянный фрит на дистальном конце и требуют присоединения отдельного эмиттера.

По сравнению с колонками, упакованными напрямую в эмиттер, такой вариант является более надежным с точки зрения живучести колонок: при выходе из строя эмиттера (забивка или физическое разрушение) возможна замена эмиттера при сохранении функциональности колонки. При этом, требуется аккуратность при присоединении эмиттера во избежание создания постколоночного мертвого объема. Неудачное соединение приведет к уширению пиков и появлению «хвостов».

Общее описание соединений для колонок Peak[™]

Формат соединения колонки к ВЭЖХ системе зависит от давления в месте соединения, а также от диаметра стыкуемых капилляров или портов крана-переключателя.

Колонки Peak[™] требуют установки минимум 2 соединений: одно соединение на входе и одно соединение на выходе из колонки. Давление на входе в колонку определяется ее длиной, характеристиками сорбента, а также температурой термостатирования колонки (если применяется), и находится в диапазоне от 150 до 700 бар. Для давлений до 350 бар допустимо использование РЕЕК юнионов. Для давлений >350 бар требуется использование стальных юнионов.

На выходе из колонки давление определяется сопротивлением капилляров и эмиттера, подключенных после колонки, и составляет обычно менее 30 бар, поэтому использование коннектора высокого давления не является обязательным. Мы крайне рекомендуем подключать колонку напрямую к эмиттеру для снижения постколоночного мертвого объема.

Стандартными соединяемыми размерами капилляров и выходных гнезд кранов (valves) являются 360 мкм, 1/32" и 1/16". Для соединения капилляров требуются специальные рукава (sleeves), феррулы и винты. Кроме того, для удобства пользователей выпускаются капилляры с интегрированными соединениями с посадочным внешним диаметром капилляров 1/16", такие как NanoViper (ThermoScientific) и MarvelX (IDEX-NS).

В Таблице 1 перечислены все практически полезные технически возможные варианты соединений колонок Peak[™] с другими капиллярами или кранами. Все варианты соединений являются взаимозаменяемыми при условии соблюдения ограничений по максимальному давлению. Выбор

Варианты подключения капиллярных колонок серии Reaku™ к хроматографической системе и к источнику ионизации масс-спектрометра конкретного типа соединения определяется геометрией портов и капилляров, а также целесообразностью, экономическими факторами и наличием требуемых расходных материалов. Все соединения со стальными ферулами являются одноразовыми. Все соединения с PEEK ферулами являются многоразовыми.

Варианты подключения капиллярных колонок серии Peak™ к хроматографической системе и к источнику ионизации масс-спектрометра

Таблица 1



Для каждого из перечисленных вариантов соединения колонки Peak™ указаны ограничения по выдерживаемому давлению в месте соединения, а также перечислены каталожные номера и производитель всех необходимых компонентов:

Вариант 1.	<p>Применяется для присоединения к капилляру 1/16" OD, в т.ч. для соединения с капиллярами NanoViper (ThermoScientific) и MarvelX (IDEX-HS).</p>	<p>Как выглядит</p> 	
	<p>Как собрать: Колонка Peak™ с внешним диаметром 360 мкм закрепляется в юнионе (union 1/16" – 1/32", VICI, p/n EZRU.51) при помощи PEEK рукава (1/32" OD, 360 мкм ID, IDEX-HS, p/n F-385) и феррулы (1/32" ID) или комбинированного адаптера (1/32" OD, 360 мкм ID). При использовании PEEK рукава возможно закрепление</p> <ul style="list-style-type: none"> - стальной феррулой (SS ferrule, VICI, p/n ZF.5S6-10) для UHPLC соединения - или PEEK феррулы (VICI, p/n ZF.5PK-10) для HPLC соединения. <p>Также вместо рукава с феррулой возможно использование комбинированного PEEK адаптера 1/32 → 360 мкм (VICI FS.4PK-5) для HPLC соединения.</p>		<p>900 бар 350 бар 350 бар</p>
Вариант 2.	<p>Применяется для присоединения к портам кранов на 1/16", а также для соединения с капиллярами 1/16", в т.ч. NanoViper или MarvelX, через симметричный юнион на 1/16" с внутренней септой (например, VICI p/n ZU1XC).</p> <p>Внимание!!! Использование юнионов без внутренней септы (например, специальный юнион для NanoViper) приведет к протечкам и повреждению концов капилляров!!!!</p>	<p>Как выглядит</p> 	
	<p>Как собрать: На конец колонки Peak™ с внешним диаметром 360 мкм одевается рукав 1/16" OD 360 мкм ID (IDEX-HS p/n F-230) и закрепляется при помощи стальной феррулы (SS феррула 1/16, VICI p/n ZF1S6-10) винтом (SS nut 1/16, VICI p/n LZN1-10). В момент затягивания вся конструкция должна быть вставлена в юнион или вэлв, в котором планируется дальнейшее использование соединения, для точного соответствия длины выступа рукава геометрии порта.</p>		<p>900 бар</p>

Варианты подключения капиллярных колонок серии Peak™ к хроматографической системе и к источнику ионизации масс-спектрометра

Вариант 3.	<p>Применяется для присоединения к портам кранов на 1/32", а также для соединения с капиллярами 1/32" через симметричный юнион на 1/32" (VICI p/n ZU1XC). Также, при использовании переходного юниона 1/16" – 1/32" (VICI p/n ZU.5XC) возможно присоединение к капиллярам 1/16".</p>	<p>Как выглядит</p> 	
	<p>Как собрать:</p> <ul style="list-style-type: none"> - На конец колонки Peak™ с внешним диаметром 360 мкм одевается рукав (sleeve, IDEX-HS, p/n F-230), капилляр колонки с рукавом зажимается в порте вэлта или юниона при помощи винт-феррулы 1/32" (no-twist nut-ferrule 1/32, VICI, p/n ZNF.5FPK-5) (Вариант 3.HPLC). - альтернативным вариантом под UHPLC давление является использование того же PEEK рукава (sleeve, IDEX-HS, p/n F-230), на который одевается стальная феррула 1/32 (SS ferrule 1/32, VICI, p/n ZF.5S6-10) и затягивается стальным винтом 1/32" (SS nut 1/32, VICI, p/n LZN.5-10) (Вариант 3.UHPLC). 		350 бар 900 бар
Вариант 4.	<p>Применяется для соединения с портами вэлта и юнионов VICI, рассчитанных на капилляры 360 мкм OD. Возможно соединение с капиллярами на 360 мкм OD через симметричный юнион на 360 мкм (union 360 um – 360 um, VICI p/n C360UFS2) (Вариант 4.360), а также соединение с капиллярами на 1/32" OD через переходной юнион (reducing union 1/32 – 360 um, VICI, p/n C360RU.5FS2) (Вариант 4.1/32) или с капиллярами 1/16" OD через переходный юнион (reducing union 1/16 – 360 um, VICI, p/n C360RU1FS6) (Вариант 4.1/16)</p>	<p>Как выглядит</p> 	
	<p>Как собрать:</p> <p>Конец колонки Peak™ закрепляется в порте юниона на 360 мкм OD с использованием винт-феррулы (no-twist nut-ferrule 360 um PEEK, VICI, p/n C360NFPK). При нормальном затягивании выдерживает давление 500 бар. При усиленном затягивании выдерживает давление до 800 бар (для этого использовать только новые не деформированные винт-феррулы).</p> <p>Внимание!!! Винт-феррула при сильном затягивании надрезает полиимидную пленку. В случае повторных соединений, всегда проверяйте кончик капилляра на предмет наличия кругового надреза. При обнаружении повреждения отрежьте концевые 5 мм капилляра. Крайне не рекомендуется для присоединения дистального конца колонки, т.к. его подрезать нельзя – в дистальном конце колонки запрессован фрит.</p> <p>Альтернативным вариантом является использование стальных винт-феррул (no-twist nut-ferrule 360 um SS, VICI, p/n C360NFFS) для получения соединения на давления до 1200 бар (по заявлению компании производителя).</p>		500 - 800 бар 1200 бар

Варианты подключения капиллярных колонок серии Peak™ к хроматографической системе и к источнику ионизации масс-спектрометра

Вариант 5.	<p>Применяется для соединения с капиллярами 1/32" или 360 мкм OD.</p>	<p>Как выглядит</p> 	До 300 бар
<p>Как собрать: На конец колонки Peaky надевается PEEK рукав (IDEX-HS, p/n F-230, серый PEEK). Fused silica капилляр с рукавом закрепляется в юнионе (union 1/32-1/32, IDEX, p/n P-771) с использованием винт-феррулы (nut-ferrule 1/32, IDEX-HS F-126S – кирпично-красный PEEK). Внимание!!! Данный юнион является TrueZeroDeadVolume (TZDV) – он не содержит ограничивающей перегородки – септы внутри юниона. Для корректного подключения капилляров необходимо строго следовать инструкции и использовать белую тефлоновую вставку-выравниватель из комплекта.</p>			
Вариант 6.	<p>Применяется для соединения с капиллярами 360 мкм OD.</p>	<p>Как выглядит</p> 	До 450 бар
<p>Как собрать: На конец колонки Peaky надевается PEEK рукав (IDEX-HS, p/n F-185 – темно-зеленый PEEK). Fused silica капилляр с рукавом закрепляется в юнионе (union 0.025", IDEX, p/n P-720) с использованием винт-феррулы (nut-ferrule 0.025", IDEX-HS, F-125 – серый PEEK). Внимание!!! Данный юнион является TrueZeroDeadVolume (TZDV) – он не содержит ограничивающей перегородки – септы внутри юниона. Для корректного подключения капилляров необходимо строго следовать инструкции и использовать белую тефлоновую вставку-выравниватель из комплекта.</p>			
<p>Важно!!!! Рукава (sleeves) и винт-феррулы не являются взаимозаменяемыми между красным и серым PEEK юнионами в вариантах присоединения (5) и (6). Использование некорректного слива или винт-феррулы приведет к протечкам, поломкам капилляра и/или выходу из строя винт-феррул и юниона.</p>			

Варианты подключения капиллярных колонок серии Peak™ к хроматографической системе и к источнику ионизации масс-спектрометра

Рекомендованные типы соединений:

С точки зрения простоты использования и экономии мы рекомендуем пользоваться PEEK no-twist винт-феррулами 360 мкм для UHPLC присоединения фронтального конца колонок (Вариант 4) и PEEK HPLC соединениями после колонок (Варианты 5 и 6). Также возможно использование SS юнионов для присоединения эмиттеров (Вариант 3 и 4).

Для соединения с nanoViper или MarvelX капиллярами с 1/16" OD на дистальном конце оптимальными соединениями являются (Вариант 1) и (Вариант 4.1/16). При этом, однако же, в (Варианте 4.1/16) используются более дорогие юнионы.

(Вариант 3) удобен для соединения с 1/32" OD PEEKSil капиллярами, такими как используются в HPLC и UHPLC системах Eksigent и Agilent.

При использовании многоразовых соединений

При сильной деформации рукава в месте сдавления PEEK феррулой поврежденная часть PEEK рукава может быть отрезана гильотиной для капилляров. При этом необходимо внимательно следить за перпендикулярностью полученного среза.

При повреждении полиимидной пленки Fused Silica капилляра (следить за появлением характерного ободка в полиимидной пленке в результате «надрезания» его феррулой), с фронтального конца колонки может быть отрезано 5-10 мм без принципиального ухудшения разрешающих свойств колонки **(ВНИМАНИЕ!!! НИКОГДА НЕ ПОДРЕЗАТЬ ДИСТАЛЬНЫЙ КОНЕЦ)**.

Варианты подключения капиллярных колонок серии Peak™ к хроматографической системе и к источнику ионизации масс-спектрометра

Примеры комбинаций соединений между краном, колонкой и иглой:

Зеленым цветом выделены физические элементы системы (порты кранов, капилляры, колонки, эмиттеры)

Желтым цветом выделены варианты соединения

Присоединение колонки Peak™ к системе Ultimate3000 RSLCnano (ThermoScientific):

Прямое присоединение колонки к стандартному крану с потами на 1/16" в термостате хроматографа:

1. порт 1/16 в термостате -> Соединение (Вариант 2) -> column 360 мкм OD

Вынос колонки за пределы термостата с использованием nanoViper капилляра с 1/16" соединением на дистальном конце:

2. порт 1/16 -> nanoViper capillary 1/16" OD -> union 1/16 – 1/32 um (Вариант 1) -> column 360 мкм OD
3. порт 1/16 -> nanoViper capillary 1/16" OD -> union 1/16 – 1/16 um (Вариант 2) -> column 360 мкм OD
4. порт 1/16 -> nanoViper capillary 1/16" OD -> union 1/16 – 360 um (Вариант 4.1/16) -> column 360 мкм OD

Наиболее удобным является вариант соединения 4. Следующим по удобству является вариант 1. Наиболее сложным для самостоятельной корректной сборки является Вариант 2.

Вынос колонки за пределы термостата с использованием nanoViper капилляра с 360 мкм OD дистальным концом:

5. порт 1/16 -> nanoViper capillary 1/16" OD -> union 360 um – 360 um (Вариант 4.360) -> column 360 мкм OD
6. порт 1/16 -> nanoViper capillary 1/16" OD -> PEEK union (Вариант 5 или 6)* -> column 360 мкм OD

*Варианты 5 и 6 используется только для коротких HPLC колонок.

Вынос колонки за пределы термостата без использования капилляров nanoViper:

7. порт 1/16 -> Соединение (Вариант 2) -> FS капилляр 360 мкм OD -> union 360 um – 360 um (Вариант 4.360) -> column 360 мкм OD
8. порт 1/16 -> Соединение (Вариант 2) -> FS капилляр 360 мкм OD -> PEEK union (Вариант 5 или 6)* -> column 360 мкм OD

*Варианты 5 и 6 используется только для коротких HPLC колонок.

Варианты подключения капиллярных колонок серии Peak™ к хроматографической системе и к источнику ионизации масс-спектрометра

Присоединение колонки Peak™ к системе Eksigent (ABSciex):

Прямое присоединение колонки к крану с портами на 1/32" в термостате:

9. порт 1/32 в термостате → Соединение (Вариант 3 HPLC или UHPLC в зависимости от давления на колонке) -> column 360 мкм OD

Вынос колонки за пределы термостата с использованием PEEK-Sil капилляра с 1/32" OD дистальным концом:

10. порт 1/32 -> PEEKSil capillary 1/32 -> union 1/32 – 1/32 (Вариант 3 HPLC или UHPLC в зависимости от давления на колонке) -> column 360 мкм OD
11. порт 1/32 -> PEEKSil capillary 1/32 -> union 1/32 – 360 (Вариант 4.1/32) -> column 360 мкм OD
12. порт 1/32 -> PEEKSil capillary 1/32 -> PEEK union 1/32 – 1/32 (Вариант 5)* -> column 360 мкм OD

*Вариант 5 используется только для коротких HPLC колонок.

Варианты подключения капиллярных колонок серии Peak™ к хроматографической системе и к источнику ионизации масс-спектрометра

Присоединение эмиттера к колонке:

13. column 360 мкм OD -> PEEK union – вариант соединения (5) -> игла 360 мкм OD или SS иглы через рукав 1/32" OD

напряжение подается или напрямую на металлическую/металлизированную иглу или на стальной union перед колонкой;

14. column 360 мкм OD -> PEEK union – вариант соединения (6) -> игла 360 мкм OD через рукав 1/32" OD

напряжение подается или напрямую на металлизированную иглу или на стальной union перед колонкой;

15. column 360 мкм OD -> SS union 1/32 – 360 (Вариант 4.1/32) -> игла FS 360 мкм OD

напряжение подается или напрямую на металлическую/металлизированную иглу или на стальной union перед эмиттером;

16. column 360 мкм OD -> SS union 1/32 – 1/32 (Вариант 3.HPLC) -> игла FS 360 мкм OD или SS иглы через рукав 1/32" OD

напряжение подается или напрямую на металлическую/металлизированную иглу или на стальной union перед эмиттером;

ВНИМАНИЕ!!! Присоединение дистального конца колонки к юнионам на 360 мкм возможно, но **КРАЙНЕ НЕ РЕКОМЕНДУЕТСЯ**, т.к. может привести к повреждению дистального конца колонки. Повреждение дистального конца колонки выводит ее из строя.

При необходимости соединения колонки с эмиттером через капилляр может быть использована любая схема из вышеперечисленных в зависимости от характеристик используемого капилляра. При этом мы рекомендуем присоединять колонку напрямую к эмиттеру для снижения постколоночного мертвого объема и размытия пиков.