

Předcházejte problémům v HPLC s využitím příslušenství Agilent

Andrea Vernerová
Aplikační specialista (LC, LC/MS)

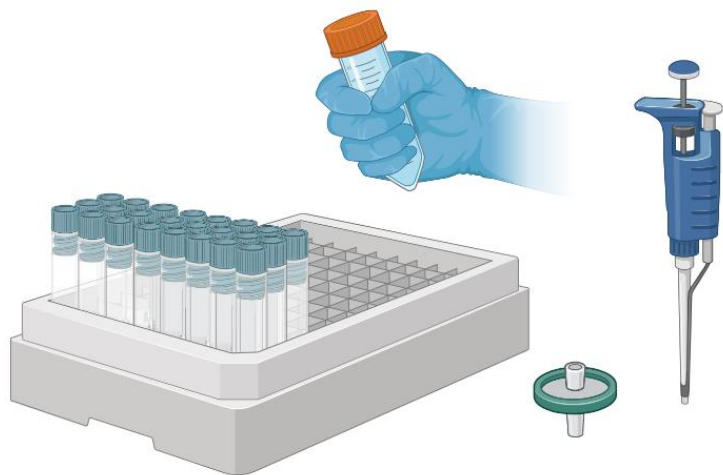
Novinky a trendy (nejen) Agilent Technologies 2022, 9.11. 2022



Příprava vzorku

LC systém

Detektor (MS, DAD)



LC systém – problémy hardware

↑/↓/kolísavý tlak systému – netěsnost v systému, neprůchozí ventilky pumpy, poškozené písty nebo jejich těsnění, nefunkční degaser, nevhodný oplach pístů, zablokovaná kapilára



Neopakovatelné dávkování, přenos vzorku, změna plochy píku – netěsnost systému, ohnutá/zablokovaná jehla či sedýlko, nesprávně naplněná vialka, nevhodná oplachová kapalina



↑/↓/kolísavý retenční čas, vliv na tvar píku a tlak systému – netěsnost systému, zablokovaná kolona, zablokované/olámané systémové kapiláry, opotřebená ferule



LC systém – problémy hardware

Uřezaný pík, negativní píky, snížení účinnosti, necyklický průběh základní linie – prasklá/znečištěná cela detektoru, přítomnost vzduchové bublinky, netěsnost systému, prach v modulu (nedostatečný ohřev/chlazení)



Vliv na všechny části LC systému – kontaminace



Preventivní prohlídky - pravidelný servis

1x ročně zajišťuje servisní technik

Základní procedury:

Pumpa:

- výměna těsnění

Autosampler:

- výměna rotor sealu v nástřikovém ventilu
- Výměna těsnění v nástřikové hlavě
- Výměna jehly a sedýlka

...a další dle stavu přístroje a požadavku zákazníka

Na závěr zkouška těsnosti celé sestavy.



Opotřebené frity purge ventilu



Rezavé části hlavy pumpy



Vysolená mobilní fáze v nástřikové hlavě

LC systém - prevence - uživatel

Chemie mobilní fáze (čistota, pH, koncentrace) ←

Ochrana chromatografické kolony – prodloužení její životnosti ←

Vhodná příprava vzorku před analýzou, vhodné vialky se septy ←



LC systém - prevence - Mobilní fáze

- Kvalita a čistota mobilní fáze: HPLC grade, LC-MS grade a další
- Vodné mobilní fáze: filtrace (0,2 nebo 0,45 μm), tmavé láhve, vždy čerstvé
- **Vhodné bezpečnostní uzávěry:** prevence kontaminace, úniku par rozpouštědla
- Pravidelná kontrola frit v zásobních láhvích (olámané nebo znečištěné) – bakteriální kontaminace a následná neprůchodnost



- Kvalita rozpouštědel – vliv na šum a drift základní linie (práce v oblasti blízké UV cut-off hodnotě mobilní fáze)

Absorbance při 260/250 nm:

- HPLC: max. 0,04
- LC-MS: max. 0,009
- HPLC Plus: max. 0,02

Methanol

CHROMASOLV™, for HPLC, ≥99.9%

Specifications

Property	Value
Assay (GC)	Min. 99.90 %
Non-volatile matter	Max. 0.0005 %
Water (Karl Fischer)	Max. 0.03 %
Absorbance at 400 nm	Max. 0.01
Absorbance 280 nm	Max. 0.01
Absorbance at 260 nm	Max. 0.04
Absorbance at 254 nm	Max. 0.02
Absorbance at 240 nm	Max. 0.07
Absorbance at 235 nm	Max. 0.10
Absorbance at 230 nm	Max. 0.15
Absorbance at 220 nm	Max. 0.30
Absorbance at 210 nm	Max. 0.60
Absorbance at 205 nm	Max. 1.00
Absorbance (JP)(VaLRef)	complying
Fluorescence (chinin) at 254 nm	Max. 1 ppb
Fluorescence (chinin) at 365 nm	Max. 1 ppb
APHA	Max. 10
Vapor Pressure	97.68 mmHg (20 °C)
Vapor Pressure	410 mmHg (50 °C)
Vapor Density	1.11 (vs air)

Methanol

CHROMASOLV™ LC-MS, >=99.9%

Specifications

Property	Value
Vapor Density	1.11 (vs air)
Assay (GC)	Min. 99.90 %
Non-volatile matter	max. 0.0005 %
Water (Karl Fischer)	max. 0.02 %
Non-volatile matter	Max. 0.0005 %
Water (Karl Fischer)	Max. 0.02 %
Free acid (as HCOOH)	Max. 0.001 %
Free alkali (as NH ₃)	Max. 0.0005 %
Silver (Ag)	Max. 0.1 ppm
Aluminium (Al)	Max. 0.5 ppm
Barium (Ba)	Max. 0.1 ppm
Calcium (Ca)	Max. 0.1 ppm
Cadmium (Cd)	Max. 0.05 ppm
Cobalt (Co)	Max. 0.02 ppm
Chromium (Cr)	Max. 0.02 ppm
Copper (Cu)	Max. 0.01 ppm
Iron (Fe)	Max. 0.1 ppm
Potassium (K)	Max. 0.1 ppm
Magnesium (Mg)	Max. 0.1 ppm
Manganese (Mn)	Max. 0.01 ppm
Sodium (Na)	Max. 0.1 ppm
Nickel (Ni)	Max. 0.02 ppm
Lead (Pb)	Max. 0.02 ppm
Tin (Sn)	Max. 0.1 ppm
Zinc (Zn)	Max. 0.1 ppm
Absorbance at 210 nm	Max. 0.523
Absorbance at 220 nm	Max. 0.301
Absorbance at 230 nm	Max. 0.125
Absorbance at 260 nm	Max. 0.009
Fluorescence (chinin) at 254 nm	Max. 1 ppb
Fluorescence (chinin) at 365 nm	Max. 1 ppb
HPLC Gradient at 254 nm	Max. 5 mAU
Suitability for the LC-MS	complying

Methanol

CHROMASOLV™ Plus, for HPLC

Specifications

Property	Value
Purity (GC)	Min. 99.90 %
IR spectrum	complying
Non-volatile matter	Max. 0.0001 %
Water (Karl Fischer)	Max. 0.05 %
Titration Acid	Max. 0.0003 meq/g
Titration Base	Max. 0.0002 meq/g
Absorbance at 400 nm	Max. 0.005
Absorbance at 250 nm	Max. 0.02
Absorbance at 230 nm	Max. 0.10
Absorbance at 220 nm	Max. 0.20
Absorbance at 210 nm	Max. 0.80
Absorbance at 205 nm	Max. 1.0
Fluorescence (chinin) at 254 nm	Max. 1.0 ppb
Fluorescence (chinin) at 365 nm	Max. 1.0 ppb
HPLC Gradient at 230 nm	Max. 2 mAU
HPLC Gradient at 254 nm	Max. 5 mAU
APHA	Max. 10
Carbonyl compounds (as Acetone)	Max. 0.001 %
Carbonyl Compounds (as HCHO)	Max. 0.001 %
Carbonyl compounds (as C ₂ H ₄ O)	Max. 0.001 %
Explosion Limit	36 %
Autoignition Temperature	725 °F

InfinityLab Stay Safe promývací láhev

- K umístění nepoužívaných hadiček pro přívod mobilní fáze
- Prevence křížové kontaminace rozpouštědel a vodné fáze



Vyhňte se škodlivým výparům



Snadná manipulace



Zabraňte nechtěnému nasávání vzduchu

- Uzavření láhve pomocí bezpečnostních víček → minimalizace kontaminace ultračistých rozpouštědel z prostředí laboratoře
- Jednotlivé hadičky bez rizika samovolného překroucení nebo vyklouznutí
- Hadičky jsou pevně přichyceny k víčkům (šroubení) → zabránění nežádoucímu nasávání vzduchu do LC systému



InfinityLab Stay Safe bezpečnostní víčka

- rozdílný počet výstupů dle požadavků uživatele

Mobilní fáze



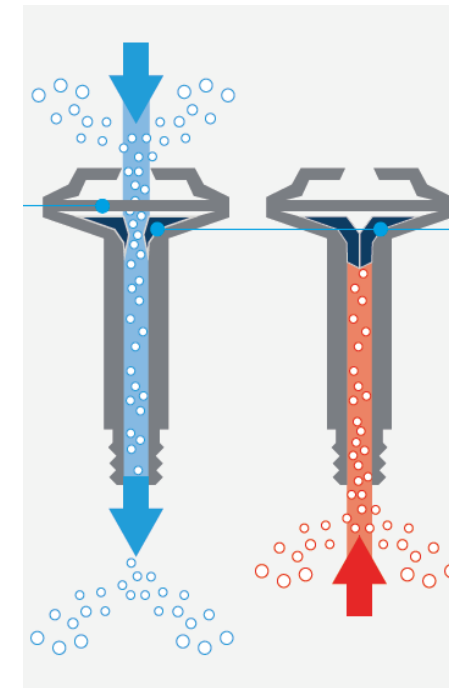
Odpad



Filtrační membrána

Ochrana solventů před prachem a dalšími možnými kontaminacemi z prostředí.

PTFE filtr



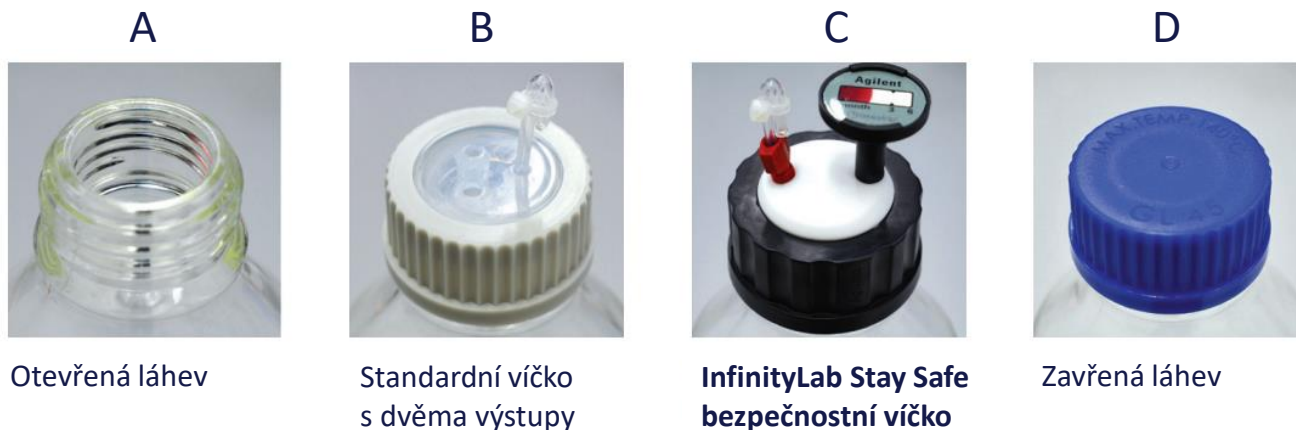
Jednocestný ventil

Prevence úniku nebezpečných výparů z láhve.

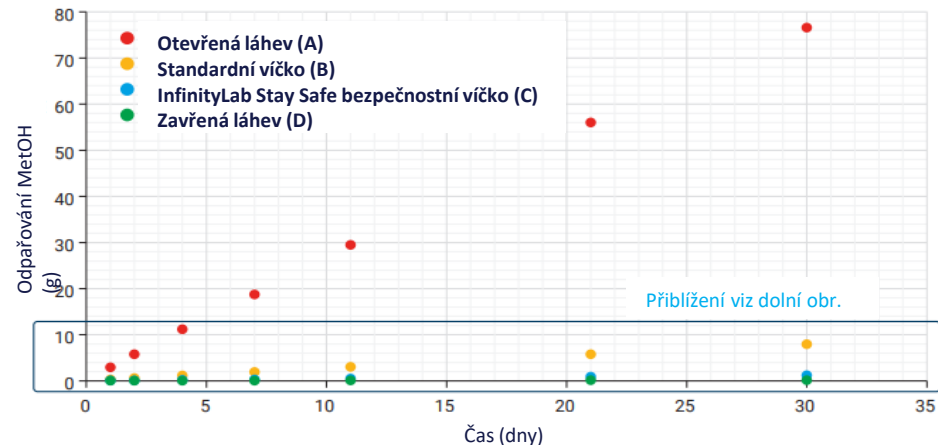


- 6ti měsíční časový pás
- Signalizace výměny

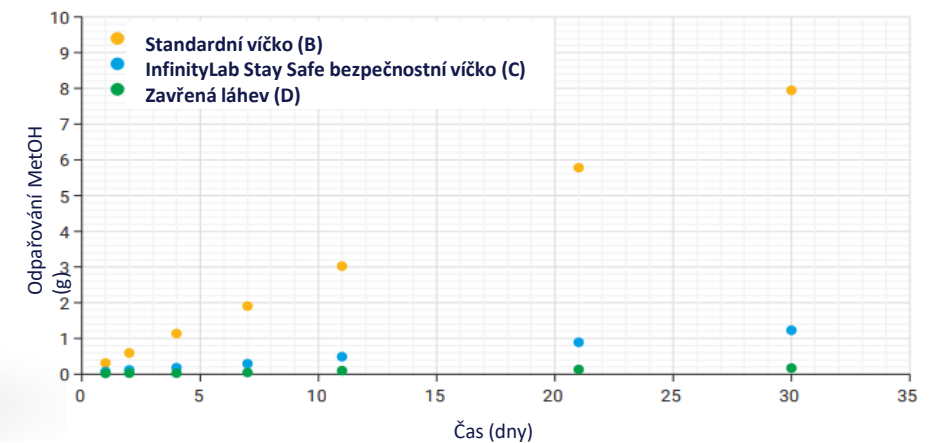
InfinityLab Stay Safe bezpečnostní víčka



Odpařování MetOH v čase z láhve uzavřené odlišnými víčky



Odpařování MetOH v čase z láhve uzavřené odlišnými víčky



-98%

Typ víčka	Ztráta MetOH [g]	Ztráta MetOH [%]
Otevřená láhev	76,6	19,1
Standardní víčko	7,9	2,1
InfinityLab Stay Safe bezpečnostní víčko	1,2	0,3
Zavřená láhev	0,2	0,0

-85%

LC systém - prevence - Autosampler

- Správně nastavit needle offset (bottom sensing) – vialsampler x multisampler
- Správná volba oplachové kapaliny (10-15% IPA, flush port x vialky)
- Používat kvalitní septa – při opakovaném nástřiku kontaminace vzorku
- Vhodná úprava vzorku



Captiva EMR-Lipid



Filtrace vzorku před analýzou

- Vysoce selektivní a účinné odstranění lipidů/matrice bez ztráty analytu
- Minimální potlačení iontů cílových analytů → vyšší spolehlivost a robustnost metody
- ↑ citlivost analytů, zlepšení tvaru píku a prodloužení životnosti kolony
- 3 v 1: precipitace proteinů, filtrace a selektivní odstranění lipidů

2 formáty:

- Kolonky 1 ml (biologické matrice), 3 a 6 ml (QuEChERS)
- 96ti jamkové destičky



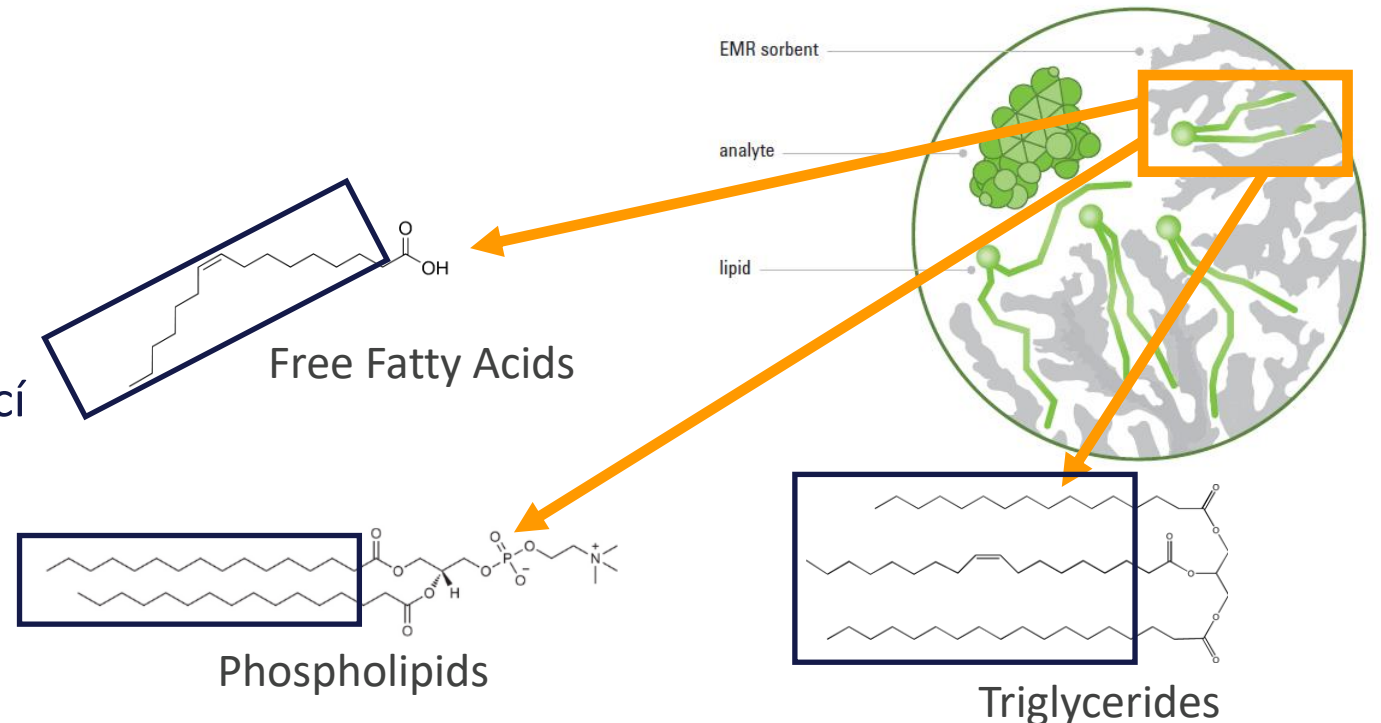
Captiva EMR-Lipid

Vylepšené odstranění matrice (Enhanced Matrix Removal, EMR)

- Speciálně navržený k odstranění tuků a lipidů z různých matric

EMR technologie sorbentu účinně zachycuje lipidy pomocí dvou mechanismů:

- **Vylučovací selekce** - nerozvětvené uhlovodíkové řetězce (lipidy) vstupují do sorbentu, objemné analyty nikoliv
- **Chemie sorbentu** - lipidové řetězce vstupující do sorbentu jsou zachyceny hydrofobní interakcí

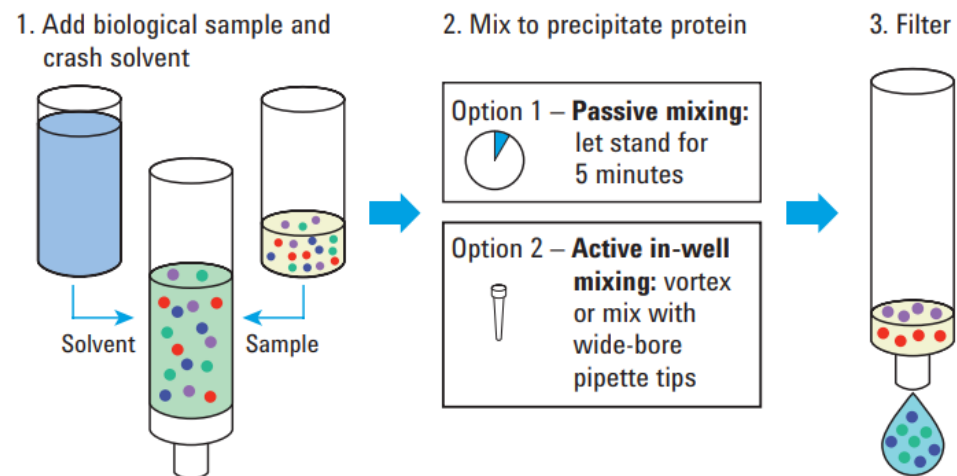


Captiva EMR-Lipid

Využití

1 ml kolonky a 96ti jamkové mikrotitrační destičky

- Biologické matrice – plazma, sérum

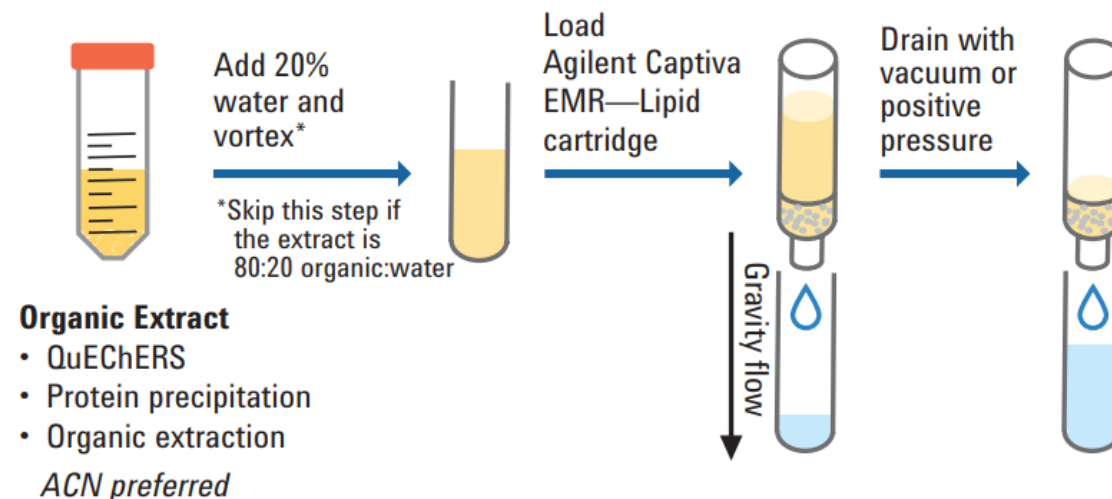


It is highly recommended to add sample first and then crash solvent, to achieve better sample homogeneity during sample and solvent addition.

● Salts ● Proteins ● Lipids ● Analyte

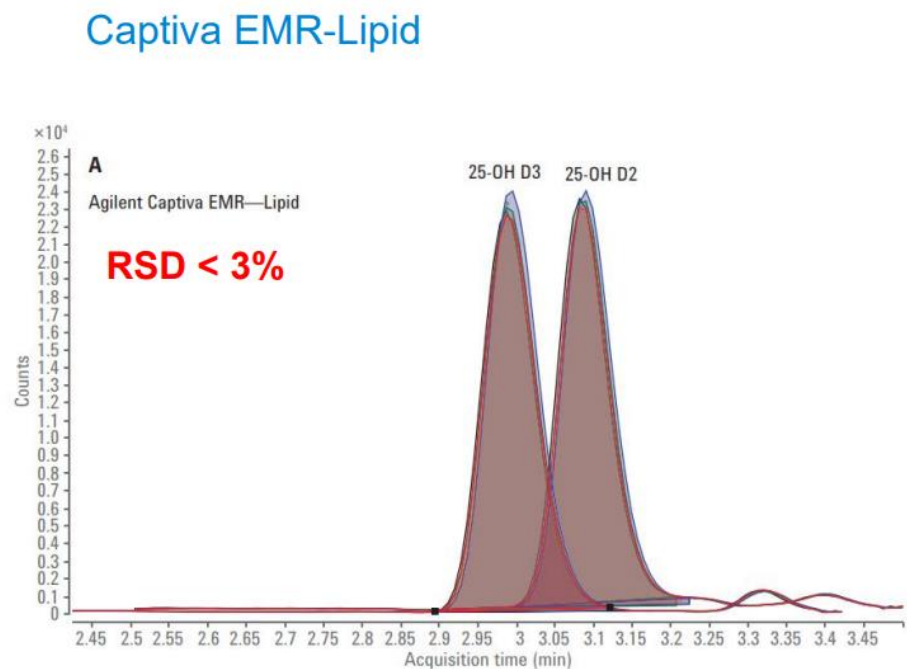
3 a 6 ml kolonky

- Potravinové matrice – ↑ obsah rostlinného/živočišného tuku

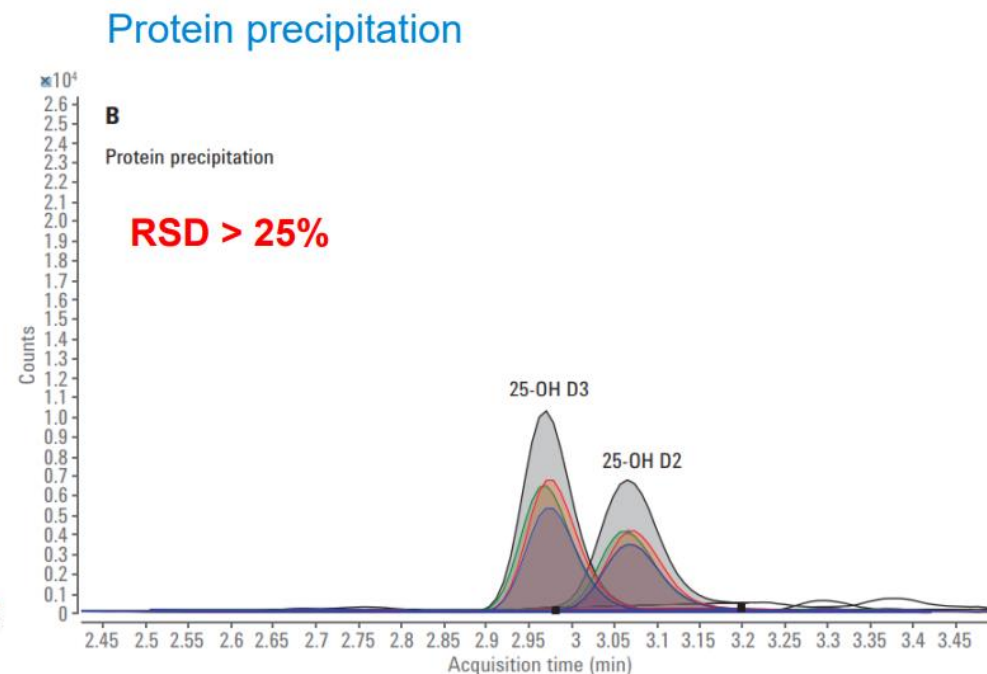


Captiva EMR-Lipid

- Přečištění vzorků obsahujících tuk → ↑ odezva, ↓ RSD



Vzorek po správné úpravě



Vzorek bez dostatečného přečištění

Captiva produkty

Běžná filtrace

- Vylepšený design filtru
- Snadnější průchod vzorku pomocí vakua nebo přetlaku

Různé formáty pro různé objemy:

Stříkačkové filtry

- 0,45 a 0,20 μm (možnost také 0,7 μm)
- zpracování až 150 ml vzorku (4, 15, 25, 28 mm průměr)
- 2 typy: Econo a Premium

Filtrační vialky

- 0,45 a 0,20 μm
- Různé typy membrán: nylon, regenerovaná celulóza, polytetra-fluorethylen, polyethersulfon

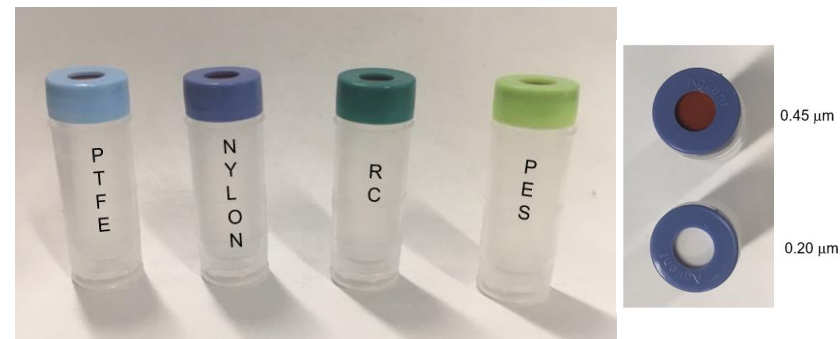
Stříkačkové filtry



Premium filtry



Filtrační vialky



1. Fill
Use a pipette to add sample to the fill line.



2. Cover
Twist gently to ensure a secure seal.



3. Plunge
Press the plunger slowly for about three seconds to filter the sample.

LC systém - prevence - Kolona

- Použití správného fittingu (InfinityLab Quick Connect/Turn) –
↓ mrtvý objem, carry-over
- Pravidelná výměna kapilár, ferule, šroubů z materiálu PEEK
(spotřební materiál)
- Předkolony/prefiltry – prodloužení životnosti kolony
- In-line filtry



do 1300 bar

InfinityLab Quick Connect fitting



do 600 bar (s dotažením
klíčem do 1300 bar)

InfinityLab Quick Turn fitting



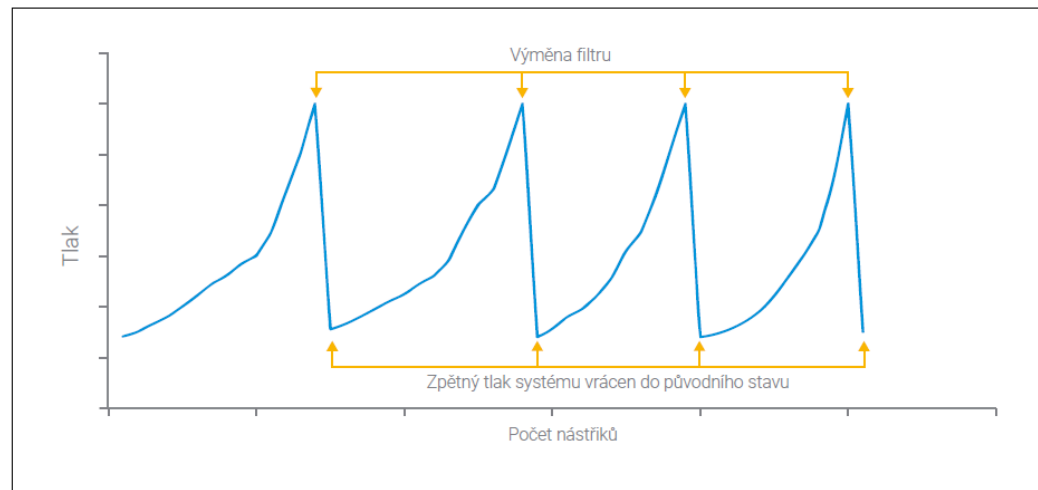
Agilent InfinityLab Quick Change in-line filtr

- Vychytává drobné nečistoty před vstupem do kolony
- Významné prodloužení životnosti kolony nebo předkolony
- Oproti běžným filtrům můžete provést až 100 výměn filtru bez netěsností
- Tlaková odolnost 1300 bar

InfinityLab Quick change in-line filtr



Test životnosti kolony



Agilent InfinityLab Quick Change in-line filtr

Výhody použití:

- Snadné manuální dotažení při výměně filtračního disku (bez rizika podtěkání z nedostatečného utažení)
- Bezdotyková výměna filtračních disků pro minimalizaci kontaminace
- Široký výběr rozměrů a velikosti porozity filtračních disků pro každý HPLC systém



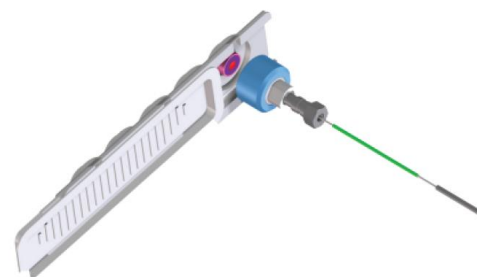
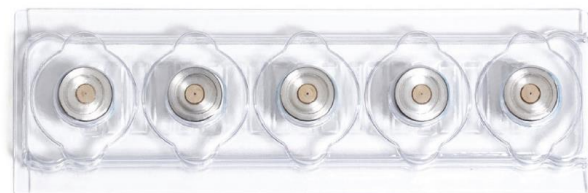
2,1 mm
0,2 µm

2,1 mm
0,5 µm

4,6 mm
0,2 µm

4,6 mm
0,5 µm

4,6 mm
2,0 µm



HPLC Advisor



Aplikace Agilent InfinityLab HPLC Advisor

- Snadnější a rychlejší řešení problémů s LC
- Stažení přímo do Vašich chytrých zařízení umožní pomoc kdykoli a kdekoli (také offline)
- Nezávisle na modelu LC
- Pomoc při vývoji metod

Hlavní nabídka



Troubleshooting



Kalkulátor



Knihovna dat



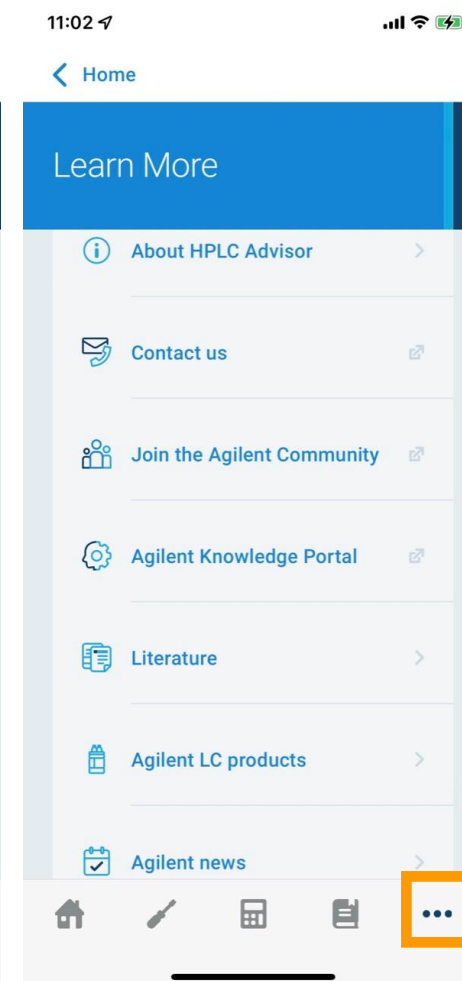
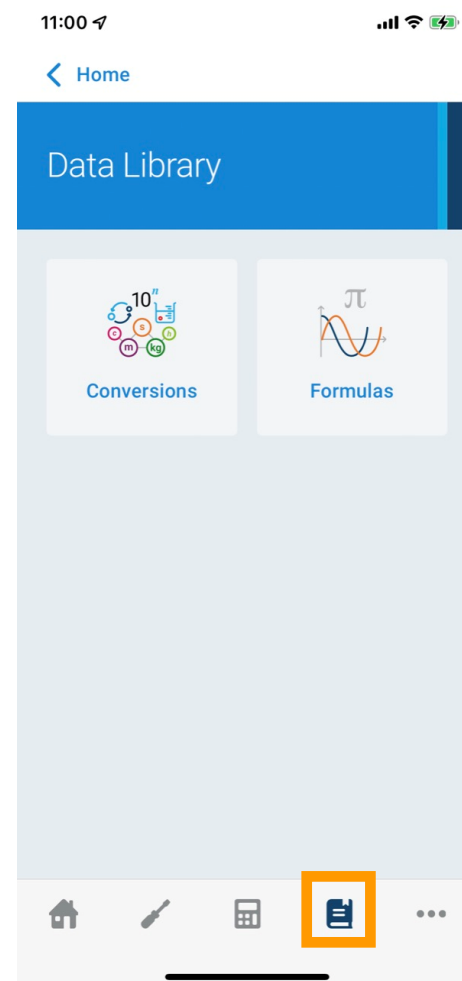
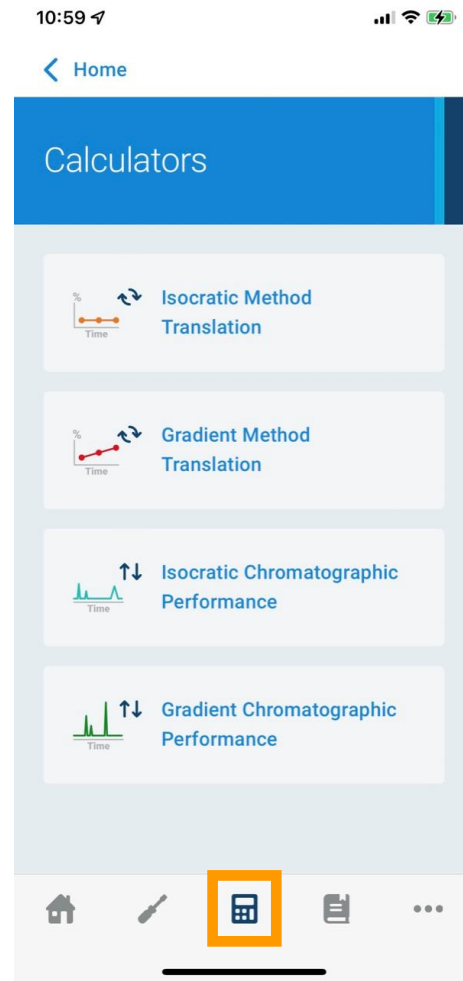
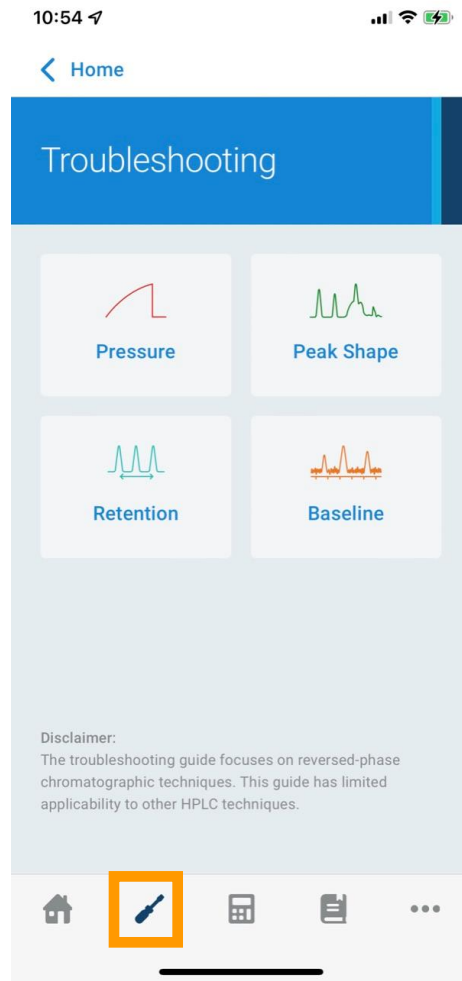
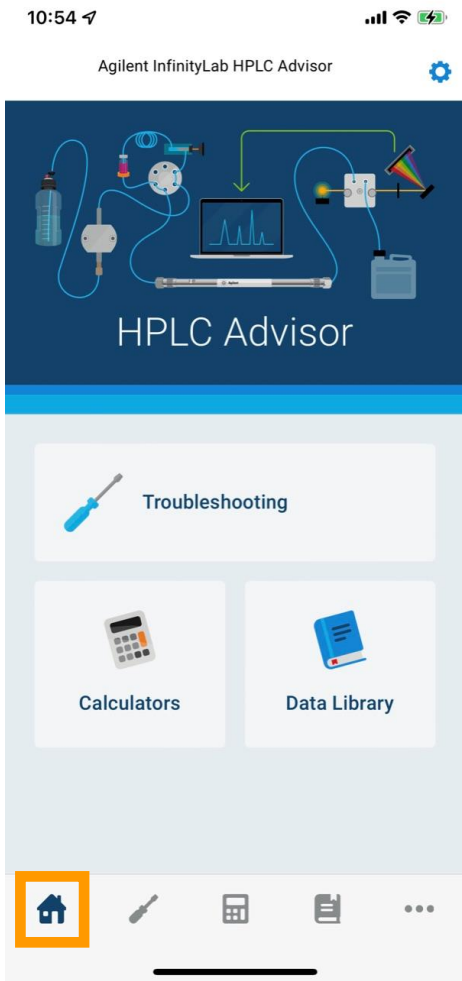
Stažení

Jak funguje HPLC Advisor



HPLC Advisor

Troubleshooting



Shrnutí

Řešení problémů v HPLC – Troubleshooting:

1. PREVENENCE
2. DIAGNOSTIKA
3. ŘEŠENÍ



Nabídka řešení od Agilent


- InfinityLab Stay Safe promývací láhev
 - InfinityLab Stay Safe bezpečnostní víčka
 - Captiva EMR-Lipid filtry
 - Agilent InfinityLab Quick Change inline filtr
-
- Aplikace Agilent InfinityLab HPLC Advisor



Akce na spotřební materiál

www.eshop.labicom.cz

NABÍDKA
září-říjen-listopad



NOVINKA: >>>
SPE kolonky Carbon S k odstranění pigmentů a dalších nežádoucích reziduí z potravinářských vzorků při analýze pesticidů.

NOVINKA: >>>
rozšířené portfolio preparativních kolon, které jsou nově k dispozici také ve formátu Poroshell kolon s velikostí částic 4.0 μm

3za2

Při koupi 3 a více položek z vybraných skupin produktů (GC kolony, LC kolony, SPE kolonky, SPME vlákna, stříkačkové filtry...) získáte slevu 33% na každou položku.

Nabídka platí pro libovolnou kombinaci produktů.
Nabídka neplatí na produkty vyrobené na zakázku.

nabídka platí do: 30. 11. 2022
PROMO KÓD: 3za2

Inovativní zásobní láhev na rozpouštědla (Purging Bottle)

Proplachovací láhev (kat.č. 5043-1339) s více hrdly až pro 4 kanály HPLC systému, doplněná o sadu bezpečnostních uzávěrů **eliminuje riziko kontaminace čistých rozpouštědel na minimum.** >>>



kat.č. 5043-1340

kat.č. 5043-1222



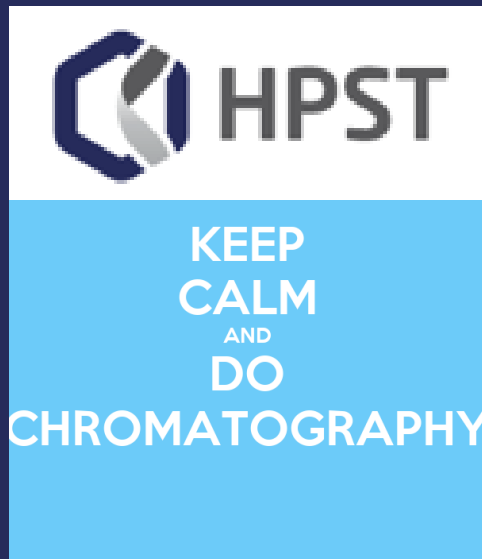
PROMO KÓD: Safe30

30% sleva

Autorizovaný distributor
Agilent Technologies



Děkuji za pozornost



Andrea Vernerová
Aplikační specialista (LC, LC/MS)
andrea.vernerova@hpst.cz

www.hpst.cz

