

ELSICO • SINCE '87



2014



www.chromforum.ru
www.shop.hplc.ru

Брэнд NanoSpher®

NanoSpher® – это торговая марка хроматографической компании ЭЛСИКО, объединяющая целую группу товаров и услуг в области ВЭЖХ.

Изначально отдельный брэнд был необходим для защиты от копирования оригинальных аналитических методик и авторских вариантов хроматографических разделений, включая специально отобранные для них хроматографические колонки.

На следующем этапе была создана система контроля качества колонок для ВЭЖХ, благодаря которой у компании появилась возможность отбирать из коммерчески доступных неподвижных фаз мировых производителей наилучших представителей в своих классах. OEM партнерство с подобными производителями позволяет реализовывать наиболее качественные ВЭЖХ колонки в России под торговой маркой **NanoSpher**.

Закономерным развитием данной идеи стала разработка специализированных комплексов ВЭЖХ оборудования для решения как типовых, так и эксклюзивных аналитических задач наших заказчиков. В качестве поставщиков оборудования были выбраны американские компании **Agilent** и **Gilson** как производители оборудования в высоком и среднем ценовом секторах соответственно. Многолетний опыт технической поддержки и обслуживания ВЭЖХ оборудования позволяет поддерживать сервис поставляемых систем на неизменно высоком уровне.

Продолжительный опыт компании в проведении курсов по теории и практике ВЭЖХ сыграл весомую роль при отладке системы методической поддержки наших клиентов. В результате, на текущий момент ЭЛСИКО является единственной в России компанией, предлагающей при поставке жидкостных хроматографов проведение курсов дополнительного обучения работе по любым ВЭЖХ методикам.

Ключевое преимущество нашей компании – индивидуальный подход к нашим заказчикам. Надеемся, что Вы позитивно оцените сотрудничество с нами!

Руководитель отдела R&D

к.х.н., автор книг "Практическое руководство по ВЭЖХ",
"Подготовка пробы в газовой и жидкостной хроматографии",
"Практический курс ВЭЖХ"

Константин С. Сычев

Технический директор

Иван Е. Стыскин

www.chromforum.ru
www.shop.hplc.ru

Оглавление

Классификация ВЭЖХ колонок NanoSpher	03
Какие колонки считают колонками премиум-класса. Тестирование НФ	04
Характеристики ВЭЖХ колонок NanoSpher	09
Специальные колонки NanoSpher	12
Специализированное ВЭЖХ оборудование	15

Классификация ВЭЖХ колонок NanoSpher

ВЭЖХ колонки **NanoSpher** подразделяются на специальные и колонки премиум-класса. Специальные колонки предназначены для выполнения конкретных разделений, и поставляются с тестом по соответствующим целевым соединениям. Например, колонка **NanoSpher C18-PAH-1R** поставляется с тестом по пентациклическим ПАУ, в том числе бенз(а)пирену. Специальную колонку также можно разработать эксклюзивно для выполнения Вашего разделения, под заказ.

ВЭЖХ колонки премиум-класса - колонки универсальные, они поставляются с типовыми тестами в том режиме разделения, для которого предназначены. Их уникальность заключается в том, что их высокое качество подтверждается результатами ряда специальных процедур тестирования, проведенных специалистами компании ЭЛСИКО. Ниже приведена классификация колонок премиум-класса.

Хроматографический режим	Аббре-виатура	Физико-химическое свойство	Название неподвижной фазы	Типоразмеры
Адсорбционные режимы				
Обращенно-фазовый, ОФ	RP	гидрофобность	NanoSpher C18-10SP NanoSpher C18-10S --" --" NanoSpher C18-10P NanoSpher C18-Gradient-1 --"	500x4.6 5um 250x4.6 5um 250x4.6 3um 150x4.6 3um 250x4.6 5um 100x4.6 2.6 um 100x2.1 2.6 um
Нормально-фазовый, НФ (ПФ на основе гексана)	NP	дипольный момент	NanoSpher Si-10 NanoSpher Amino-10	250x4.6 3um 150x2.1 2um
Нормально-фазовый, НФ (ПФ на основе ацетонитрила)	HILIC	общее кол-во заряженных групп	NanoSpher HILIC-10R NanoSpher HILIC-20R	250x4 3um 250x4 3um
Ионный, ИХ	IC (IEC)	*	NanoSpher SCX-10 --"	250x4 5um 500x4 5um
С переносом заряда, ПЗ	CT	**	-	-
Лигандообменный, ЛО	LEX	***	-	-
Эксклюзионные режимы				
Эксклюзионный по размеру, ГПХ	SEC	размер молекулы	NanoSpher SEC-10 NanoSpher SEC-20	250x10 5um 250x10 5um
Ион-эксклюзионный, ИЭ	IEX	****	NanoSpher IEX-10R --"	250x8 9um 500x8 9um
Смешанные режимы				
ОФ + НФ	RP/NP	-	NanoSpher C16-20R	250x4.6 3um
ОФ + ПЗ	RP/CT	-	NanoSpher RPCT-10R	250x4.6 5um

* поверхностная плотность суммарного заряда, разноименная с зарядом адсорбента;

** ненасыщенные фрагменты: кратные связи (C=C, C=O), сопряженные ароматические системы;

***несвязывающие орбитали (неподеленные электронные пары) азота, кислорода;

****поверхностная плотность суммарного заряда, одноименная с зарядом адсорбента.

Какие колонки считают колонками премиум-класса. Тестирование качества НФ

Отнесение ВЭЖХ колонки к премиум-сегменту подразумевает ее высокое качество. Но что подразумевают под качеством, когда говорят о неподвижных фазах для ВЭЖХ?

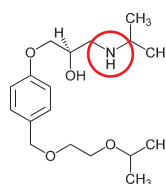
НФ премиум-класса на силикагельной основе, прежде всего, должны обладать высокой химической инертностью. Химически инертные неподвижные фазы можно распознать по симметричным пикам правильной формы - то есть формы гауссовой кривой - соединений, которые склонны к хелатированию металлов. К подобным соединениям относятся практически все органические основания, то есть большинство фармацевтических субстанций. На неинертных фазах такие соединения элюируются в виде сильно асимметричных пиков с низкой эффективностью N и высоким коэффициентом асимметрии Kas .

Обращенные и ионные неподвижные фазы должны быть эндкепированы. Обращенные фазы не должны быть подвержены деветтингу - потере смачиваемости на подвижных фазах с низкой долей органического растворителя. Наконец, средний диаметр частиц фазы, декларируемый производителем, должен быть близок к его реальному значению.

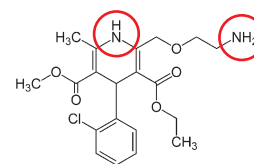
Хроматографические свойства каждой НФ должны быть хорошо воспроизводимы от партии к партии. Особенно важным это свойство является для фаз, работающих в смешанных режимах, например C16-Амидной фазы (смешанный ОФ/НФ режим).

Для демонстрации высокой химической инертности обращенных фаз **NanoSpher** приведем три примера разделений веществ различных химических классов, имеющих одну общую черту: склонность к хелатному взаимодействию с примесями металлов. На рисунке 1 сравниваются результаты разделения органических оснований: бисопролола и амлодипина - на НФ трех видов:

премиум-класса (на колонке **NanoSpher C18-10S**), бюджетного класса (рис. 1б) и на НФ устаревшего типа (рис. 1в). Пики на разделении, полученном при помощи колонки премиум-класса, выделяются высокой симметричностью и эффективностью.



Бисопролол (1)



Амлодипин (3)

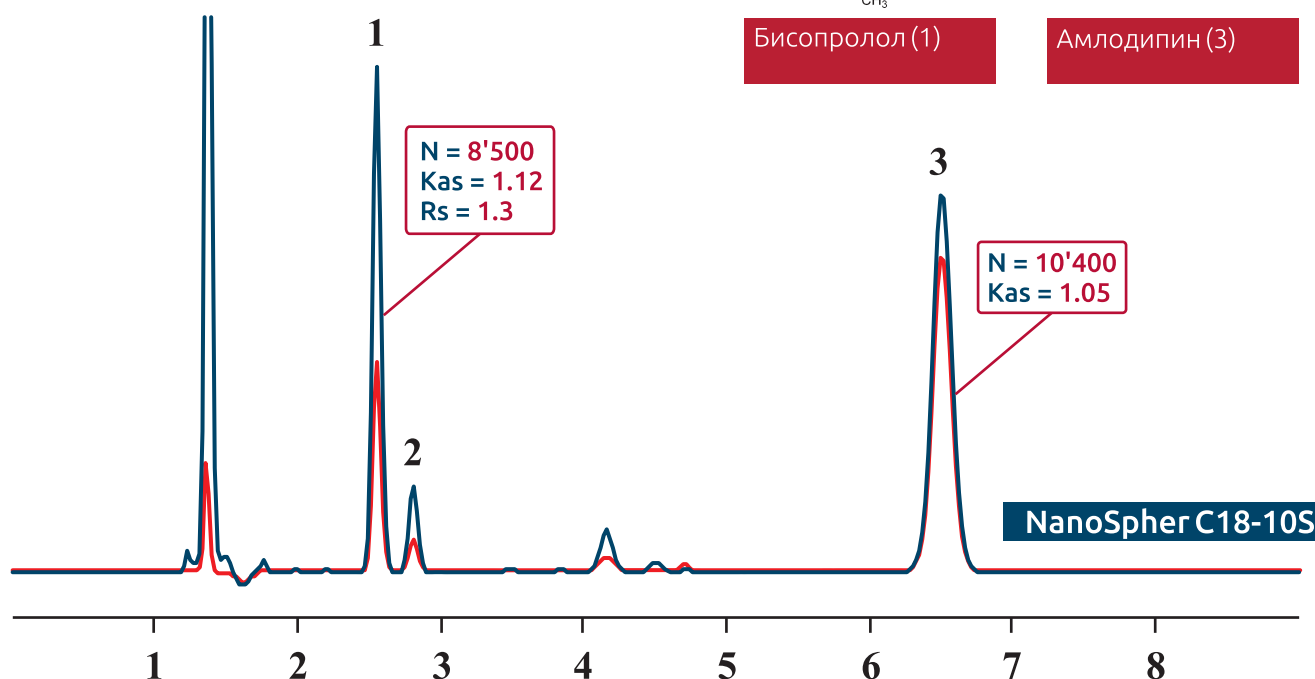


Рисунок 1а. "Бисопролол-Амлодипиновый" тест химической инертности обращенной неподвижной фазы.
НФ: NanoSpher C18-10S, 250x4.6. Скорость потока: 2 мл/мин.

Какие колонки считают колонками премиум-класса. Тестирование качества НФ

На колонке бюджетного класса результаты хуже (рис. 1б), и совершенно неприемлемы - на колонке с неподвижной фазой устаревшего типа (рис. 1в).

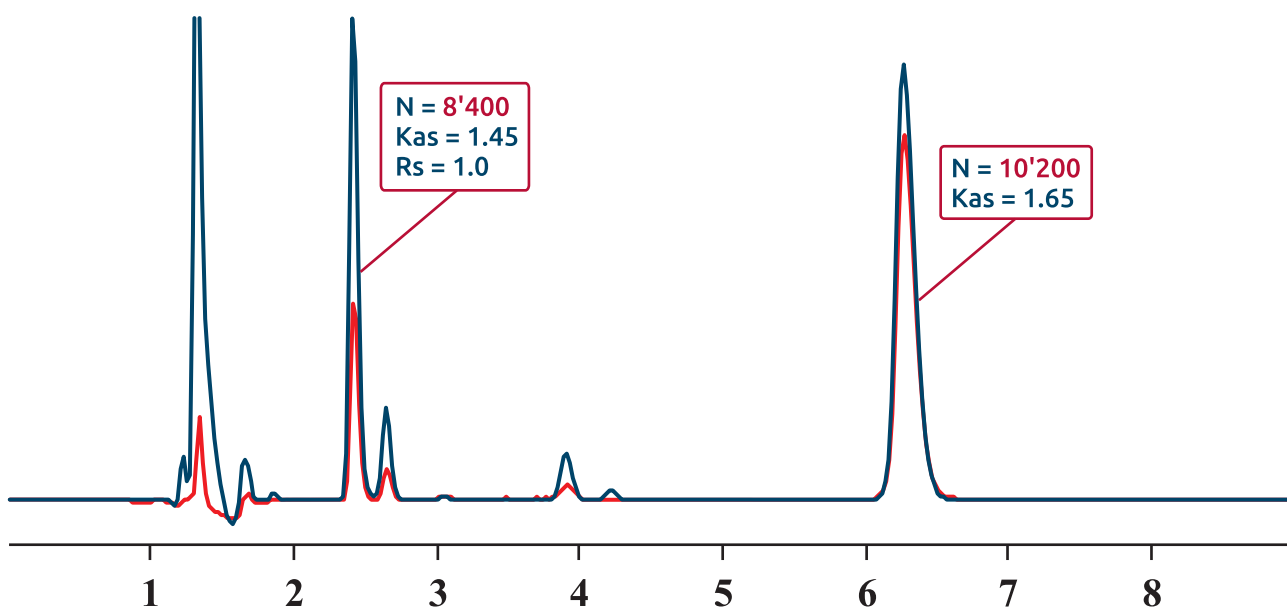


Рисунок 1б. "Бисопролол-Амлодипиновый" тест химической инертности обращенной неподвижной фазы. НФ: бюджетного класса, 250x4.6. Скорость потока: 2 мл/мин.

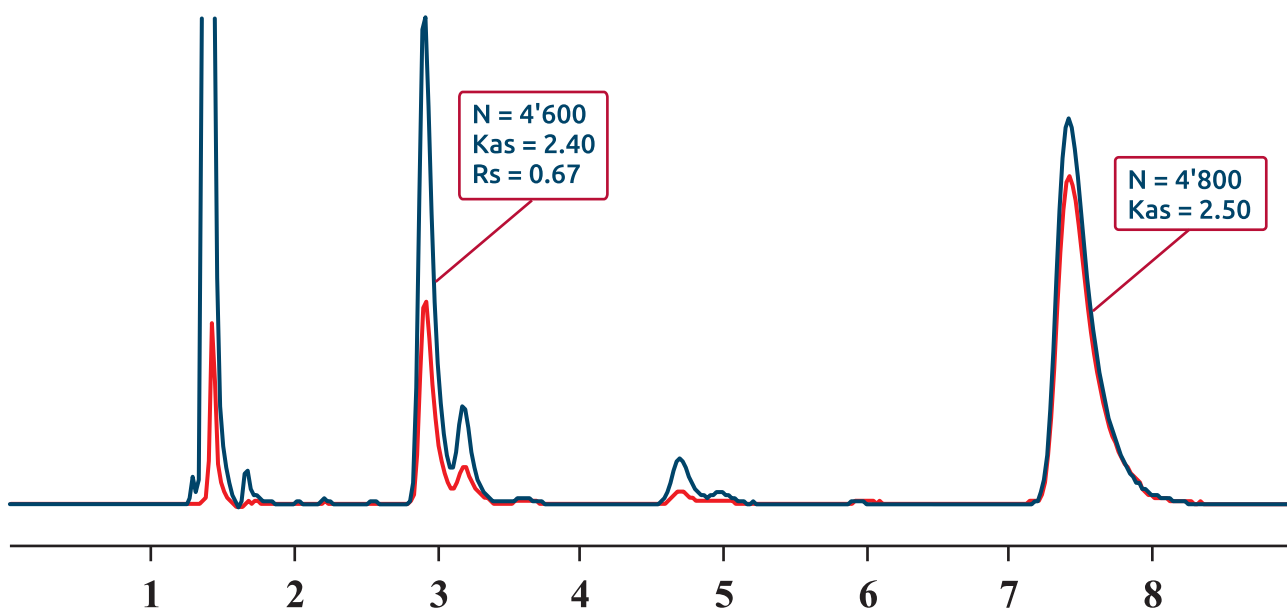


Рисунок 1в. "Бисопролол-Амлодипиновый" тест химической инертности обращенной неподвижной фазы. НФ: устаревшего типа, 250x4.6. Скорость потока: 2 мл/мин.

Какие колонки считают колонками премиум-класса. Тестирование качества НФ

В данном примере (см. рис. 2) наглядно демонстрируются преимущества инертной неподвижной фазы для анализа соединений с фосфатными группами. Присадка Irganox 1425 элюируется симметричным узким пиком на колонке NanoSpher C18-10S, и широким несимметричным пиком - на колонке бюджетного класса.

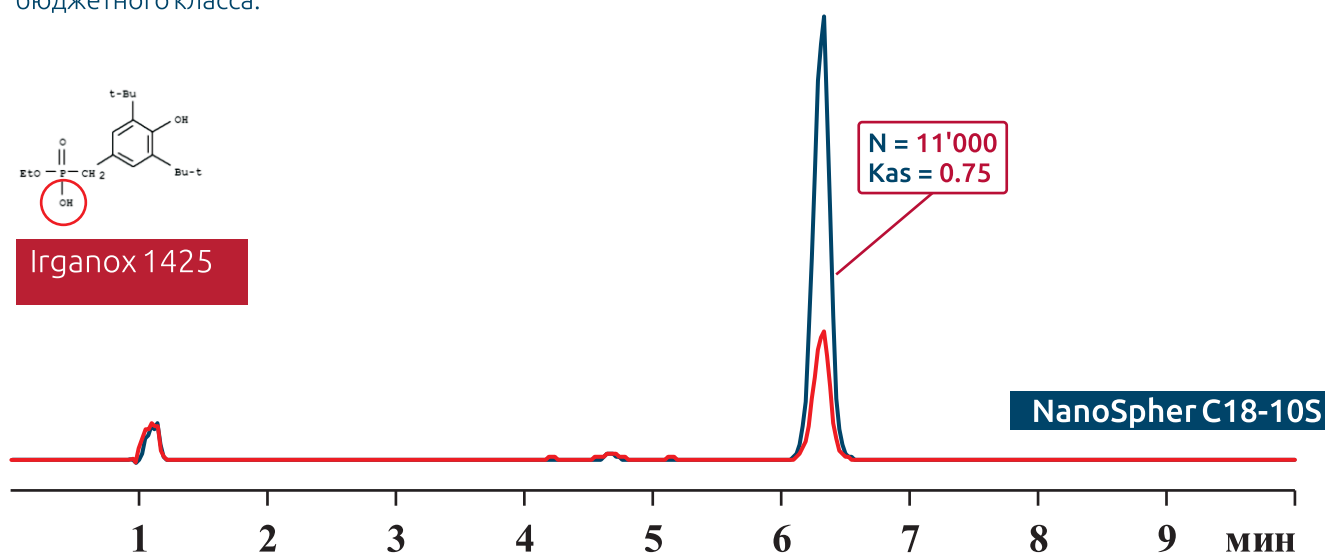


Рисунок 2а. Хроматограмма присадки Irganox 1425.
НФ: NanoSpher C18-10S, 250x4.6. Скорость потока: 2 мл/мин.

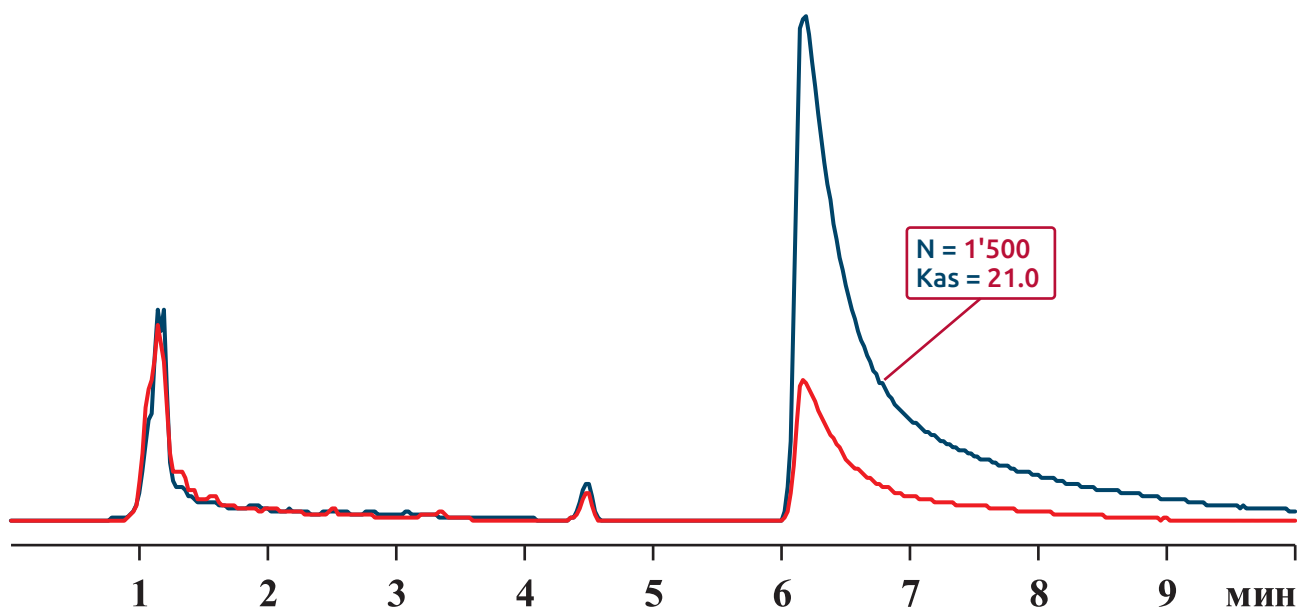


Рисунок 2б. Хроматограмма присадки Irganox 1425.
НФ: бюджетного класса, 250x4.6. Скорость потока: 2 мл/мин.

Какие колонки считают колонками премиум-класса. Тестирование качества НФ

Третий пример показывает преимущество инертных неподвижных фаз для анализа природных полифенольных соединений, в данном случае - пятнадцати соединений-маркеров, содержащихся в коньяках. На колонке бюджетного класса гидроксибензойные и гидроксикоричные кислоты элюируются в виде размытых несимметричных пиков (рис. 3в), в то время как на колонках NanoSpher - в виде узких и симметричных (рис. 3а и 3б).

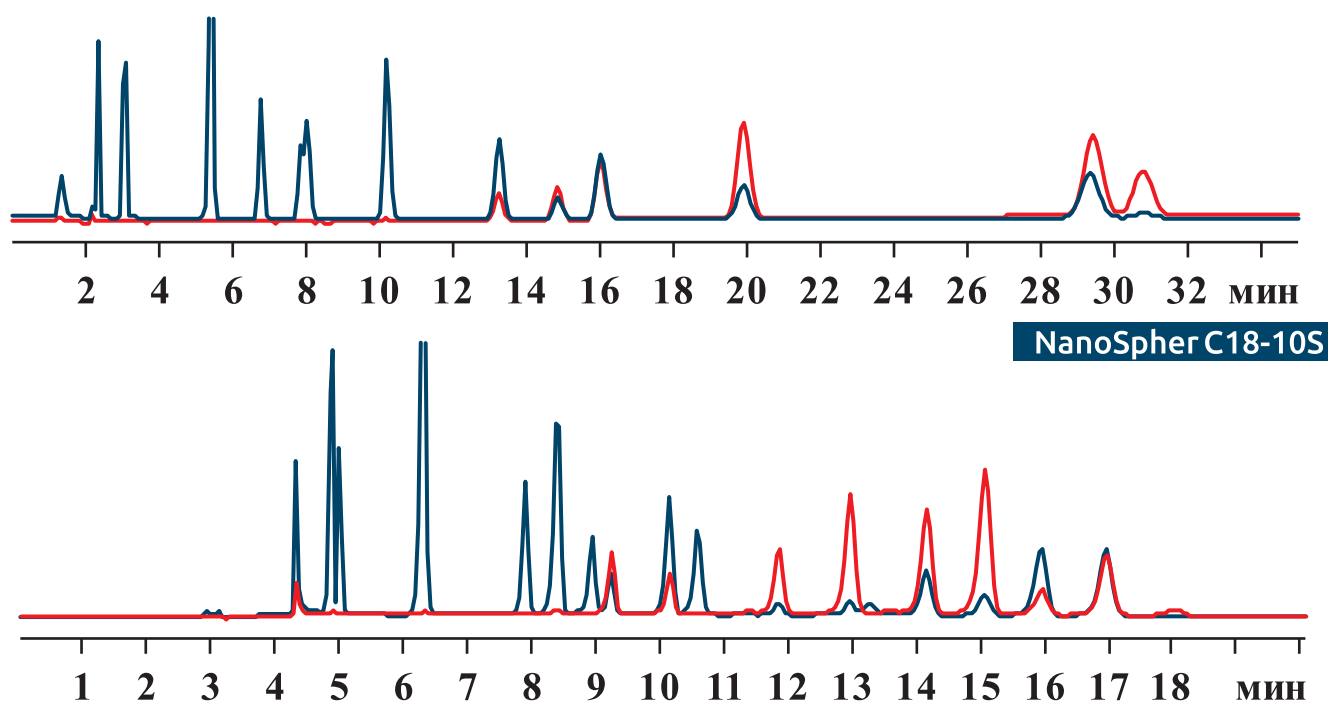


Рисунок 3. Разделение пятнадцати соединений-маркеров, содержащихся в коньяках.
а. (вверху) НФ: NanoSpher C18-10S. б. (внизу) НФ: NanoSpher C18-Flavonoids-1.

NanoSpher C18-Flavonoids-1

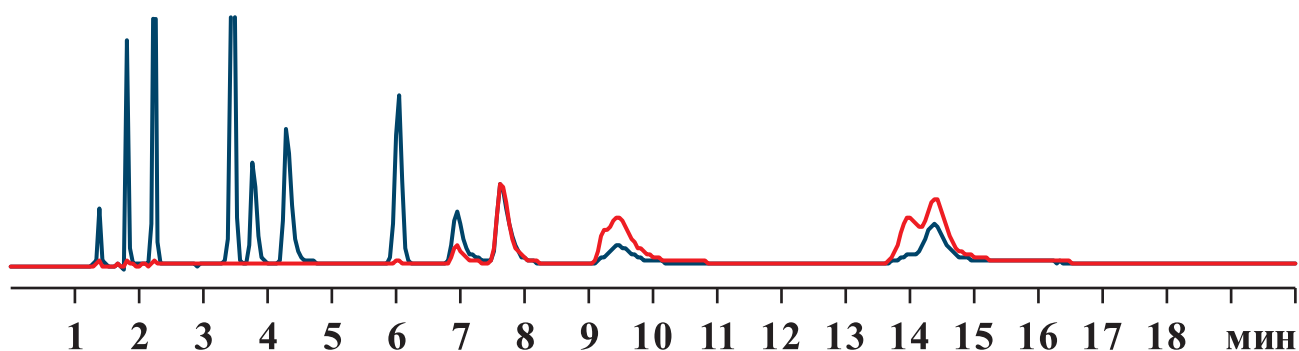


Рисунок 3в. Разделение пятнадцати соединений-маркеров, содержащихся в коньяках.
НФ: бюджетного класса.

Какие колонки считают колонками премиум-класса. Тестирование качества НФ

Ниже приведен полный перечень специальных тестов, применяемых специалистами ЭЛСИКО для отбора из неподвижных фаз различных OEM поставщиков НФ премиум-класса. В таблицах приведены результаты таких тестов.

Тест №1 на химическую инертность обращенной фазы.

ПФ: AcN-(60мм фосф.буфер)-H₃PO₄ 40:60:0.1
Скорость потока: 2 мл/мин для ID 4.6
Образец: Bisoprolol+Amlodipine
Детектирование: UV 220 нм, 235 нм
Измеряемые параметры: N (Amlodipine), Kas. (Bisoprolol), Kas. (Amlodipine)

НФ	N1(codeine) Kas. (cod.)	N2(phen.) Kas. (ph.)	N2/N1, % Kas. (cod.)	Оценка
250 *** 3um	20'100 1.20	27'300 0.85	74% 1.20	Хор.
NanoSpher 250 *** 5um	14'500 1.05	19'000 0.95	76% 1.05	Отл.
NanoSpher 250 *** 5um	14'400 1.04	19'900 0.92	72% 1.04	Отл.
NanoSpher 250 *** 5um	15'000 1.17	21'300 1.03	70% 1.17	Отл.
250 *** 5um	12'100 1.82	20'300 1.10	60% 1.82	Уд.
250 *** 5um	4'700 2.17	21'600 0.98	22% 2.17	Неуд.
100 *** 3um	6'900 1.17	10'700 0.90	64% 1.17	Хор.
250 *** 5um	2'300 3.0	21'000 1.10	11% 3.0	Неуд.
250 *** 5um	6'000 1.31	16'900 1.07	38% 1.31	Уд.
250 *** 3um	13'000 1.32	25'000 0.80	52% 1.17	Хор.
250 *** 5um	2'200 3.5	19'800 0.85	11% 3.5	Неуд.

НФ	P, psi	dp, декл.	dp, реальный	Оценка
NanoSpher *** C18	2845	5 um	5.0 um	Отл.
*** C16Amide	2965	5 um	4.9 um	Отл.
NanoSpher *** C16Amide	6200	3 um	3.4 um	Хор.
*** C18	4570	5 um	4.0 um	Уд.
*** C18	5000	5 um	3.8 um	Неуд.
*** PFP	3840	5 um	4.3 um	Хор.
*** C18	8450	3 um	2.9 um	Отл.
*** C18	4120	5 um	4.2 um	Уд.
*** PVE	2945	5 um	4.9 um	Отл.
*** C18	9750	3 um	2.7 um	Уд.

Тест №2 для измерения химической инертности обращенной неподвижной фазы

ПФ: AcN-(60мм фосф.буфер pH 6.4) 18:82
Скорость потока: 1 мл/мин для ID 4.6
Образец: Codeine+Phenobarbital
Детектирование: UV 210 нм, 280 нм
Измеряемые параметры: N (Codeine), N (Phenobarbital), Kas. (Codeine), Kas. (Phenobarbital)

Тест №3 для измерения
1. гидрофобности обращенной фазы,
2. доли полярных фрагментов на пов. адсорбента.

ПФ: AcN-вода-H₃PO₄ 12:88:0.5
Скорость потока: 1 мл/мин для ID 4.6
Образец: водный экстракт кофе
Детектирование: UV 270 нм, 330 нм
Измеряемые параметры: 1. k' (Caffeine), 2. $\alpha = k' \text{ (Chlorogenic acid isomer 1)} + k' \text{ (Chlorogenic acid isomer 2)} + k' \text{ (Chlorogenic acid isomer 3)} / (k' \text{ (Caffeine)} * 3)$

Тест №4 для измерения диаметра частиц

ПФ: AcN-вода 10:90
Скорость потока: 2 мл/мин для ID 4.6
Измеряемые параметры: ΔP

Тест №5 для измерения эффективности упаковки обращенной фазы

ПФ: AcN-вода 80:20 (для НФ с долей углерода 20-25%)
Скорость потока: 1 мл/мин для ID 4.6
Образец: 2,7-dihydroxynaphth., toluene, pyrene
Детектирование: UV 210 нм, 254 нм
Измеряемые параметры: N (pyrene), Kas. (toluene)

Характеристики ВЭЖХ колонок NanoSpher

На рисунках 4а и 4б приведены тестовые хроматограммы для обращенно-фазовых колонок премиум-класса длиной 250 мм с 3 мкм частицами и длиной 500 мм с 5 мкм частицами. В данном случае тестируется исключительно качество упаковки фазы, а не ее физико-химические свойства. Колонка типоразмера 500х4.6 с 5 мкм частицами разработана специально для работы в режиме перегрузки колонки основными компонентами. Типичной задачей является определение примесей в фармацевтических субстанциях (см. рис. 5).

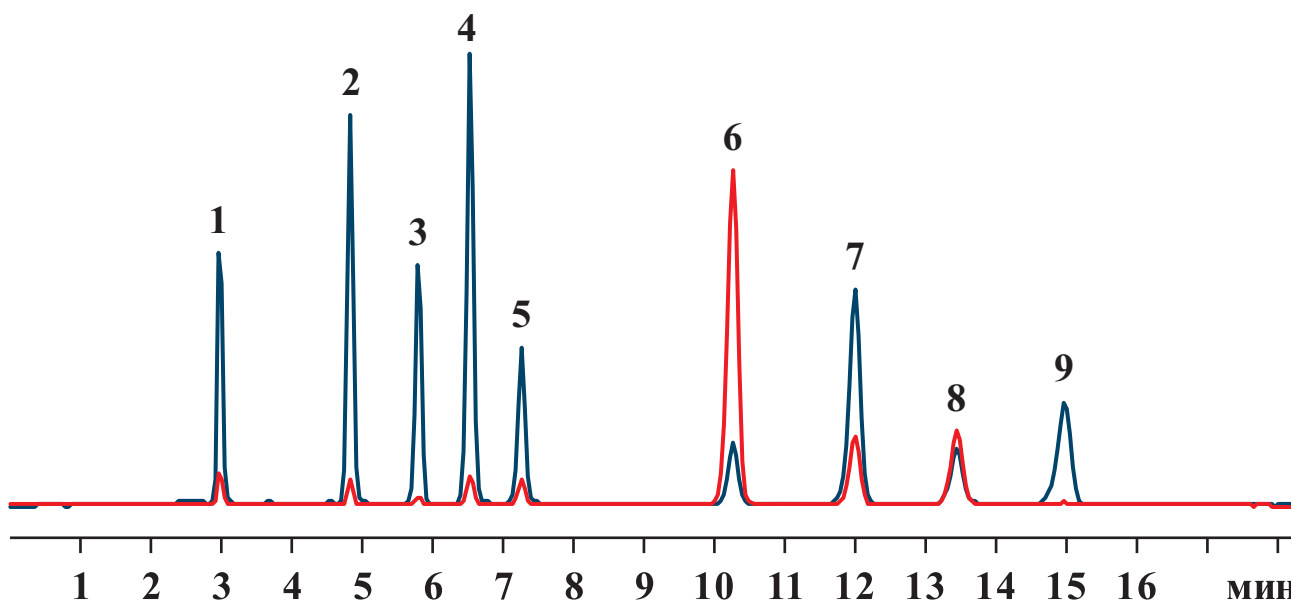


Рисунок 4а. Тест на качество упаковки обращенной фазы.
НФ: NanoSpher C18-10S, 250х4.6, 3 мкм.

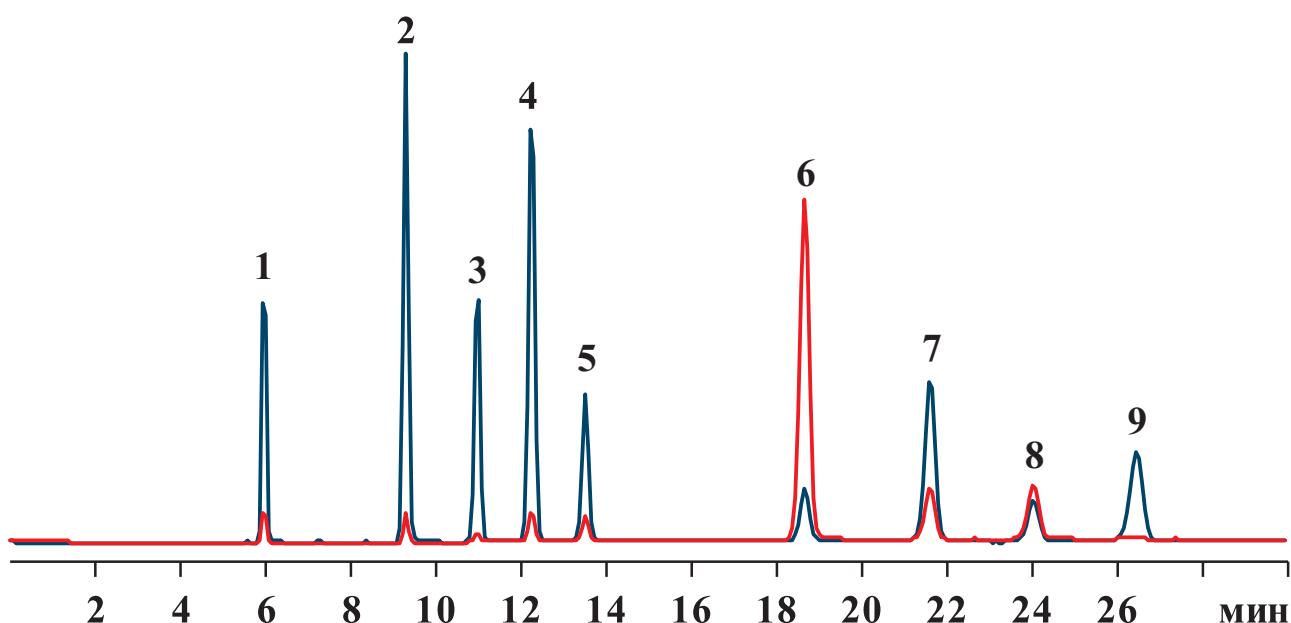


Рисунок 4б. Тест на качество упаковки обращенной фазы.
НФ: NanoSpher C18-10SP, 500х4.6, 5 мкм.

Характеристики ВЭЖХ колонок NanoSpher

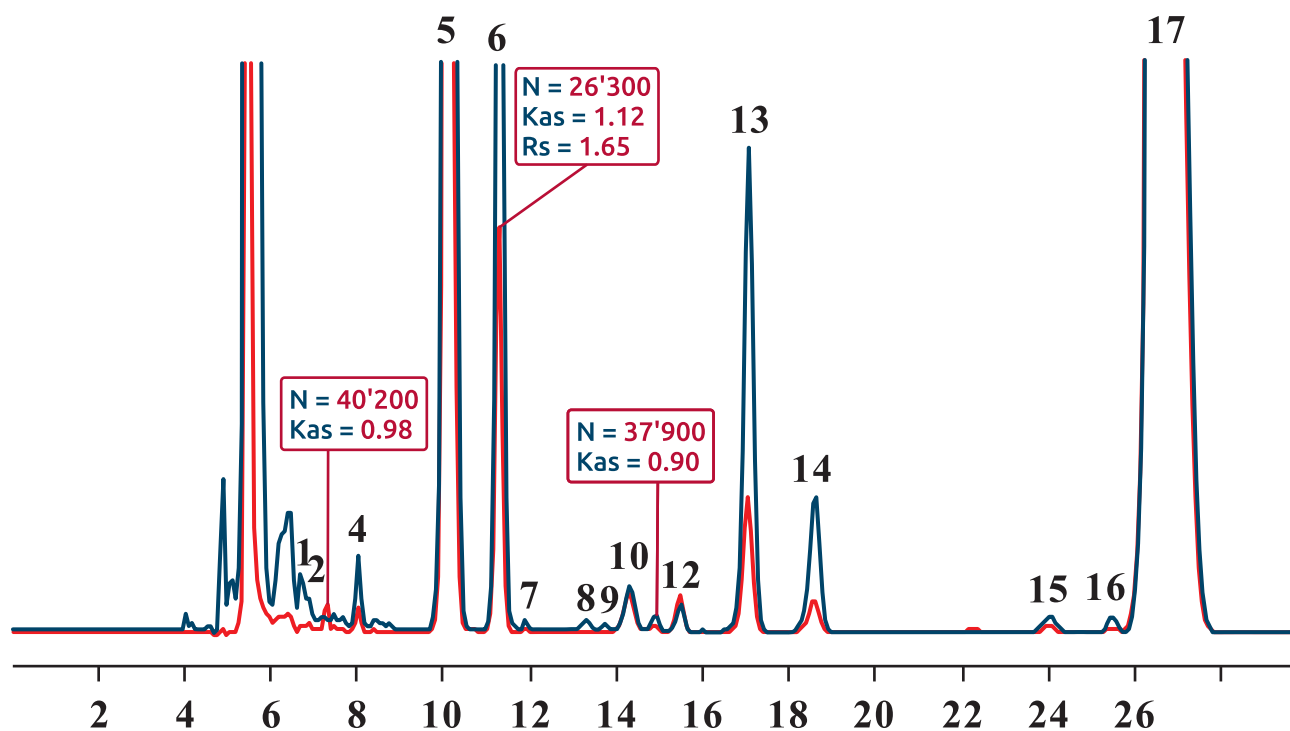
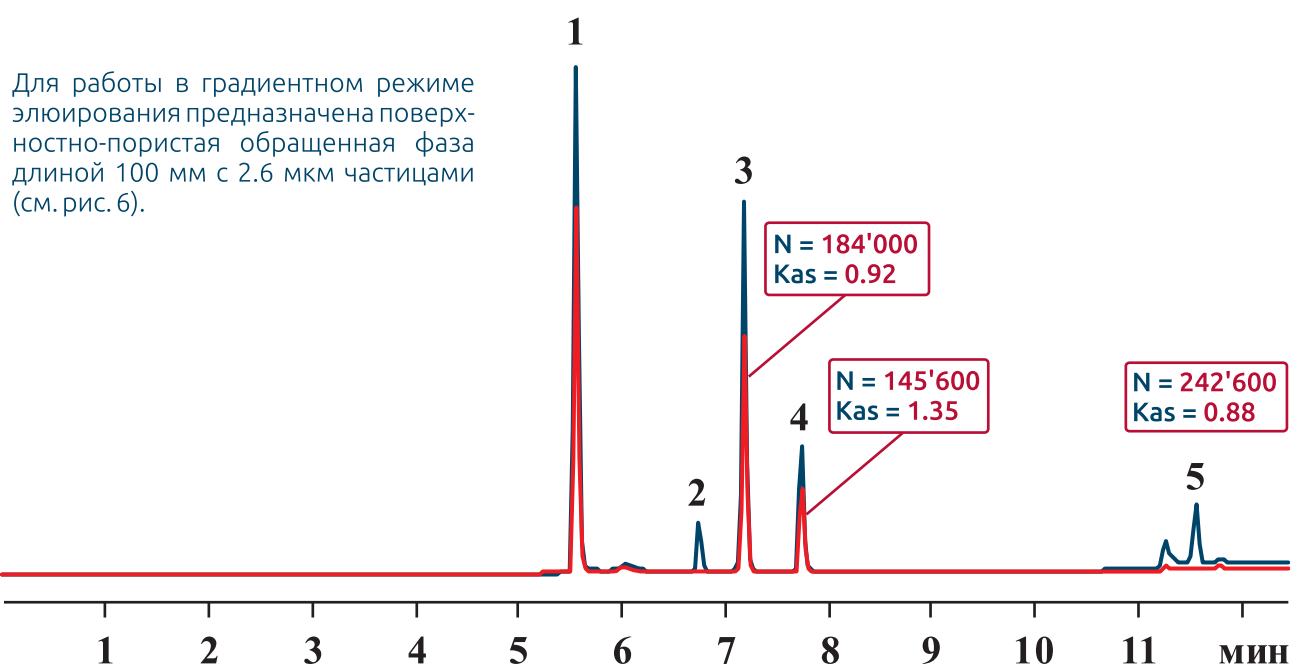


Рисунок 5. Определение примесей в двухкомпонентном дженерике.
НФ: NanoSpher C18-10SP, 500x4.6, 5 мкм.



Для работы в градиентном режиме элюирования предназначена поверхностно-пористая обращенная фаза длиной 100 мм с 2.6 мкм частицами (см. рис. 6).

Рисунок 6. Разделение компонентов дженерика в режиме градиентного элюирования.
НФ: NanoSpher C18 Gradient-1, 100x4.6, 2.6 мкм. Скорость потока: 2 мл/мин.

Характеристики ВЭЖХ колонок NanoSpher

Ниже приведены тестовые хроматограммы для катионообменной колонки (рис. 7), а также аминокислотной колонки для разделений в режиме гидрофильной (HILIC) хроматографии (рис. 8).

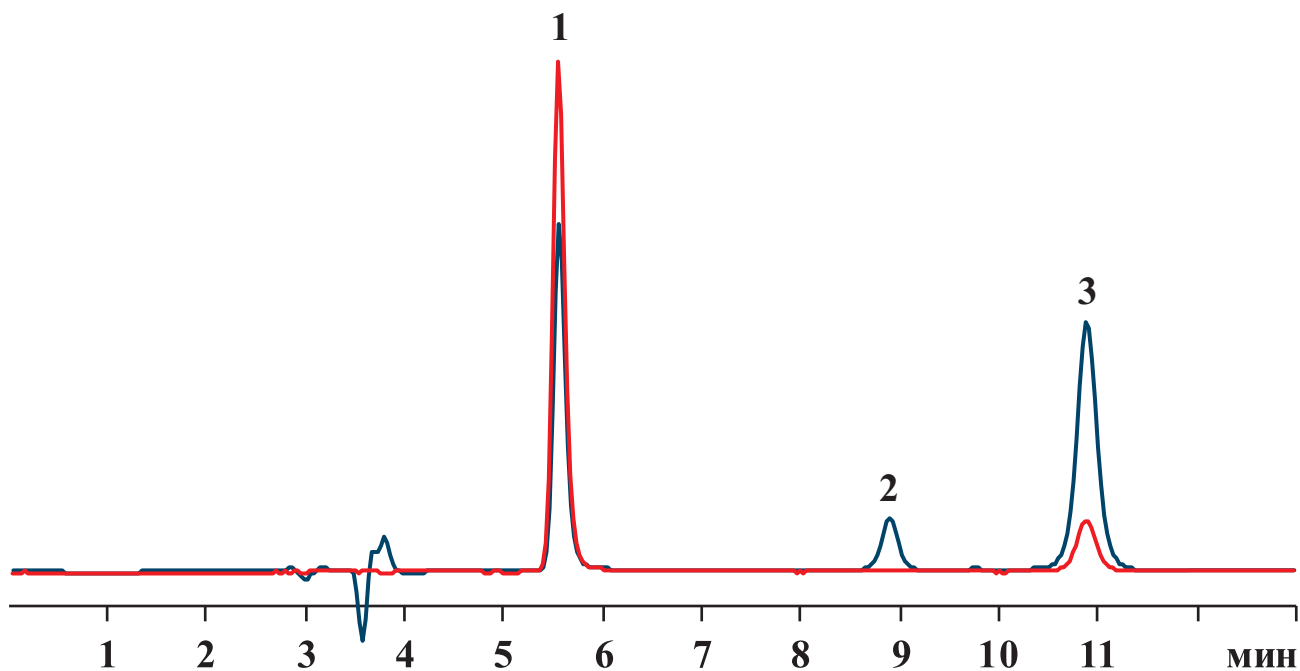


Рисунок 7. Тест на качество упаковки катионообменной фазы.
НФ: NanoSpher SCX-10, 250x4, 5 мкм.

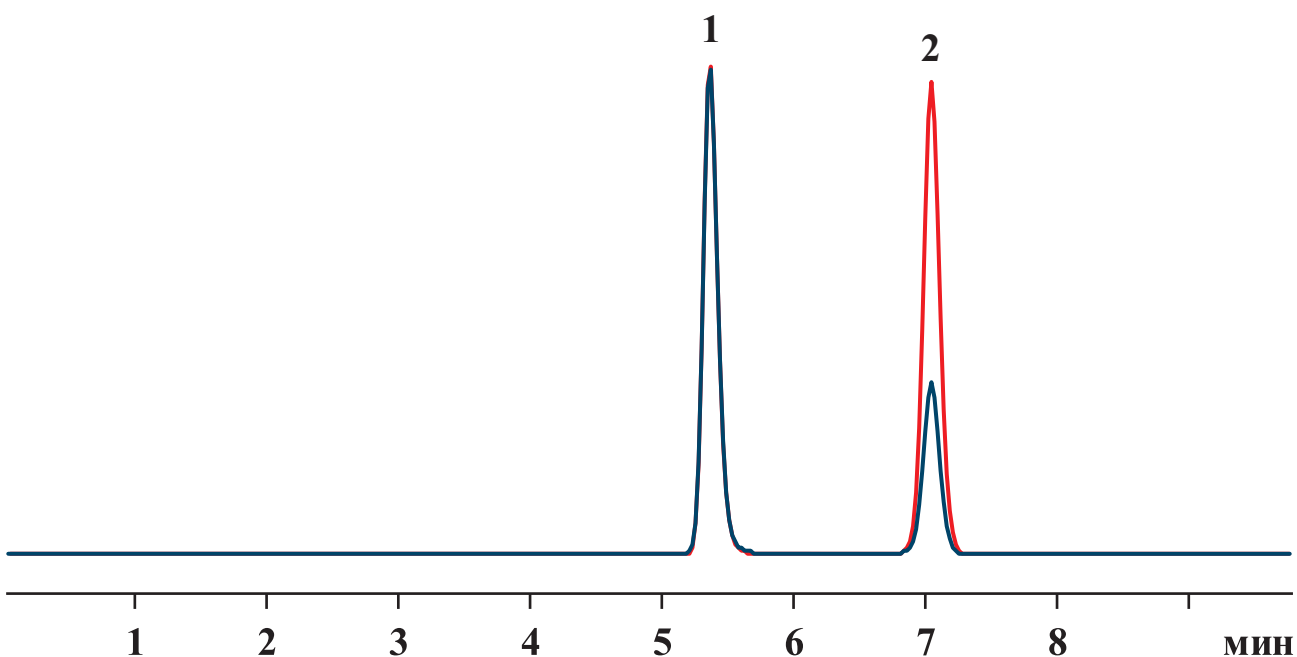


Рисунок 8. Тест на качество упаковки аминокислотной фазы для работы в режиме гидрофильной хроматографии (HILIC).
НФ: NanoSpher HILIC-10R, 250x4, 3 мкм.

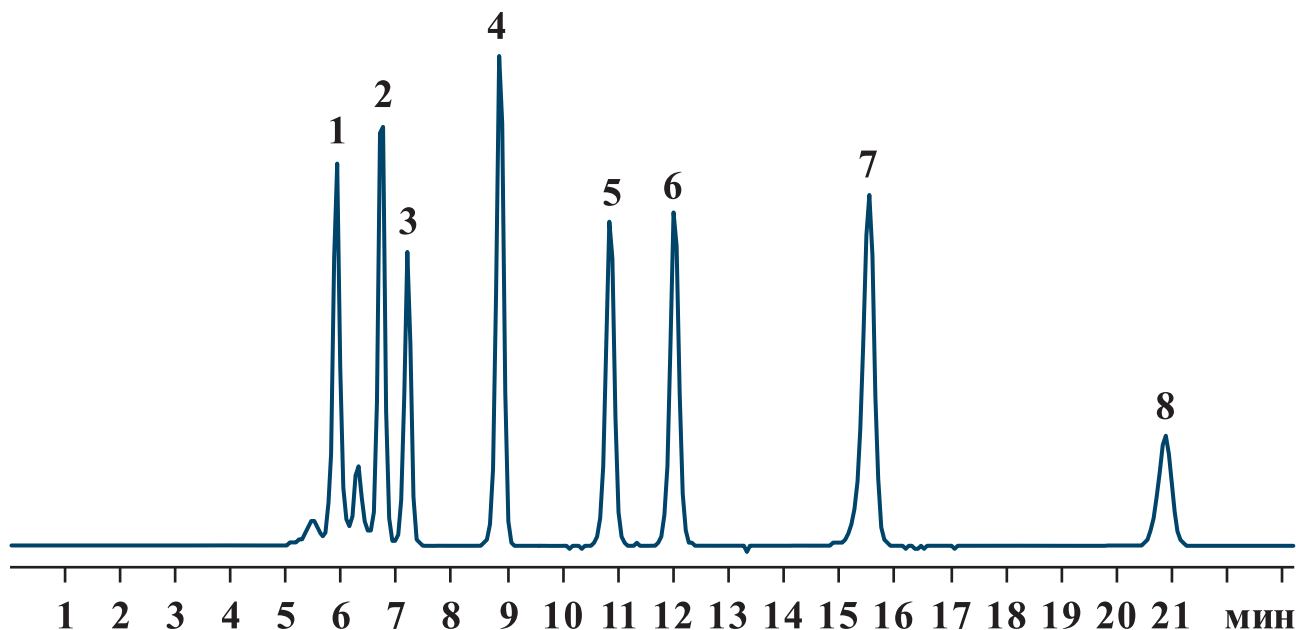
Специальные колонки NanoSpher

Специальные колонки **NanoSpher** предназначены для выполнения конкретных разделений, и поставляются с тестом по соответствующим целевым соединениям. Например, колонка **NanoSpher C18-PAH-1R** поставляется с тестом по пентациклическим ПАУ, в том числе бенз(а)пирену. Специальную колонку также можно разработать эксклюзивно для выполнения Вашего разделения, под заказ. Специальные колонки разработаны для многих типовых ВЭЖХ определений. Приложения можно условно разделить на четыре группы: для фармацевтической отрасли, в области анализа пищевой продукции и напитков, в области контроля и безопасности, а также для решения задач по определению различного типа присадок и химических реагентов.

ПИЩЕВАЯ ПРОДУКЦИЯ

- определение водорастворимых витаминов;
- определение органических кислот;
- определение сахаров и спиртов;
- определение ароматических альдегидов и кислот;
- определение фуруролов;
- определение флавоноидов.

250x4 NanoSpher SCX-WSVitamins-1
250x4 NanoSpher HILIC-WSVitamins-2
500x4.6 NanoSpher C18-OrgAcids-1
250x4.6 NanoSpher C18-Flavonoids-1
500x8 NanoSpher Sugars/Alcohols-1



1: щавелевая кислота
2: винная кислота
3: хинная кислота

4: шикимовая кислота
5: молочная кислота
6: уксусная кислота

7: лимонная кислота
8: янтарная кислота

Рисунок 9. Определение органических кислот при помощи специальной колонки NanoSpher.
НФ: 500x4.6 NanoSpher C18-OrgAcids-1.

Специальные колонки NanoSpher

ПРИСАДКИ, РЕАГЕНТЫ

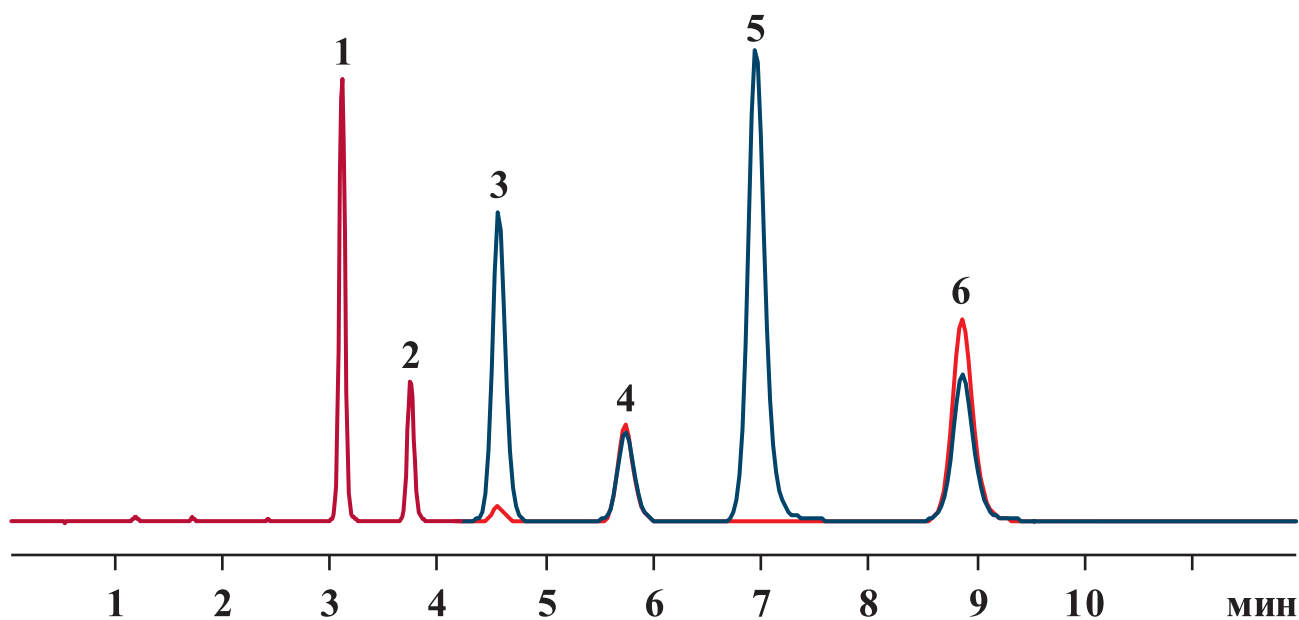
- антиокислительные присадки (Агидол-1 и его аналоги);
- пассиваторы (Бетол-1, Irgamet-39, Irgamet-30);
- антипиреновые присадки (Farquel);
- маркеры в моторных топливах;
- стабилизаторы топлив, октаноповышающие присадки;
- присадки, применяемые в производстве полимеров;
- трассерные индикаторы в нефтяных пластах;
- реагенты для буровых растворов.

250x4.6 NanoSpher OilAdditives-1
250x4.6 NanoSpher OilAdditives-2
250x4.6 NanoSpher OilAdditives-3
150x4.6 NanoSpher Furanes
250x4.6 NanoSpher FuelAdditives-1
250x4.6 NanoSpher Antipyrène

ФАРМАЦЕВТИКА

- определение основных компонентов дженериков;
- определение примесей в субстанциях;
- определение в "тяжелых" матрицах (мазях, гелях);
- фармакокинетика;
- определение метаболитов;
- анализ биологических образцов без пробоподготовки.

500x4.6 NanoSpher C18-10SP
250x4.6 NanoSpher C18-10S
250x4.6 NanoSpher C16-20R
100x4.6 NanoSpher C18-Gradient-1
250x4 NanoSpher SCX-10
250x4 NanoSpher HILIC-10R
250x4 NanoSpher HILIC-20R



1: аскорбиновая кислота (витамин С) 3: рибофлавин (витамин В2) 5: никотинамид (витамин В3)
2: тиамин (витамин В1) 4: фолиевая кислота (витамин В9) 6: пиридоксин (витамин В6)

Рисунок 10. Определение водорастворимых витаминов при помощи специальной колонки NanoSpher.
НФ: 250x4 NanoSpher SCX-WSVitamins-1 + 250x4 NanoSpher HILIC-WSVitamins-2

Специальные колонки NanoSpher

БЕЗОПАСНОСТЬ, ЭКОЛОГИЯ

- определение бенз(а)пирена (без очистки экстракта);
- определение фенолов (частный случай - крезолов);
- определение пестицидов (экология, входной контроль);
- определение консервантов;
- определение синтетических красителей.

250x4 NanoSpher C18-PAH-1R
50x4.6 NanoSpher C18-Cresols
250x4 NanoSpher C18-Pesticides
250x4.6 NanoSpher SAX-Dyes

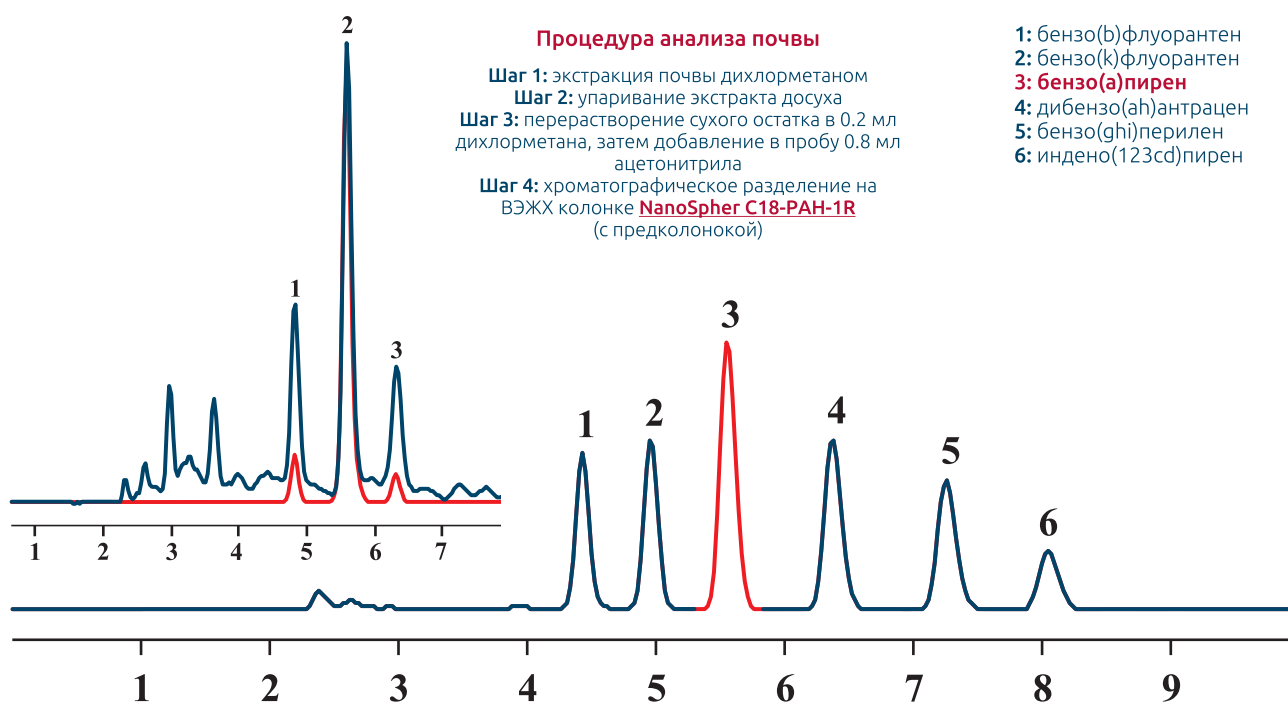


Рисунок 11. Разделение стандартов ПАУ. Определение бенз(а)пирена в почве при помощи специальной колонки NanoSpher. НФ: 250x4 NanoSpher C18-PAH-1R

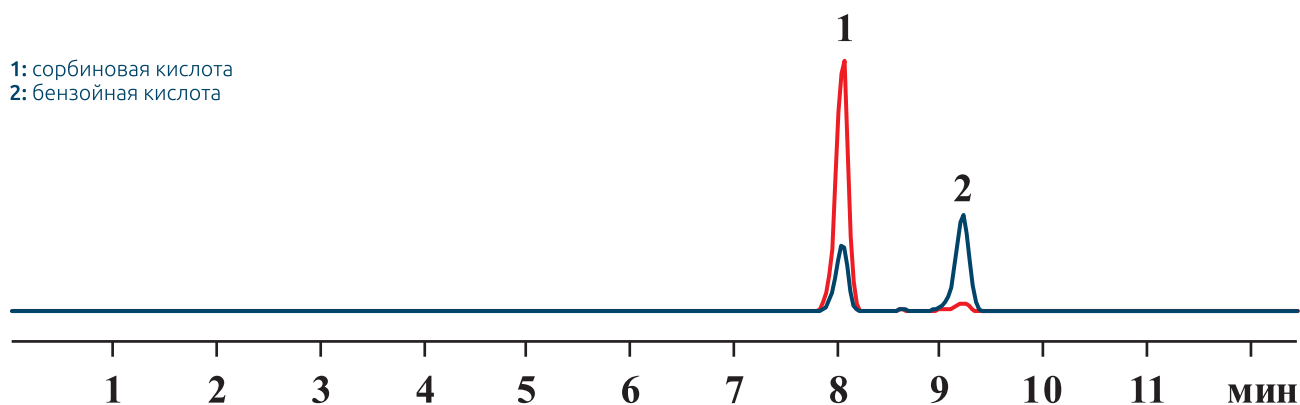


Рисунок 12. Разделение консервантов: сорбиновой и бензойной кислот - при помощи специальной колонки NanoSpher. НФ: 250x4.6 NanoSpher C18-Flavonoids-1

ВЭЖХ оборудование, оптимизированное для работы с колонками NanoSpher

ВЭЖХ оборудование Agilent и Gilson (США):

конфигурирование ВЭЖХ оборудования под задачи заказчика, сборка ВЭЖХ систем по эксклюзивно разработанным проектам;

помощь при внедрении методик, дополнительное обучение работе на приборе по любым ВЭЖХ методикам;

техническое сопровождение при проведении госзакупок;

разработка новых ВЭЖХ методик по требованиям заказчика;

запасные части, расходные материалы и ВЭЖХ колонки - со склада в Москве.

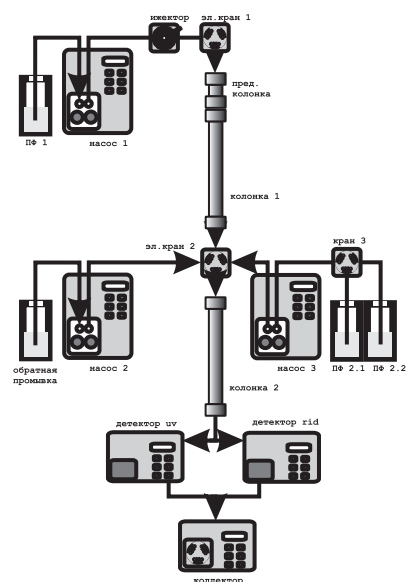
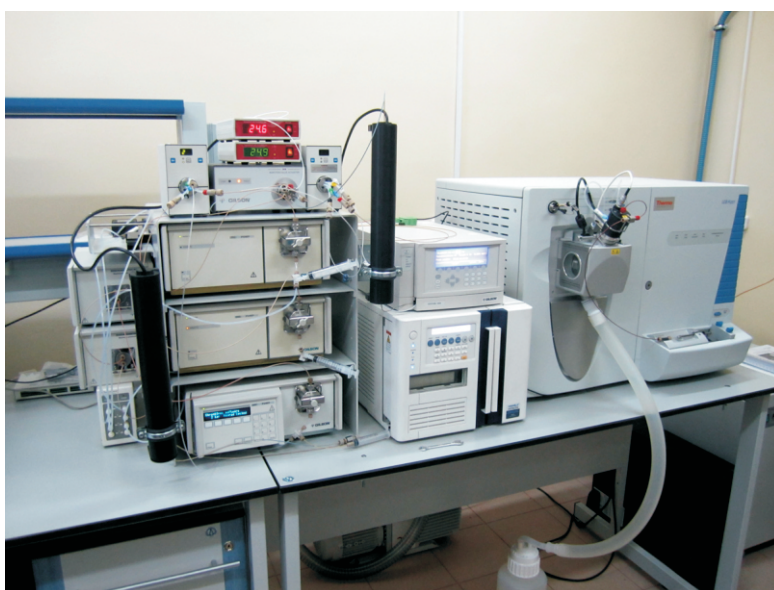


Схема системы двумерной ВЭЖХ с переключением потоков для исследовательских задач по анализу нефтей



ВЭЖХ система с офф-лайн ВЭЖХ очисткой пробы



Двумерная ВЭЖХ система для фармакокинетических исследований (анализ плазмы крови)



Tel.: + 7 495 210 1888
E-mail: mail@hplc.ru

ELSICO • SINCE '87



www.chromforum.ru
www.shop.hplc.ru

ЭЛСИКО хроматографическая компания
решения для жидкостной хроматографии с 1987 года

105082, Москва, ул. Бакунинская, д. 69, стр.1, офис 25.
Тел.: + 7(495) 210-1888, 518-0407, факс: + 7(499) 991-0220. E-mail: mail@hplc.ru.
Web: www.hplc.ru, www.chromforum.ru, www.shop.hplc.ru.