

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

**Instrumentace Waters**  
**pomocné solventy**  
**proplach systémů**

**Petr Butzke**



- Pomocné solventy jsou nezbytné pro správnou činnost kapalinového chromatografu
- Složení pomocného roztoku záleží na jeho funkci v systému
  - Požadavek - rozpouštění anorganického pufru – solvent s vysokým obsahem vody
  - Požadavek – rozpouštění organických látek (analyt, nečistoty vzorku) – solvent v vysokém podílem organického rozpouštědla.
- Složení pomocného roztoku
  - kompatibilita s mobilní fází (např. systém v RP x systém v NP)
  - kompatibilita koncentrační (objemová kontrakce pracuje i v kapilárních rozměrech, příklad čistý methanol a voda)

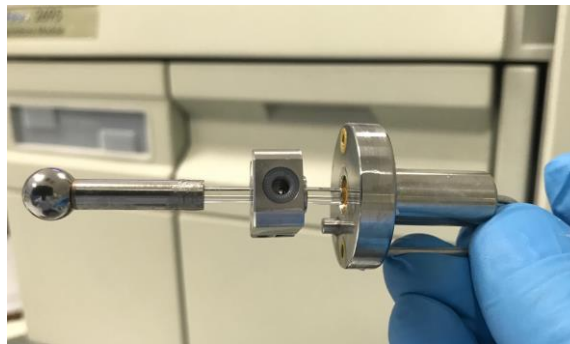
## Oplach pístů (Seal Wash)

oplachová kapalina zajišťuje očišťování povrchu pístu od případných anorganických nečistot, které se na safírovém povrchu pístu deponují při použití mobilních fází s obsahem pufrů. Oplach pístů prodlužuje životnost těsnění v čerpadle.

Doporučení pro systémy v reverzní fázi:

### 10 – 20% MeOH (ACN) / voda

(Při rutinním provozu 1 x týdně obsah zásobní lahve vyměnit).



Doporučení pro systémy v normální fázi:

rozpuštědlo kompatibilní s aktuální mobilní fází bez obsahu vody, zpravidla methanol, ethanol.



Použití nevhodného solventu (s nízkým obsahem vody)

## Nástřik vzorku – principy, pomocné solventy

- Princip nástřiku s děleným tokem mobilní fáze
  - **W2695 (Alliance)**
    - solvent: „Needle wash”
- Princip nástřiku v systému s průtočnou jehlou (flow throw needle, FTN)
  - **Acquity H class, Acquity ARC, ARC HPLC, Acquity I class (FTN)**
    - solvent : „Purge solvent” + „Wash solvent“
- Principy nástřiků v systému s pevnou smyčkou (fixed loop, FL)
  - **Acquity UPLC, Acquity I class (FL)**
    - solvent : „Weak wash” + „Strong wash“

# Separáčnı́ modul W2695

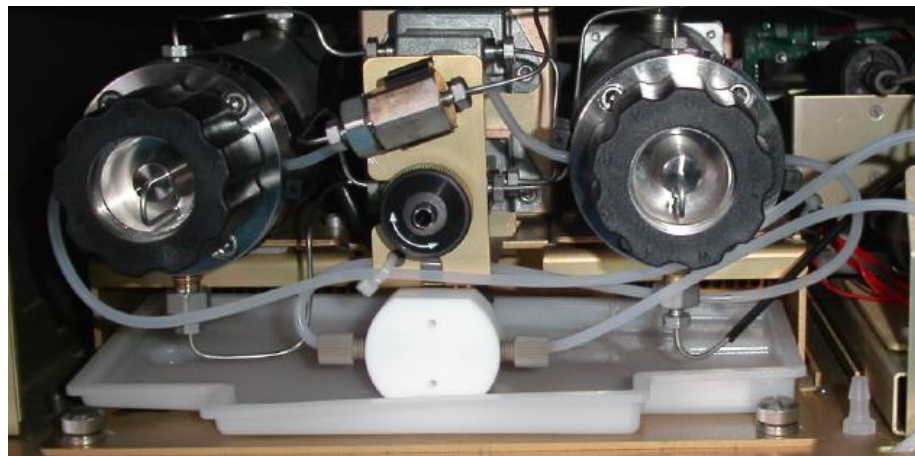


- kontrola oplachu pı́stů (DIAGNOSTICS - Prime Seal Wash)
- provést oplach jehly (DIAGNOSTICS - Needle Wash)
- fluidické cesty / dry prime, wet prime
- **proplach injektorové části systému (PURGE)**
- **ekvilibrace / kondicionace systému**  
(Kondicionace systému – v případě aplikace s gradientem mobilní fáze)

**! Kontrola zásobnı́ch solventů a oplachovı́ch kapalin !**

# Separáčnı́ modul W2695

Rozsah průtoku: 0 – 10 mL/min  
Tlakový limit systému: 6000 psi.  
Velikost částic kolony: 3,5 µm a větší.



## Proplach čerpadla

- pro dokonalé propláchnutí každé fluidické cesty (A, B, C, D) proplach cca 30 – 40 mL mobilní fáze
- Wet Prime: průtok 7,5 mL/min po dobu 5 minut (pro každou fluidickou cestu)

# Separáční modul W2695

## Doporučen pomocn solventy

- oplach jehly (Needle Wash)

Oplachov kapalina zajiřtuje očiřtovn vnejřho povrchu jehly od depozit vzorku.

Doporučen pro systémy v reverzní fázi:

**50 – 100% MeOH (ACN) / voda**

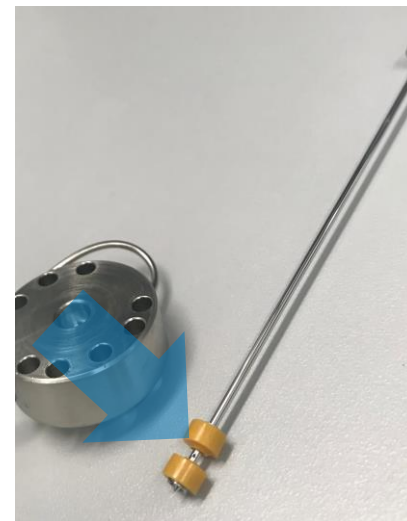
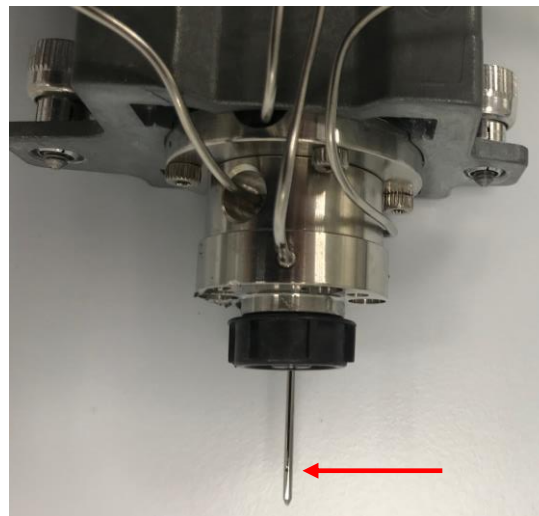
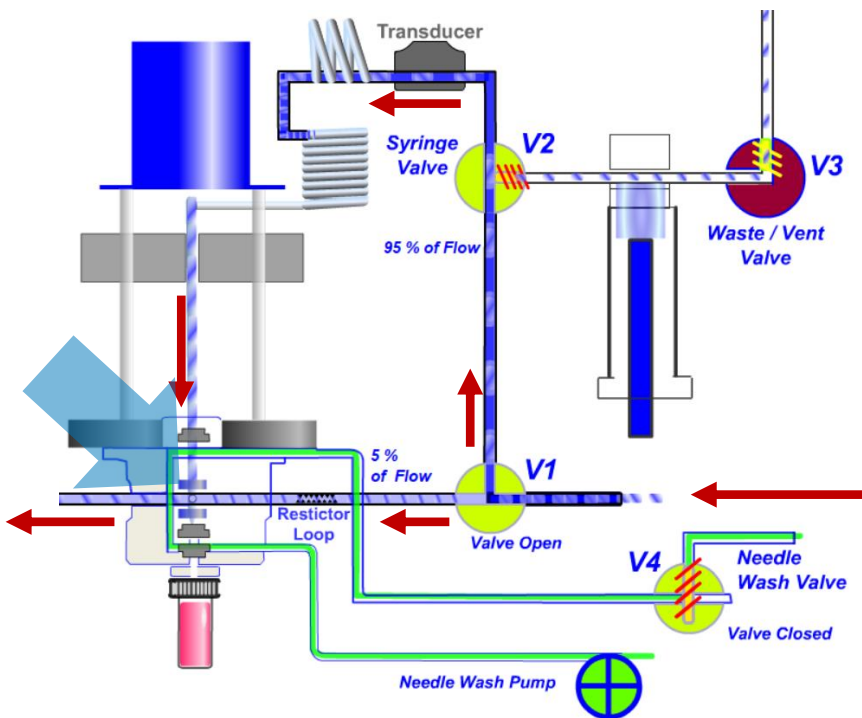
Doporučen pro systémy v normln fázi:

**rozpouřtedlo kompatibilní s aktuálním vzorkem**

**Nevhodn výběr oplachov kapaliny pro danou aplikaci může způsobit přenos vzorku (carry over).**



# Separáční modul W2695



System využívá děleného toku mobilní fáze.



# Acquity H class, Acquity ARC, ARC HPLC



- kontrola oplachu pístů - Prime Seal Wash
- provést prime injektoru (Purge solvent, Wash solvent)
- fluidické cesty – proplach mobilními fázemi
- **ekvilibrace / kondicionace systému**  
(Kondicionace systému – v případě aplikace s gradientem mobilní fáze)

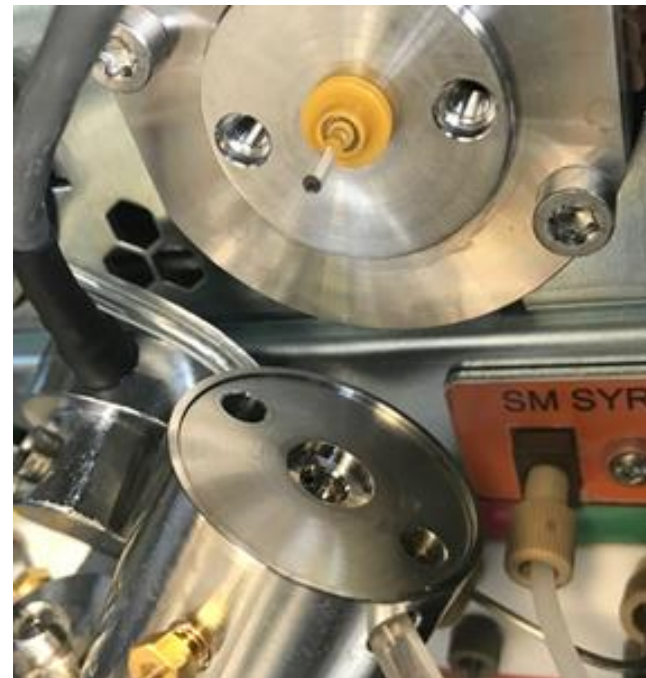
**! Kontrola zásobních solventů a oplachových kapalin !**

# Acquity H-class

Rozsah průtoku: 0 – 2 mL/min  
Tlakový limit systému: 15 000 psi  
Velikost částic kolony: 1,7 μm (UPLC kolony) a větší

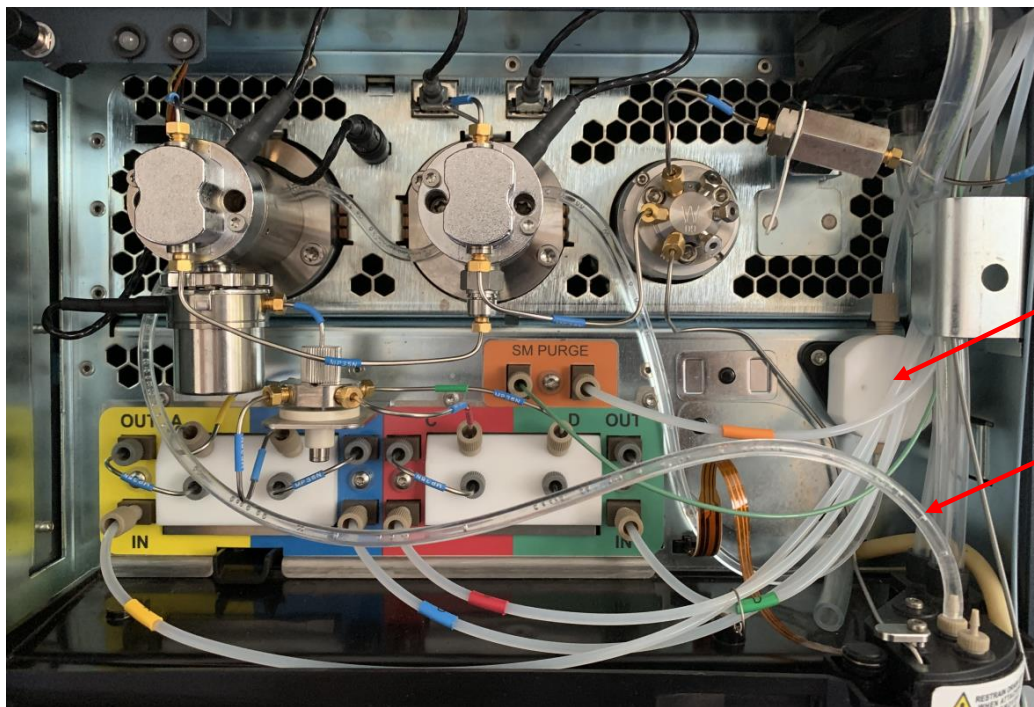
## Příprava čerpadla

- pro dokonalé propláchnutí každé fluidické cesty (A, B, C, D) proplach cca 30 – 40 mL mobilní fáze
- Prime při daném průtoku 4 mL/min po dobu 7 - 8 minut (pro každou fluidickou cestu)
- Kontrola fluidické cesty pro oplach pístů



# Acquity H-class

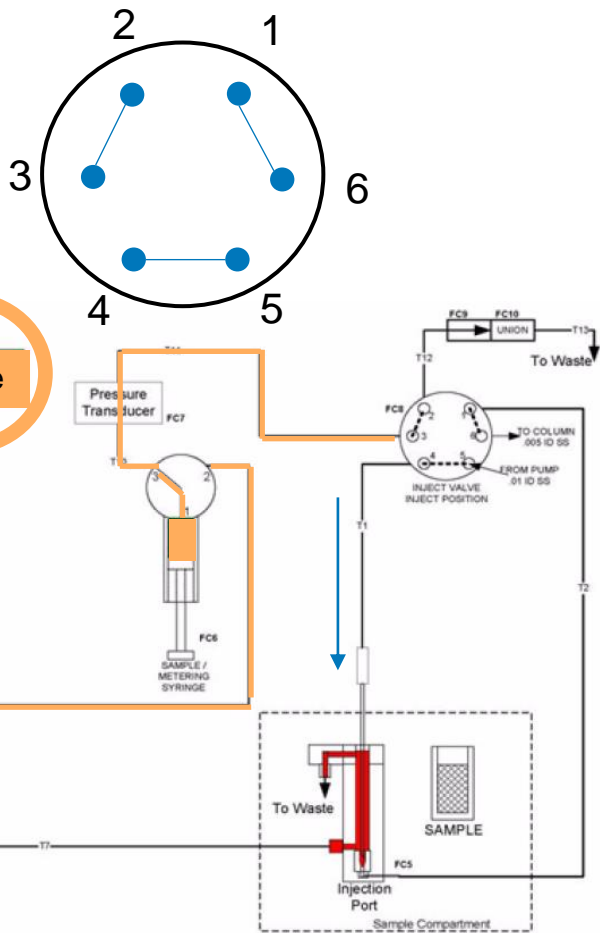
## Příprava čerpadla – fluidická cesta pro oplach pístů



Pumpička pro oplach pístů

Fluidická cesta oplachu pístů

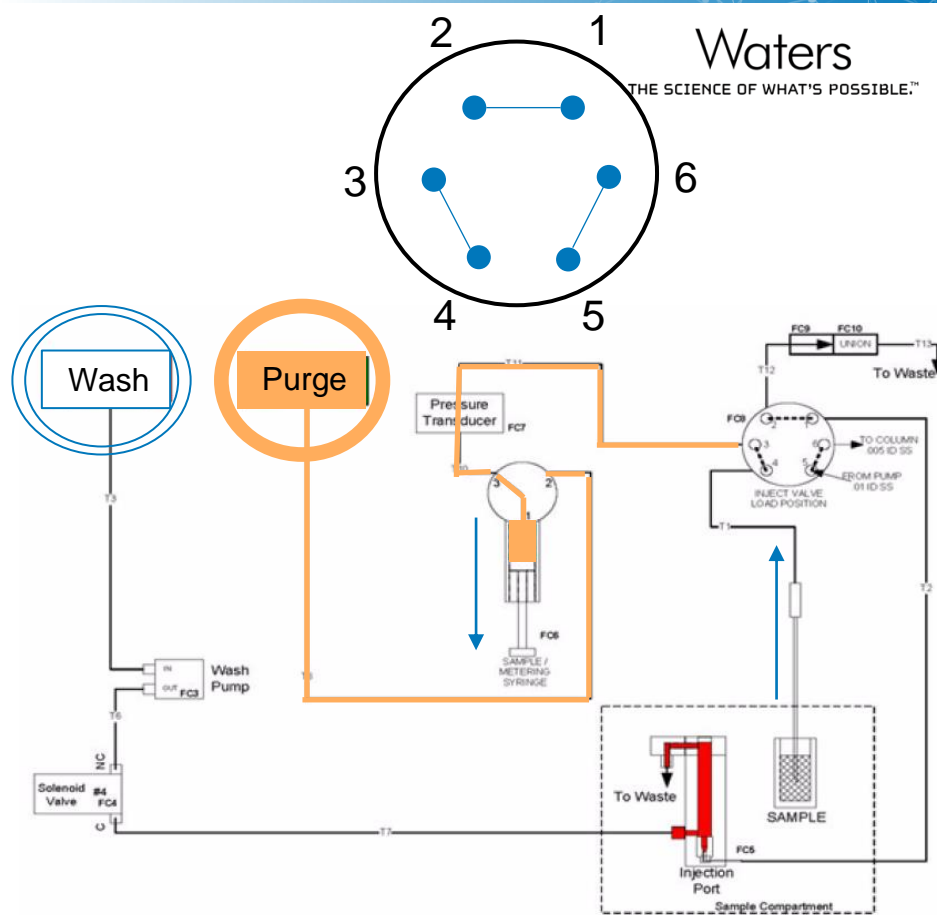
**FTN**



Pozice jehly a nástřikového ventilu během analýzy.

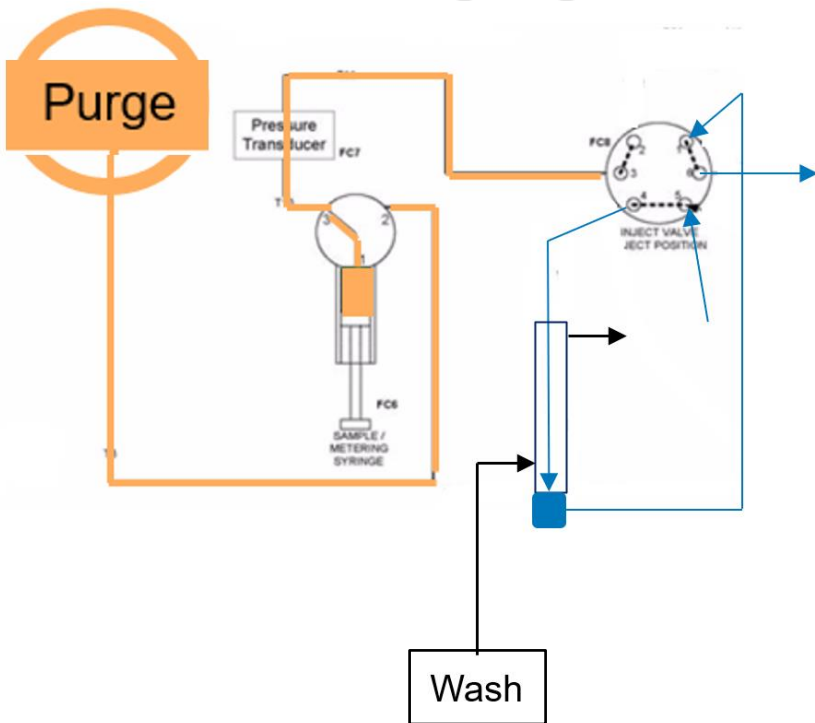
**Waters**

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Nasávání vzorku.

# Nástříkový systém „Flow Throw Needle“



## Purge solvent

solvent ve fluidickém systému injektoru, slouží jako „kapalinový píst“ ve stříkačce, doporučený solvent:

**ACN/voda v poměru 10/90 až 50/50**

Spotřeba purge solventu je minimální.

**Pro rutinní propláchnutí provést 10 proplachových cyklů.**

**Pro dokonalé propláchnutí této fluidické cesty je nutno provést 40 cyklů.**

# Nástřikový systém „Flow Throw Needle“

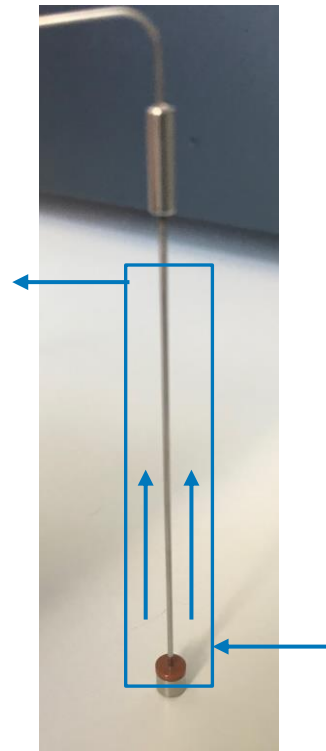
## Wash solvent

Wash Solvent – oplach vnějšího povrchu jehly, lze nastavit před, po nástřiku, zpravidla defaultní nastavení postačuje – doporučený solvent

**50 až 100 % ACN/voda**

**Pro rutinní propláchnutí proplachovat 10 sec.**

**Pro dokonalé propláchnutí této fluidické cesty proplachovat 180 sec.**



# Acquity ARC & ARC HPLC

Rozsah průtoku: 0 – 5 mL/min  
Tlakový limit systému: 9500 psi.  
Velikost částic kolony:

- Acquity ARC – vnitřní průměr kapilár: 0.007 “ – optimalizován pro kolony s velikostí částic 2,5 – 5 μm.
- ARC HPLC – vnitřní průměr kapilár: 0.010 “ – optimalizován pro kolony s velikostí částic 3 – 5 μm.

## Proplach čerpadla

- pro dokonalé propláchnutí každé fluidické cesty (A, B, C, D) proplach cca 30 – 40 mL mobilní fáze
- Prime při daném průtoku 10 mL/min po dobu 4 minut (pro každou fluidickou cestu)





# Acquity UPLC

**!!!!!! Než začneme měřit !!!!!**

- kontrola oplachu pístů - Prime Seal Wash
- provést prime injektoru (Weak wash solvent, Strong wash solvent)
- fluidické cesty – proplach mobilními fázemi
- **ekvilibrace / kondicionace systému**  
(Kondicionace systému – v případě aplikace s gradientem mobilní fáze)

**! Kontrola zásobních solventů a oplachových kapalin !**

# Acquity UPLC

Rozsah průtoku:	0 – 2 mL/min
Tlakový limit systému:	15 000 psi
Velikost částic kolony:	1,7 μm (UPLC kolony) a větší

## Proplach čerpadla

- Acquity UPLC – binární čerpadlo
- Pro dokonalé propláchnutí každého čerpadla (A, B) proplach cca 30 – 40 mL mobilní fáze
- Prime při daném průtoku 4 mL/min po dobu 7 - 8 minut (prime obou čerpadel současně)



# Nástřikový systém „Fix loop“

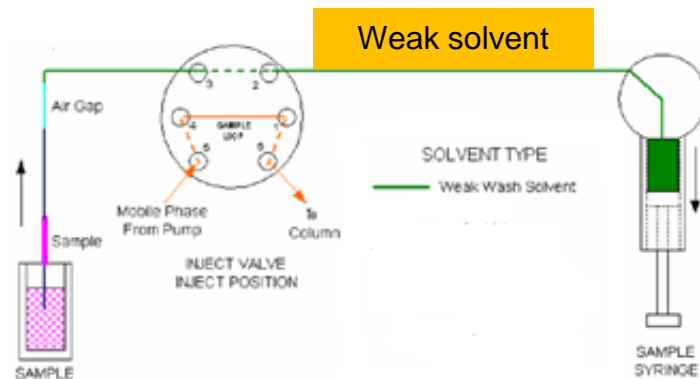
## Acquity UPLC

### Weak solvent

Weak Solvent – dopravní kapalina při nasávání vzorku – doporučený solvent s nízkou eluční silou, doporučení – stejný nebo menší obsah organické složky než je složení mobilní fáze v okamžiku nástřiku. defaultní objem solventu k proplachu je 600  $\mu\text{L}$ .

**10 až 30 % ACN/voda**

**Pro rutinní propláchnutí proplachovat 7 cyklů (7x 2.5 mL) .**



# Nástřikový systém „Fix loop“

## Acquity UPLC

### Strong solvent

Strong Solvent – oplach vnějšího a vnitřního povrchu jehly po nástřiku, defaultní objem solventu k proplachu je 600  $\mu$ L.

doporučený solvent:

**50 až 100 % ACN**

**Pro rutinní propláchnutí proplachovat 7 cyklů (7x 2.5 mL)**

Při proplachu Weak a Strong solventu při zadání 7 cyklů, proběhne cyklů 14, střídavě 7 cyklů Weak a 7 cyklů Strong solventu, píсты stříkaček jsou poháněny jedním motorem.

**!!! Strong solvent musí mít svůj vlastní rezervoár na solvent, při prvním cyklu proplachu se obsah stříkačky pro Strong solvent vrací do zásobní láhve!!!**

# Nástřikový systém FTN vs. Fix Loop

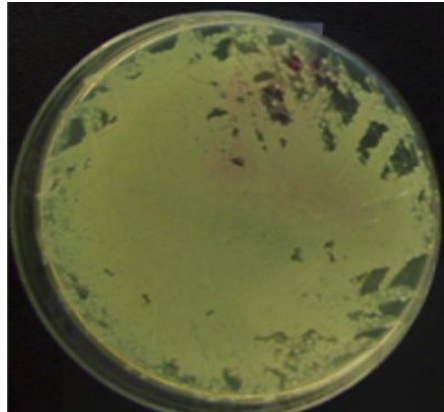
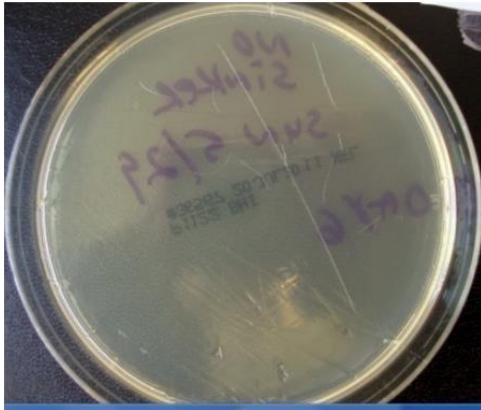
- FTN pomocné solventy: (ACQUITY H class, ACQUITY ARC, ARC HPLC)  
**PURGE Solvent**  
**WASH Solvent**
- FL (fix loop) pomocné solventy: (ACQUITY UPLC, popřípadě samplery s označením FL)  
**WEAK WASH Solvent**  
**STRONG WASH Solvent**

# Samá voda...

Proč nenechávat čistou vodu v chromatografickém systému?

Bakteriální růst způsobí ucpávání všech pórzních dílů ve fluidické cestě:

- solvent filtry v zásobních lahvích
- kontaminace zpětných ventilků
- in line filtry a vnitřní povrchy fluidických cest
- vstupní filtr na hlavě kolony (kolona začne tlakovat)



**Včerejší vodu už nelze nazvat čerstvou...**





Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™