



Doğan Özdemir
Satış Mühendisi
Sales Engineer
GLSciences Ürün Sorumlusu
GLSciences Product Manager
Ant Teknik

HPLC’de Kolon Ömrü Nasıl Uzatılır? How to Prolong Column Lifetime?

Kolon ömrü, analitik koşullara ve saklama yöntemine bağlıdır. Burada kolon hasarının nedenlerini ve bunlarla nasıl başa çıkılacağını tanıtıyoruz.

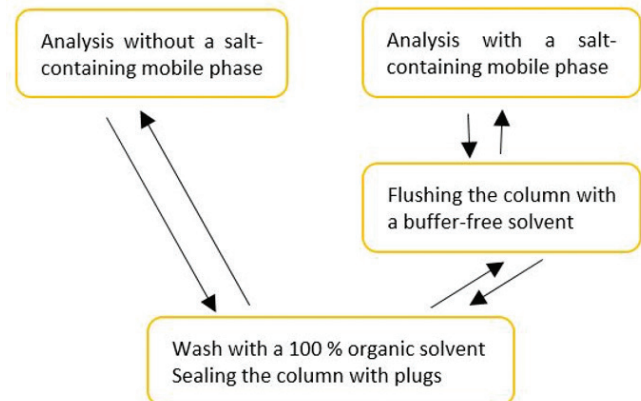
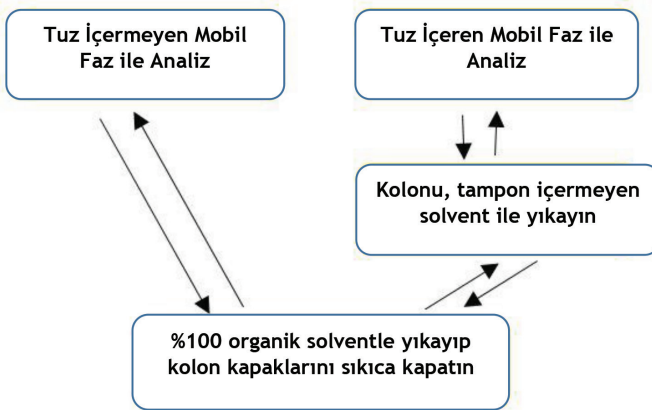
1. Kolonda Kirlilik Birikmesi

Kolondaki kirlilik, pik şekillerini bozar. Bu durumda, lütfen önce kolon yıkamayı deneyin. Örneğin, ters fazlı kolonlar için sağdaki akış şemasını takip edin. Metanol ve asetonitril genellikle yıkama işleminde kullanılan çözücülerdir, ancak kirlilik bu çözücülerle yıkanamıyorsa 2-propanol veya asit içeren organik çözücüler onu çıkarabilir. Kirlilik birikmesi sıklıkla meydana geliyorsa, bir guard kolonunun kullanılması tavsiye edilir. Bazen, katı faz ekstraksiyonu gibi ön işlemlerle numune matrisini elimine etmek etkilidir. Yetersiz end-capped kolonların daha kolay kirlilik biriktirme eğiliminde olduğunu unutmayın.

Column lifetime depends on the analytical conditions and the storage method. Here we introduce the causes of column damage and how to deal with them.

1. Dirt Accumulation in the Column

Dirt in the column distorts peak shapes. In this case, please try column wash first. For example for reversed-phase columns, follow the flowchart on the right. Methanol and acetonitrile are generally used solvents in the washing process, but if the dirt cannot be washed out, 2-propanol or acid-containing organic solvents may remove it. If dirt accumulation often happens, the use of a guard column is recommended. It is sometimes effective to remove sample matrix by pre-treatment such as solid phase extraction. Note that insufficiently end-capped columns tend to accumulate dirt more easily.



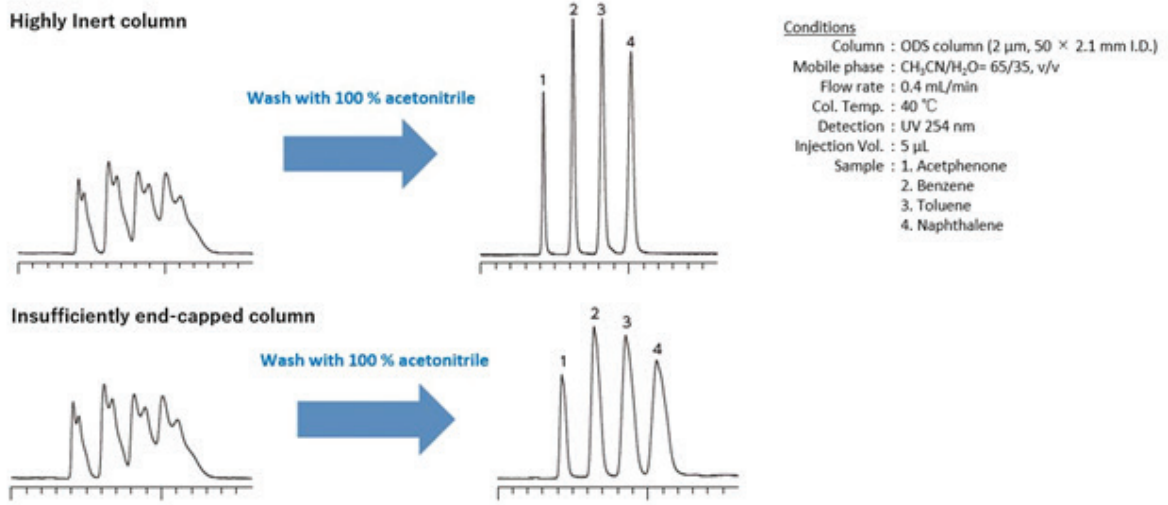


Figure 1. Effect of column inertness on the column wash.

2. Kolon Filtrelerinin Tıkanması

Kolonun her iki ucunda dolgu maddesinin dışarı sızmasını önlemek için filtreler bulunmaktadır. Numune-deki veya hareketli fazdaki çözünmeyen bileşikler bu filtreleri tıkayabilir. Bu durumda, kolon basıncı kademeli olarak artar ve sonunda kolon basıncı hareketli fazı iletmek için çok yüksek hale gelir. Bu olay görüldüğünde, analizden önce numuneyi veya hareketli fazı filtreleyin. Analitik kolon, önüne bir guard kolon takılarak da korunabilir. Genel olarak, silika parçacıkları ne kadar büyükse, filtre ağı da o kadar büyük olur. Bu, çözünmeyen bileşiklerin filtrelerden geçmesini kolaylaştırır. Bu nedenle, filtre tıkanmasını önlemek için büyük partiküllerle dolu bir kolon seçmek bir seçenektir.

3. Fonksiyonel Grupların Ayrışması

Yüksek konsantrasyonlu asitler veya bazlar bazen alıkonma zamanlarını kısaltır. Bu muhtemelen, fonksiyonel grupların dolgu maddesinin yüzeyinden ayrılmasından kaynaklanmaktadır. Kopan fonksiyonel grupların tekrar bağlanması mümkün olmadığı için pH ve sıcaklığı önerilen değerler içinde tutulur. Uzun süreli saklama için kolondaki solventin asit veya baz içermeyen organik bir solvent ile değiştirilmesi ve kolon uçlarının kapatılması önerilmektedir.

4. Dolgu Maddesinin Bozulması

Bazı çözücüler dolgu maddesini bozar. Örneğin, bazik çözeltiler hidroliz yoluyla silikayı kademeli olarak çözer. Malzeme ve çözücünün kombinasyonuna bağlı olarak polimerler şişebilir. Genel olarak, dolgu maddesinin bozulması kolon basıncını artırır ve plaka sayısını düşürür. Bu nedenle, bozulmuş dolgu maddeleri düzeltilemeyeceğinden kolonunuza zarar vermemek için

2. Clogging of the Column Filters

There are filters at either end of the column to prevent the packing material from leaking out. Insoluble compounds in the sample or the mobile phase can clog these filters. In this case, the column pressure gradually increases, and eventually the column pressure becomes too high to deliver the mobile phase. Once a sign of this phenomenon is observed, filter the sample or the mobile phase before analysis. The analytical column can also be protected by attaching a guard column before it. In general, the larger the silica particles are, the larger the filter mesh becomes. This makes it easier for insoluble compounds to pass through the filters. Therefore, it is an option to choose a column packed with large particles to avoid filter clogging.

3. Dissociation of the Functional Groups

Highly concentrated acids or bases sometimes shorten retention times. This is probably due to dissociation of the functional groups from the surface of the packing material. Since re-functionalization is impossible, keep the pH and temperature within the recommended values. For long-term storage, it is recommended to replace the solvent in the column with an organic solvent without acids or bases and plug the column ends.

4. Degradation of the Packing Material

Some solvents degrade the packing materials. For example, basic solutions gradually dissolve silica by hydrolysis. Polymers can be swollen, depending on the combination of the material and the solvent. In general, degradation of the packing material increases the column pressure and lowers the plate number. Therefore, please keep the operating conditions shown in

lutfen pH aralığı gibi talimatlarda gösterilen çalışma koşullarını koruyun. Yüksek hidrofobikliğe sahip dolgu maddesi genellikle silikanın hidrolizini önler. Temel koşullar altında ODS kolonları bu anlamda C8 kolonlarından üstündür ve ODS kolonları arasında karbon yükü ne kadar yükse kolon ömrü de o kadar uzun olacaktır.

5. Dolgu Durumunda Değişiklik

Kolon basıncı maksimum çalışma basıncını aştığında veya aniden dalgalandığında kolondaki partiküllerin dolgu durumunu değiştirebilir. Dolgu durumundaki kusurlar, mobil fazın akışını düzensiz hale getirir, bu da bozuk piklere veya daha düşük plaka sayılarına neden olur. Dolgu durumundaki değişikliği önlemek için alınacak önlemlerden biri, kolon basıncını maksimum çalışma basıncının çok altında tutmaktır. Örneğin, aynı kolon boyutlarına (yani, I.D. ve kolon uzunluğu) ve partikül boyutuna sahip ODS kolonları arasında bile kolon basıncı, dolgu malzemesine bağlıdır. Mümkün olduğu kadar düşük basınc üreten bir kolonun seçilmesi, kazayla maksimum çalışma basıncını aşarak kolona zarar verme risklerini en aza indirebilir.

the instructions, such as pH range, in order not to damage your column because degraded packing materials cannot be recovered. Higher hydrophobicity of the packing material generally prevents hydrolysis of silica. Under basic conditions, ODS columns are superior to C8 columns in this sense, and among ODS columns, the higher the carbon load is, the longer the column lifetime will be.

5. Change in the Packing State

The packing state of the particles in the column can be changed when the column pressure exceeds the maximum operating pressure or fluctuates suddenly. Defects in the packing state makes the flow of the mobile phase irregular, which results in distorted peaks or lower plate numbers. One of the measures to prevent the change in the packing state is to keep the column pressure far below the maximum operating pressure. For example, even among ODS columns having the same column dimensions (i.e., I.D. and column length) and particle size, the column pressure depends on the packing material. Choosing a column which generates as low pressure as possible can minimize the risks to damage the column by exceeding the maximum operating pressure by accident.

Maximum Operating Pressures of the Analytical Columns

Analytical Columns	Particle Size	Maximum Operating Pressure (MPa)
InertSustain Series InertSustainSwift Series Inertsil Series	1.9 m, 2 m	80
InertSustain Series InertSustainSwift Series Inertsil Series	3 m HP	50
InertSustain Series InertSustainSwift Series Inertsil Series Titansphere	3 - 10 m	20
InertSphere Sugar-1	5 m	15
Capillary EX Column	3 m, 5 m	20
Capillary EX-Nano Column	3 m, 5 m	15

Maximum Operating Pressures of the Guard Columns

Guard Column	Maximum Operating Pressure (MPa)
Guard Column for UHPLC	80
Cartridge Guard Column E Cartridge Guard Column E1 GL Cart, Pre-clean ORG PREP Guard Cartridge	20
Packed Guard Column Packed Mini Guard Column Capillary Micro Guard Column Preparative Guard Column	20

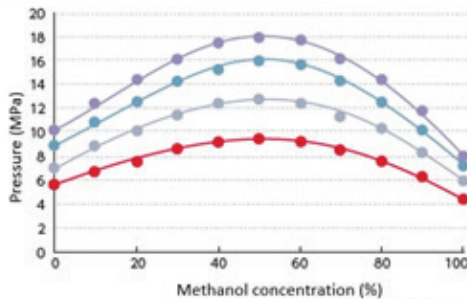


Figure 2. Comparison of column pressures.

Conditions

Column : ODS column (5 m, 250  4.6 mm I.D.)
Mobile phase : CH₃OH and H₂O
Flow rate : 1.0 mL/min
Col. Temp. : 40 C

● ODS column A
● ODS column B
● ODS column C
● InertSustain C18

Referans /Reference

https://www.glsiences.com/technique/technique_data/lc/usage_of_hplc_1/column6.html