

***Практическое  
пособие по  
твердофазной  
экстракции***

- ВВЕДЕНИЕ
- ОСНОВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КОЛОНКИ ДЛЯ ТФЭ
- ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ
- ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОЦЕССА  
ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ
- ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ ТФЭ
- СБОРКА УСТАНОВКИ ДЛЯ ТФЭ
- ПРОЦЕСС ПРОВЕДЕНИЯ УДЕРЖИВАЮЩЕЙ ТФЭ
- Кондиционирование/уравновешивание
- Нанесение пробы
- Сушка сорбента
- Промывка сорбента
- Элюирование целевого компонента
- ПРОЦЕСС ПРОВЕДЕНИЯ НЕУДЕРЖИВАЮЩЕЙ ТФЭ
- Кондиционирование/уравновешивание
- Нанесение пробы/элюирование целевого компонента

# ВВЕДЕНИЕ

Цель пособия – помощь в практической работе по проведению **твердофазной экстракции (ТФЭ)**. В данном пособии содержатся подробные инструкции с иллюстрациями по сборке установки для ТФЭ, кондиционированию ТФЭ-колонок, нанесению проб, экстракции, промывке ТФЭ-колонок и элюированию целевого компонента.

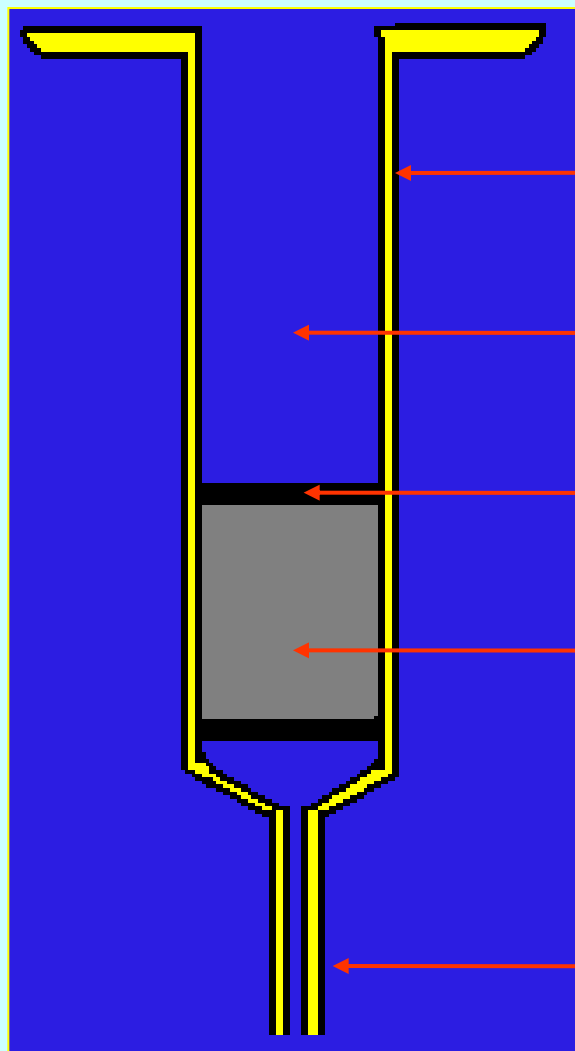
Пособие не содержит рекомендаций по разработке методов пробоподготовки и очистки с помощью ТФЭ (подбору растворителей, объемов, условий элюирования и пр.).

**ЗАО «Портлаб»** является дистрибьютором на территории РФ, Украины, Белоруссии, Казахстана компании **«Phenomenex» (USA)** – мирового лидера в производстве комплектующих жидкостной хроматографии, в том числе и высококачественных компонентов для ТФЭ. Для удобства заказа, помимо русскоязычных названий компонентов и материалов, на иллюстрациях представлены их номера по каталогу «Phenomenex».



ОСНОВНЫЕ  
ЭЛЕМЕНТЫ  
КОЛОНКИ ДЛЯ  
ТФЭ

## Колонка (картридж) для ТФЭ



Полипропиленовый корпус

Резервуар для подвижной фазы

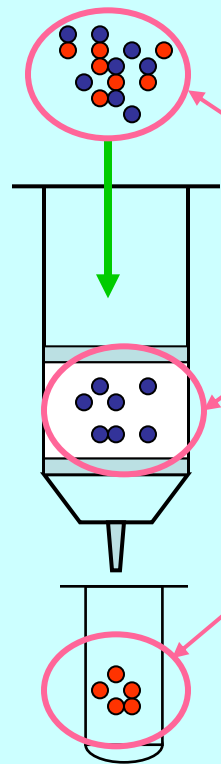
Фрит

Слой сорбента

Наконечник стандарта Luer

**ОСНОВНЫЕ**  
**МЕТОДЫ**  
**ТВЕРДОФАЗНОЙ**  
**ЭКСТРАКЦИИ**

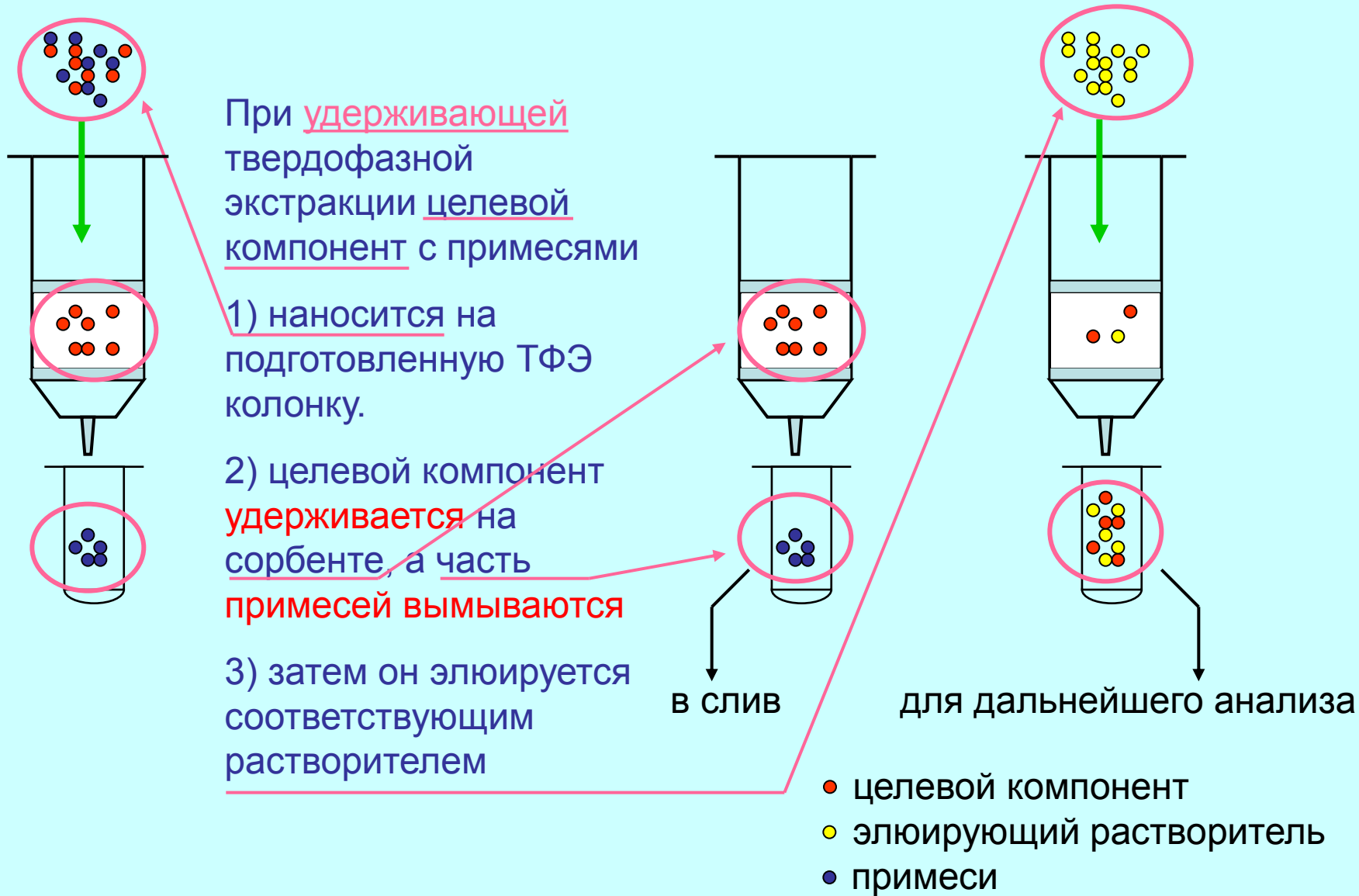
Все методы ТФЭ по принципу удерживания следует разделять на два типа: **удерживающая** и **неудерживающая** твердофазная экстракция



При неудерживающей твердофазной экстракции целевой компонент с примесями наносится на подготовленную ТФЭ колонку. После этого, в процессе элюирования на сорбенте удерживаются часть примесей, а целевой анализируемый компонент отправляется в емкость для сбора экстракта

- целевой компонент
- примеси





ОСНОВНЫЕ  
ЭТАПЫ  
ПРОВЕДЕНИЯ  
ПРОЦЕССА  
ТВЕРДОФАЗНОЙ  
ЭКСТРАКЦИИ

Процесс проведения ТФЭ состоит из нескольких основных **этапов**. В зависимости от метода их число бывает различным. К ним относятся:

- **кондиционирование ТФЭ колонки (см. далее)\***
- **уравновешивание ТФЭ колонки (см. далее)\***
- **нанесение пробы**
- **сушка сорбента ТФЭ колонки\*\***
- **промывка ТФЭ колонки для удаления примесей\*\***
- **элюирование целевого компонента (компонентов)**

\* Этапы кондиционирования и уравновешивания могут совпадать

\*\* Могут не применяться в зависимости от природы анализируемого объекта

**Кондиционирование** — процесс приведения сорбента в активное состояние

**Уравновешивание** — приведение патрона (картриджа) в состояние динамического равновесия, соответствующее условиям нанесения пробы

В методических указаниях и методиках выполнения измерений содержатся ссылки на тот или иной метод ТФЭ. В практической работе необходимо следить за выбором емкости для сбора целевого компонента и слива во избежание потери анализируемого вещества.

На иллюстрациях этому моменту уделено особое внимание.

ОСНОВНЫЕ  
КОМПОНЕНТЫ И  
МАТЕРИАЛЫ ТФЭ

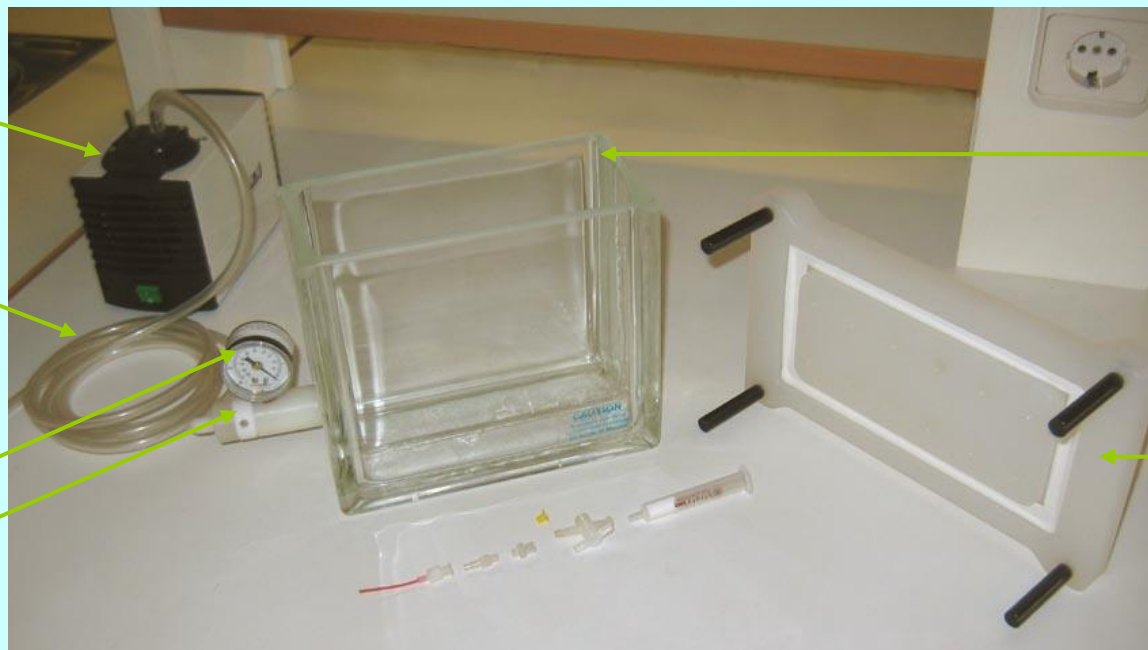
**1. Вакуумное устройство на 12 позиций (установка для твердофазной экстракции) (номер по каталогу Phenomenex АН0-6023)**

вакуумный насос

шланг

манометр  
(АН0-6059)

вентиль  
(АН0-6058)



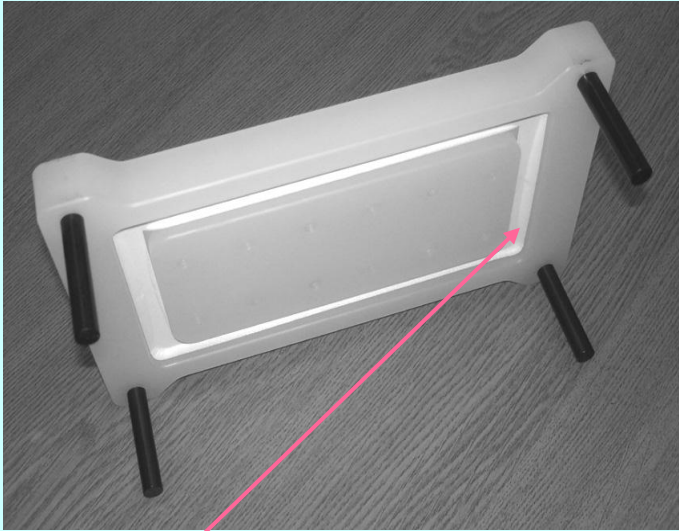
стеклянная камера  
(АН0-6025)

крышка манифолда  
(АН0-6027)

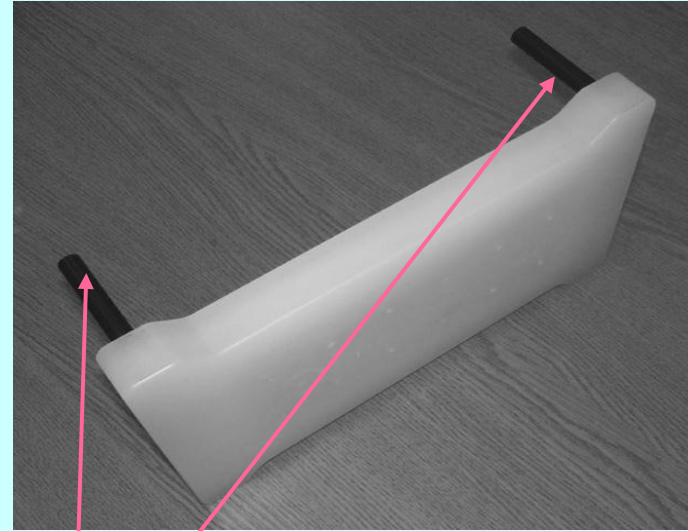
## 2. *Стеклянная камера в комплекте с манометром и вентилем* *(АНО-6031)*



### 3. Крышка устройства (АН0-6027)



Прокладка (АН0-6029)



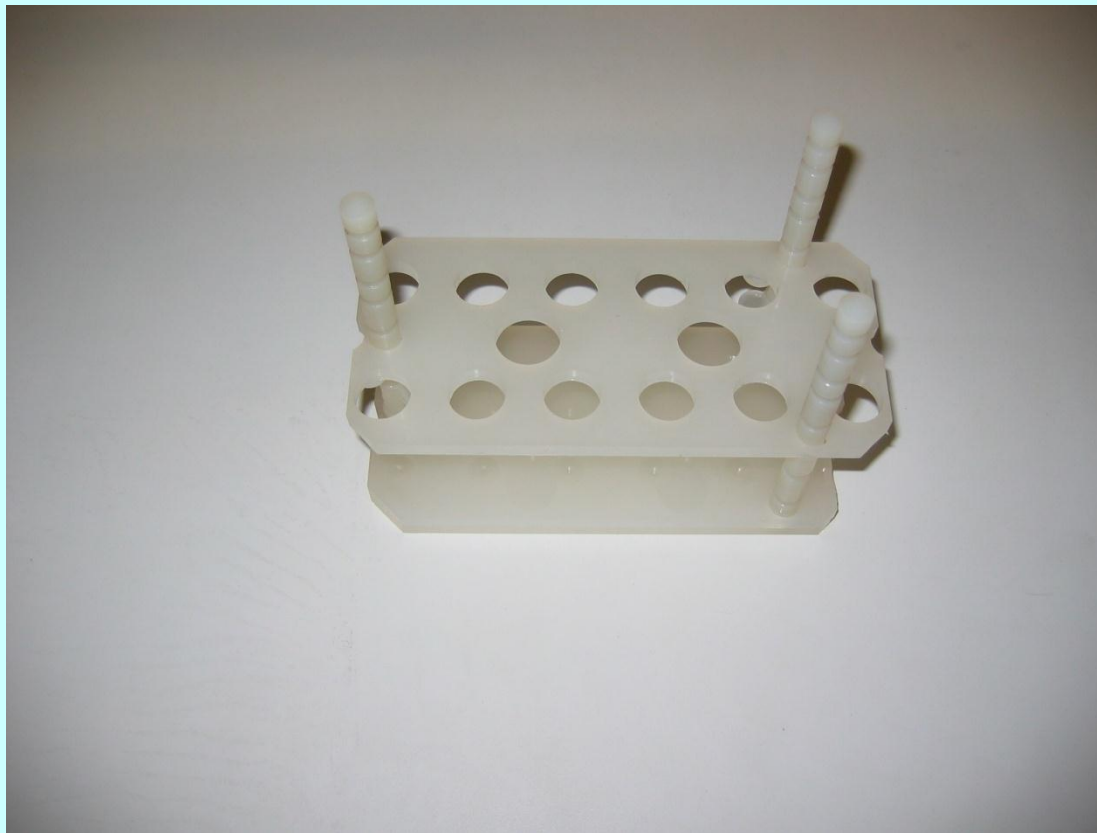
Ножки (АН0-6056)



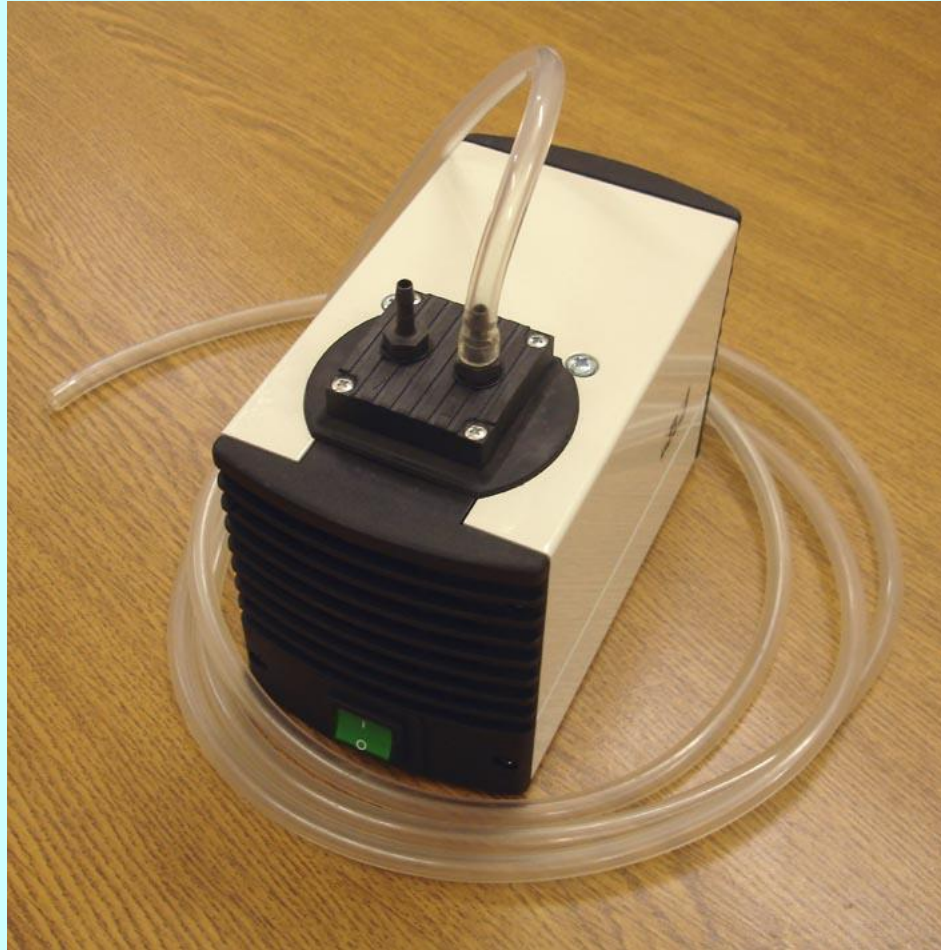
#### **4. Емкость для сбора слива (АН0-6052)**



## 5. Штатив для пробирок (АН0-6037)



## 6. Вакуумный насос



## 7. Комплектующие для ТФЭ

адаптер  
(АНО-7379)

резервуар

игла  
(АНО-6033  
или  
АНО-6034)

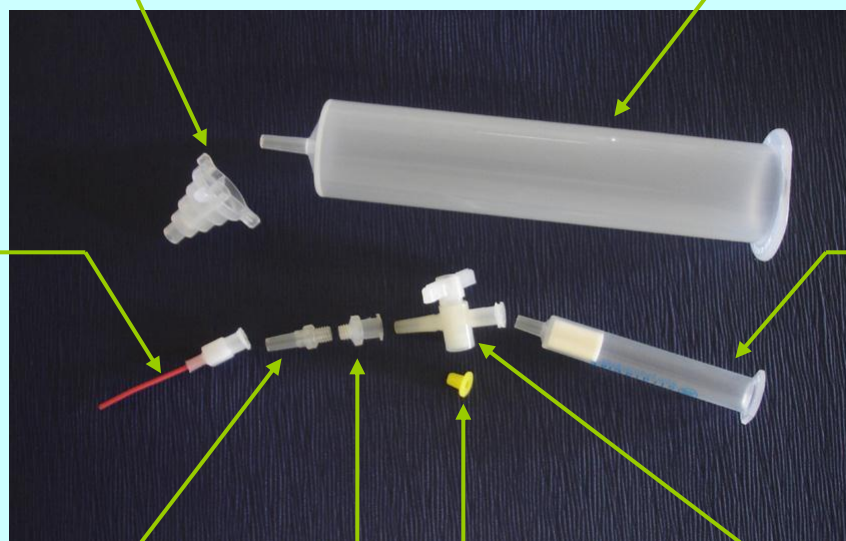
колонка для  
ТФЭ - патрон  
(картридж)

внутренний  
фитинг Luer  
(АНО-6054)

запорный  
кран  
(АНО-6048)

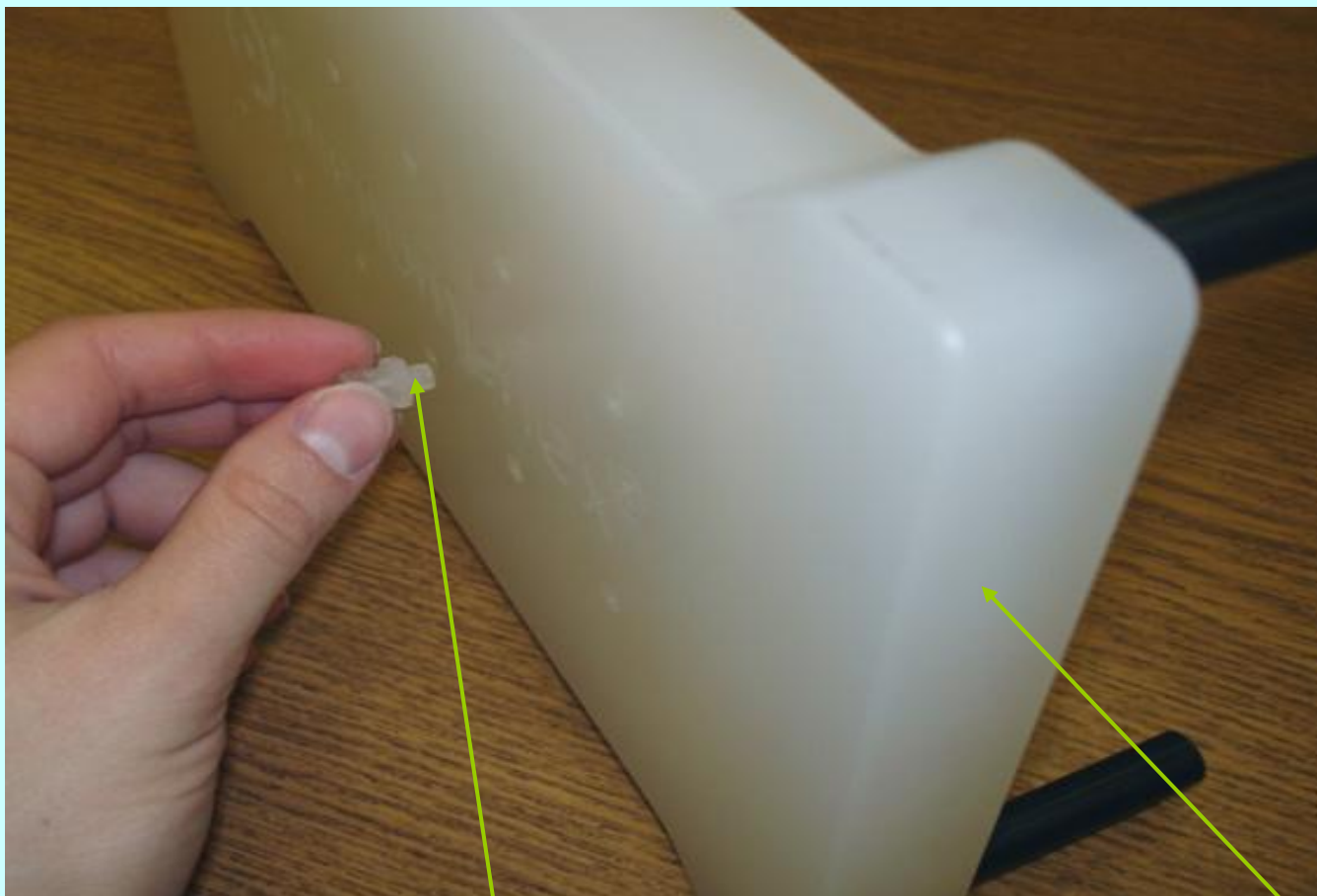
наружный фитинг Luer  
(АНО-6053)

заглушка  
(АНО-6061)

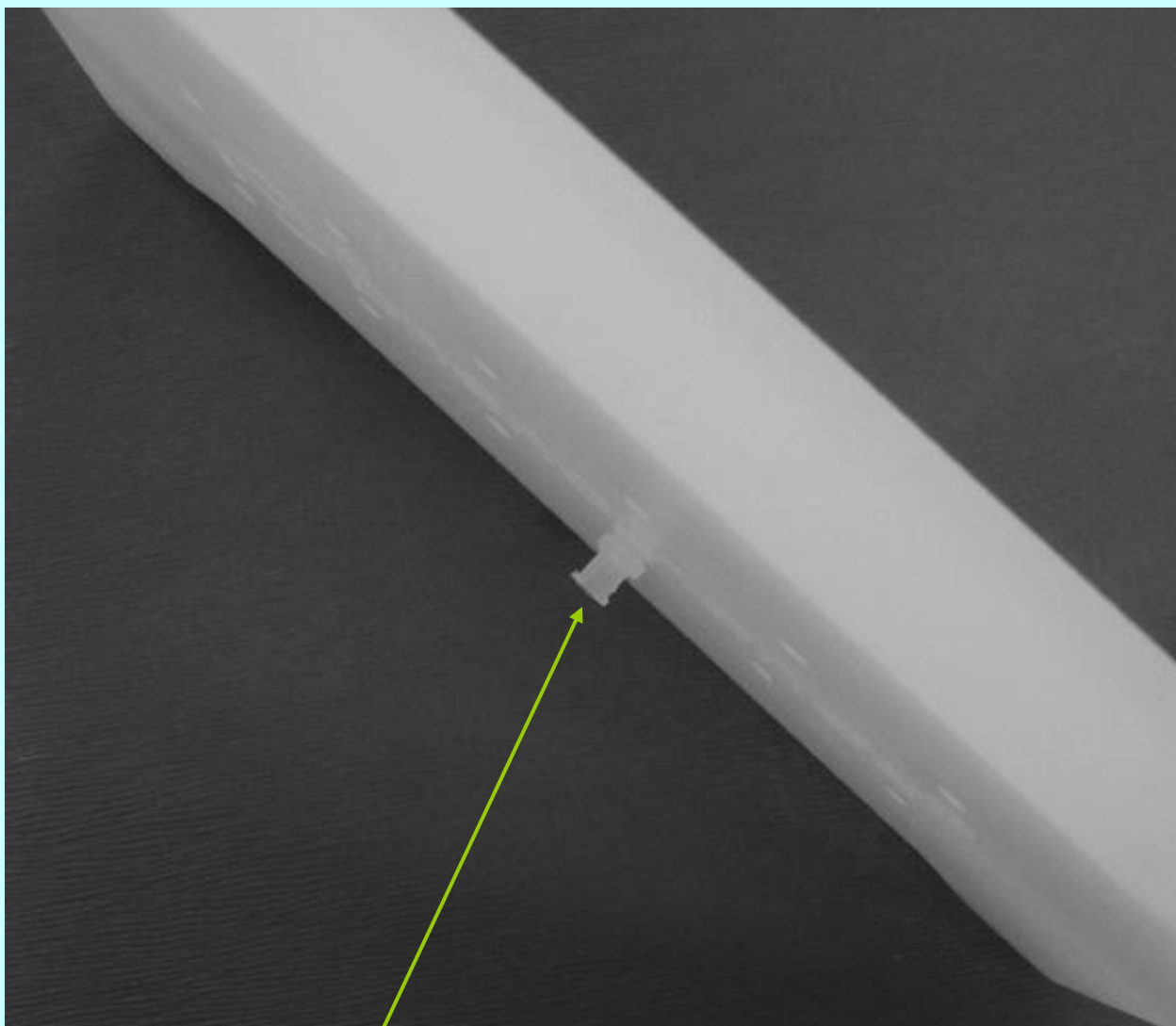


**СБОРКА**  
**УСТАНОВКИ**  
**ДЛЯ ТФЭ**

# **СБОРКА УСТАНОВКИ ДЛЯ ТФЭ** **(В КАЧЕСТВЕ ПРИМЕРА ВЗЯТА УСТАНОВКА** **НА 12 ПОЗИЦИЙ ДЛЯ ТФЭ (АН0-6023))**



1. Наружный фитинг присоединяется (заворачивается по резьбе) к внешней стороне крышки устройства

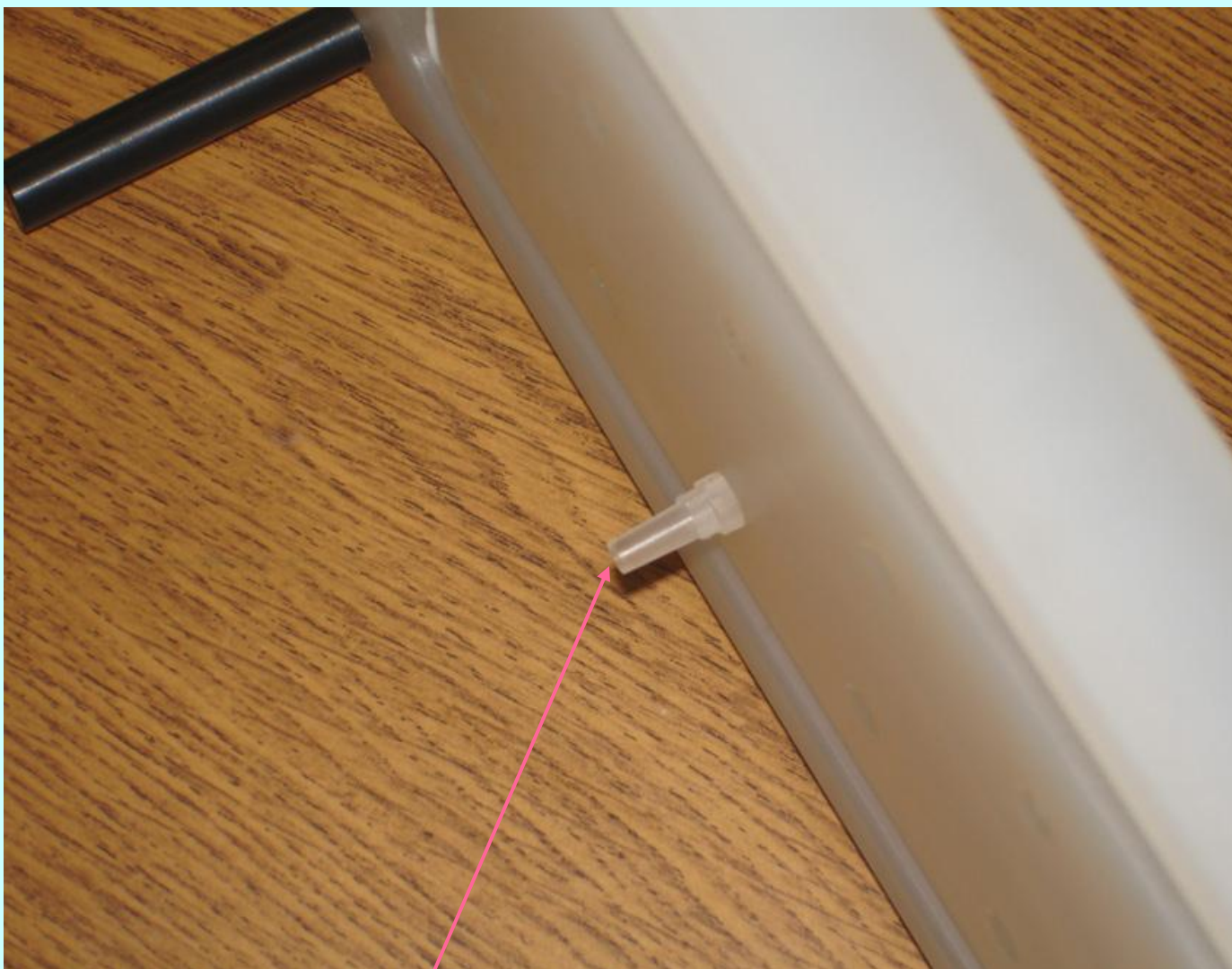


Наружный фитинг, присоединенный к крышке устройства

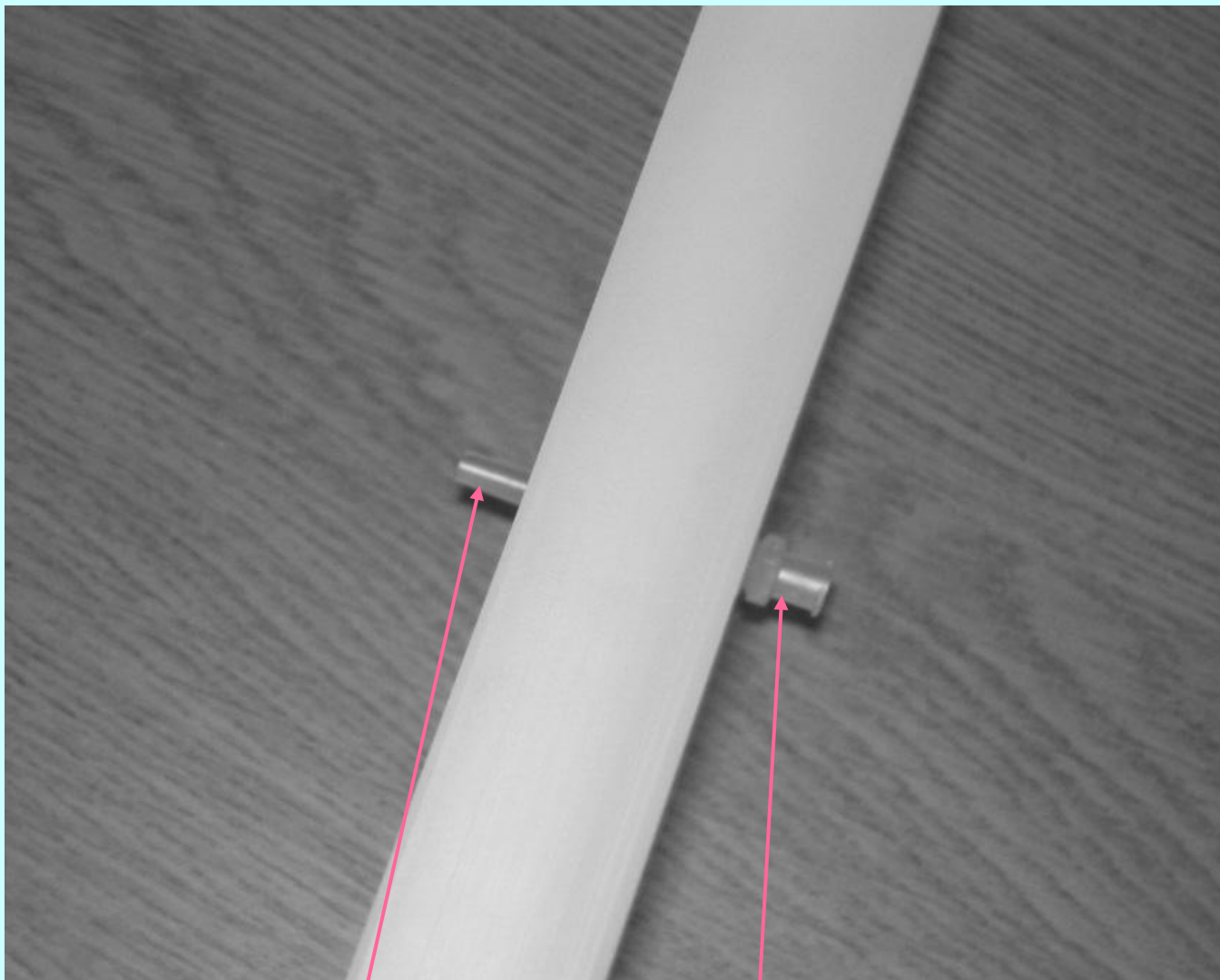


2. Внутренний фитинг присоединяется (заворачивается по резьбе) к внутренней поверхности крышки устройства

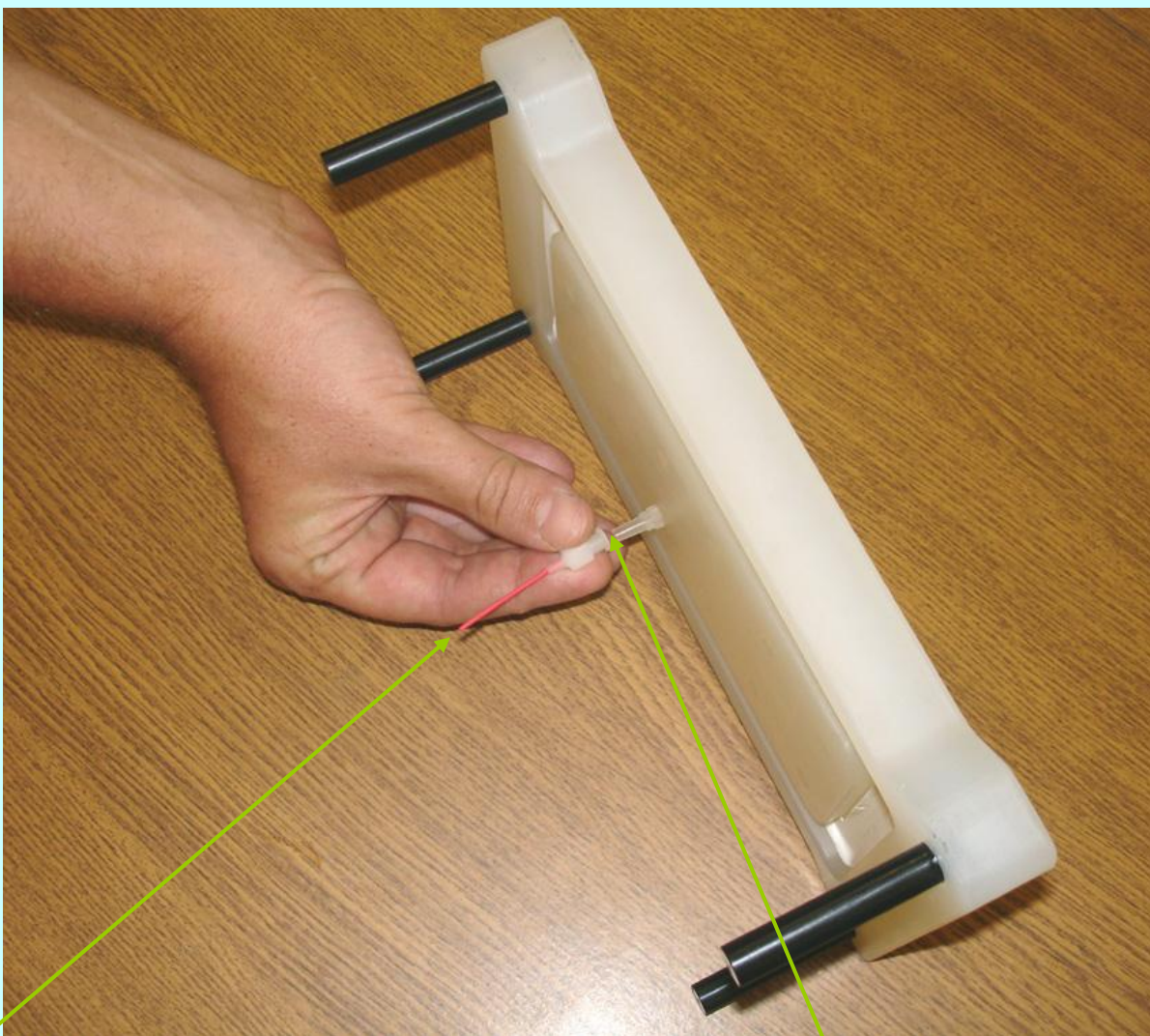




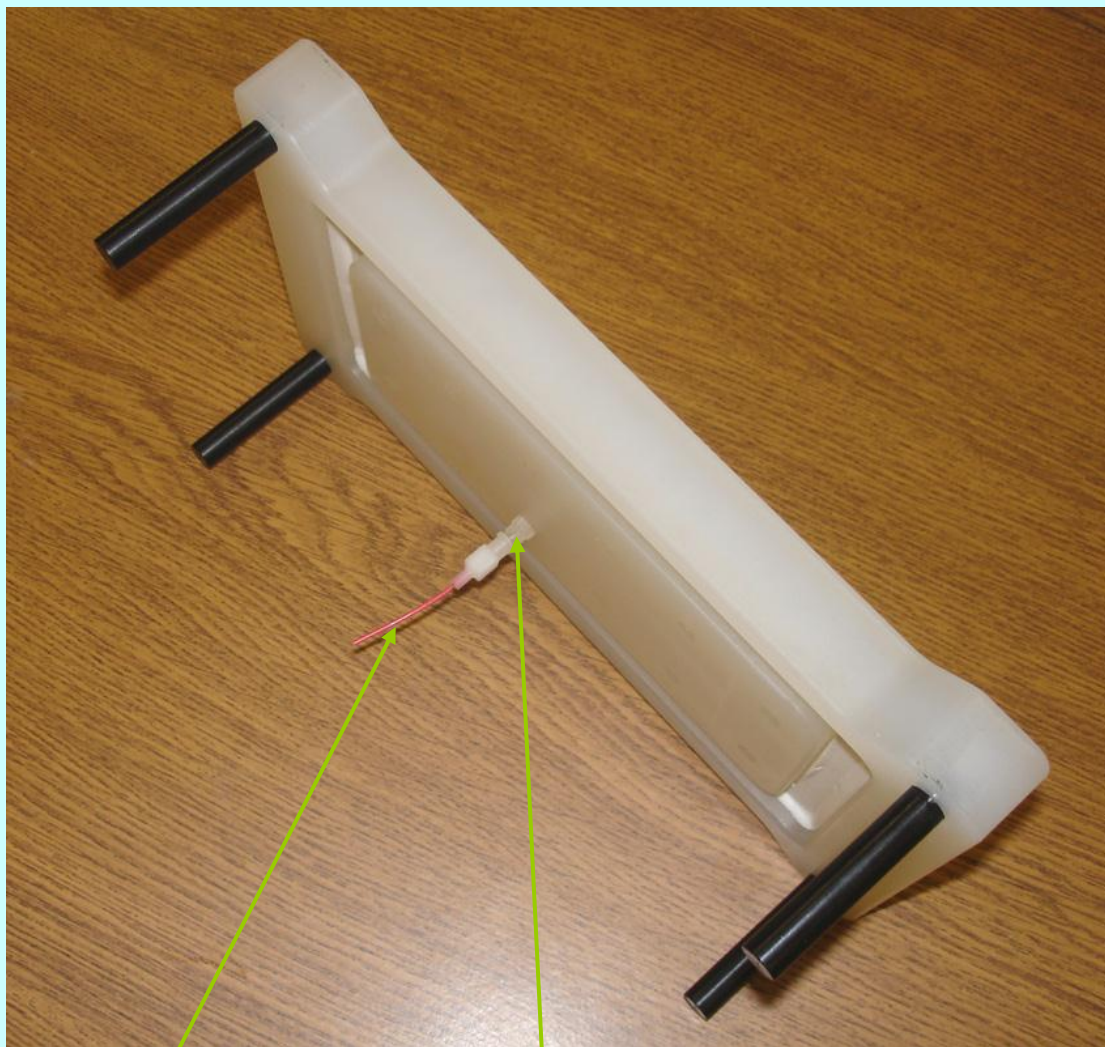
Внутренний фитинг, присоединенный к крышке устройства



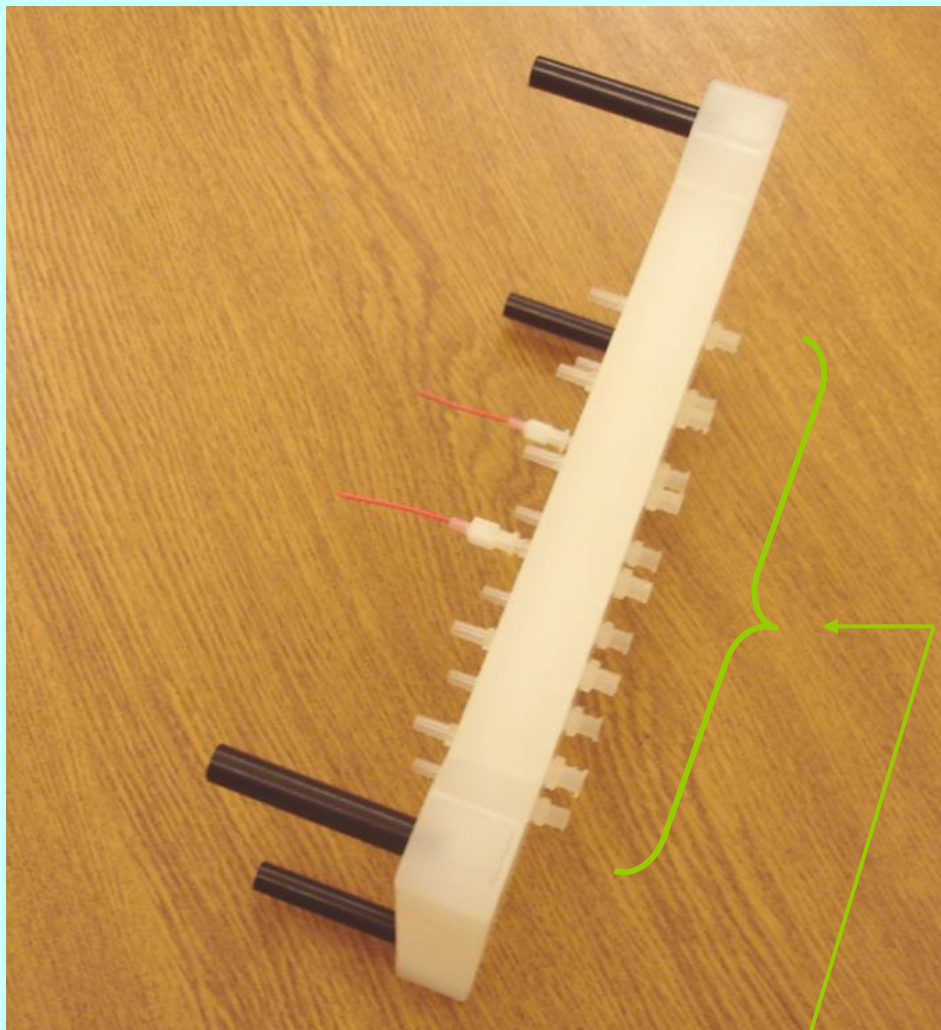
Внутренний (слева) и наружный (справа) фитинги,  
присоединенные к крышке устройства



3. Игла надевается на внутренний фитинг, если этот фитинг будет задействован в процессе твердофазной экстракции



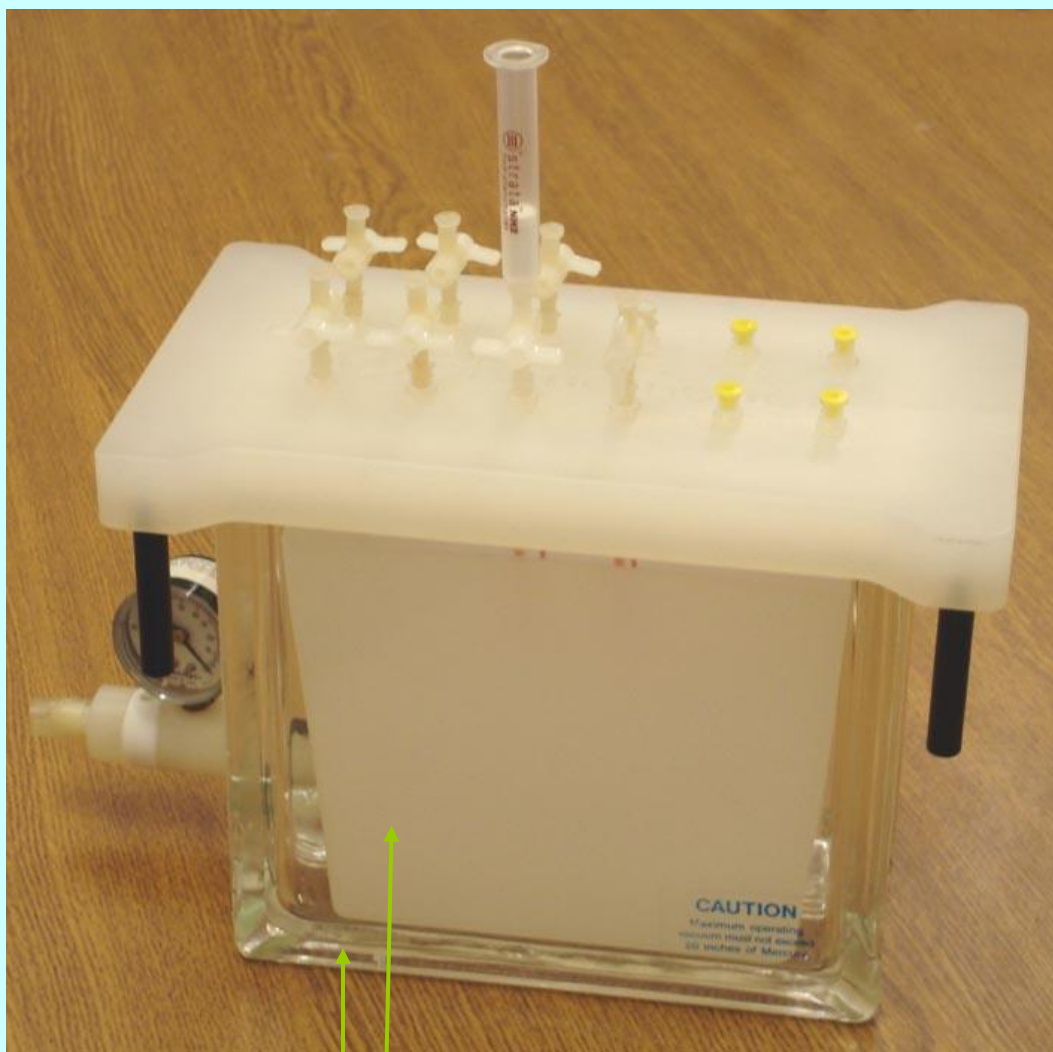
Игла, присоединенная к внутреннему фитингу



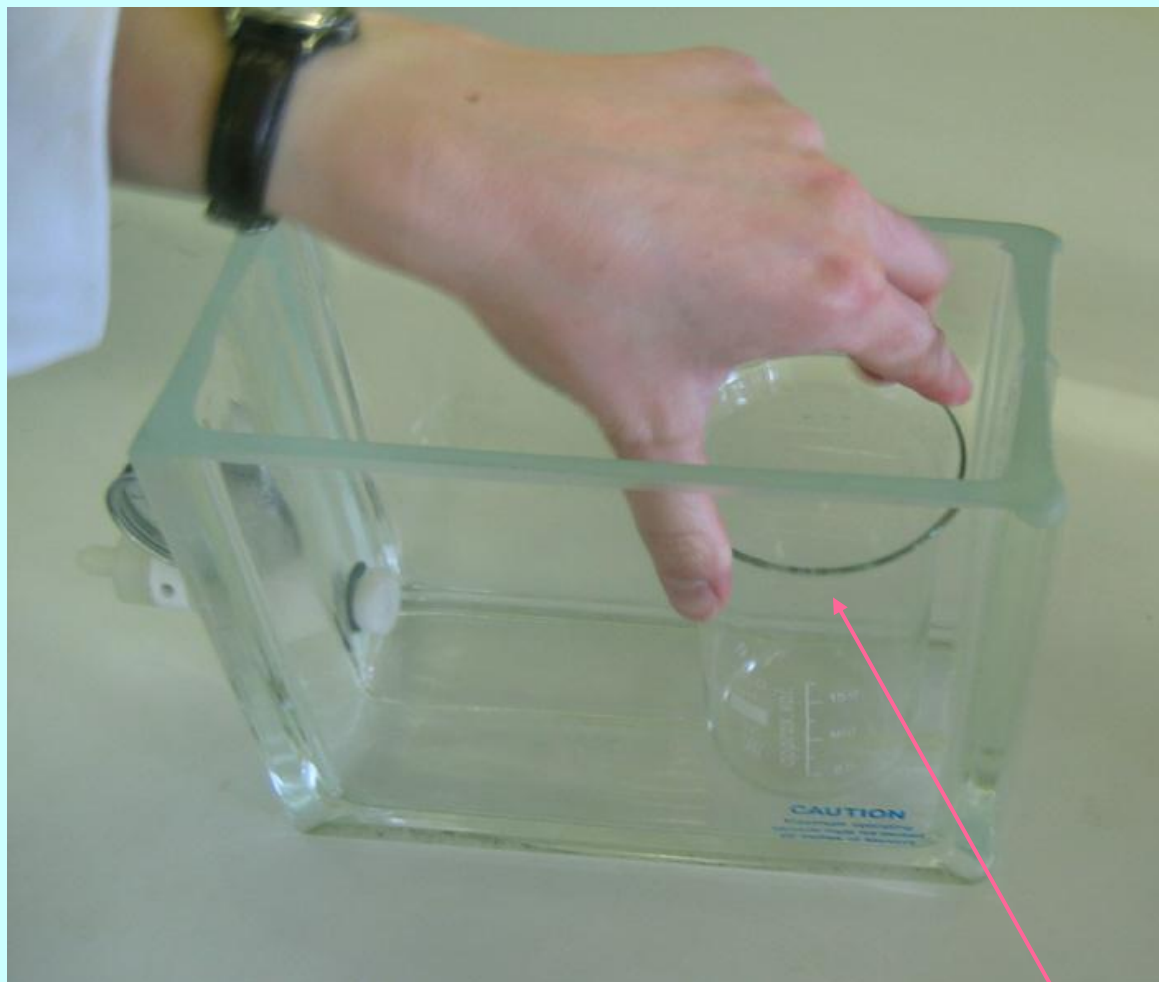
4. Аналогично заполняются все 12 позиций устройства



5. В случае удерживающей ТФЭ в стеклянную камеру устанавливается емкость для сбора слива

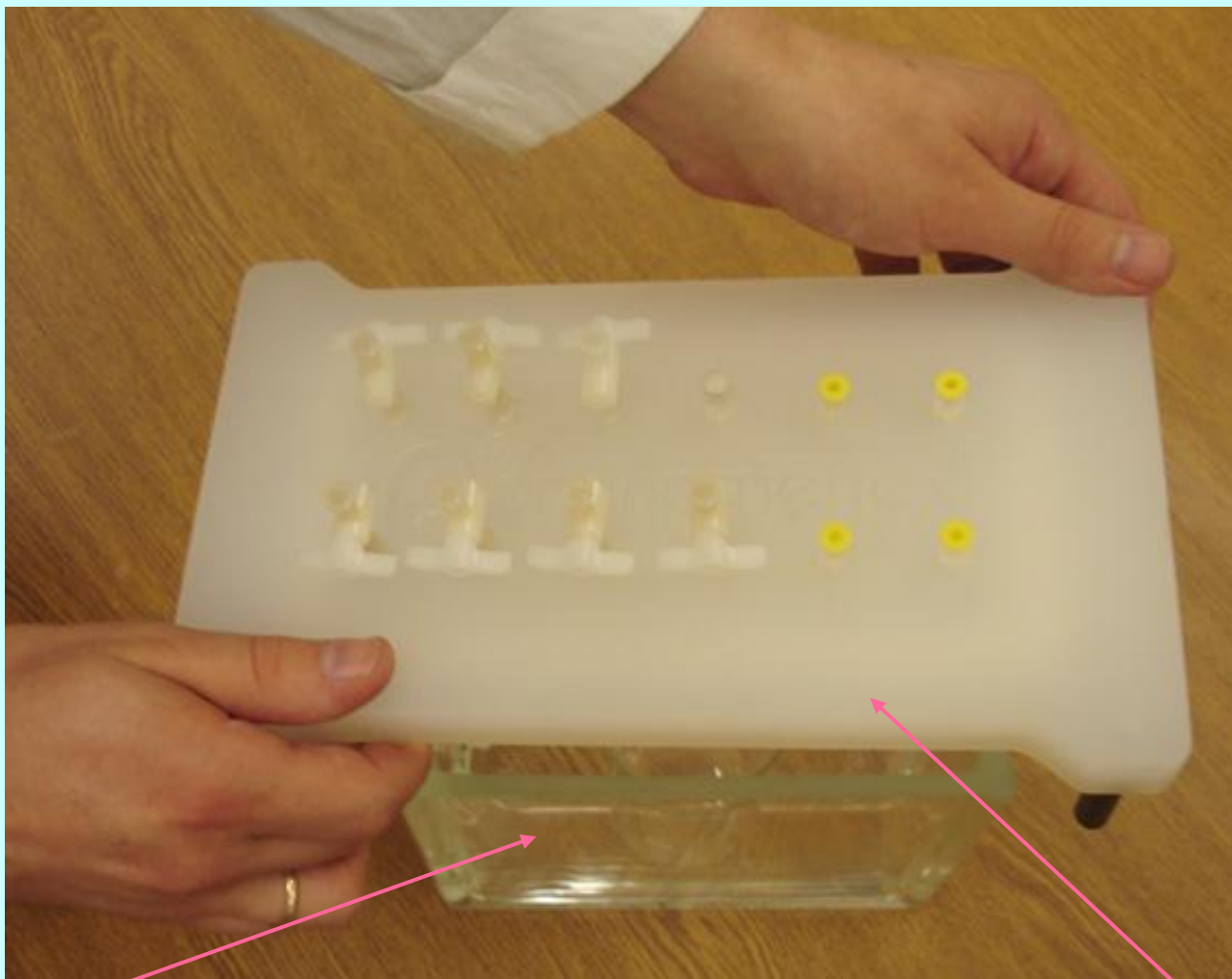


Вид устройства с емкостью для слива внутри

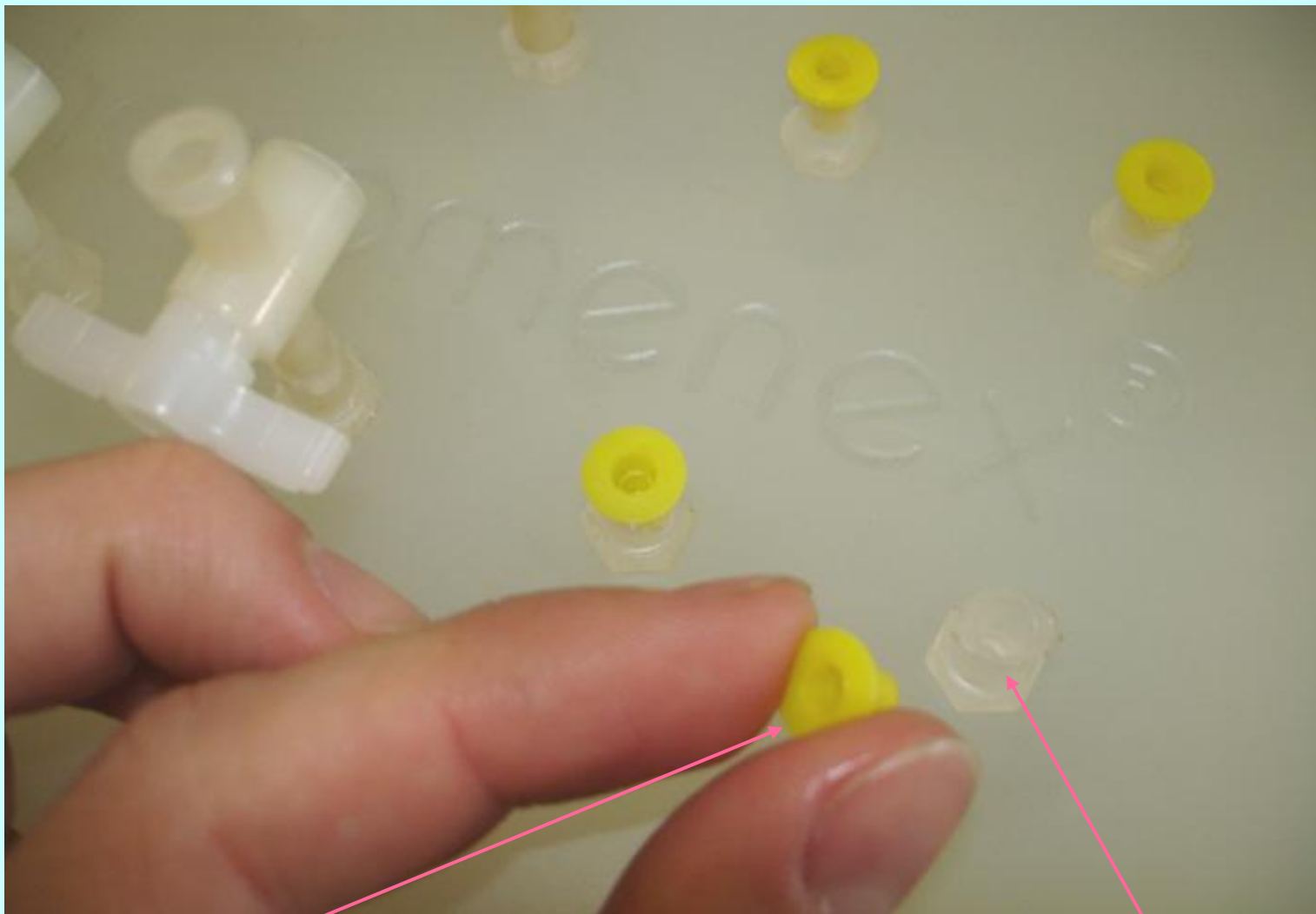


Для сбора слива при удерживающей ТФЭ или целевого компонента при неудерживающей ТФЭ возможно использование стакана

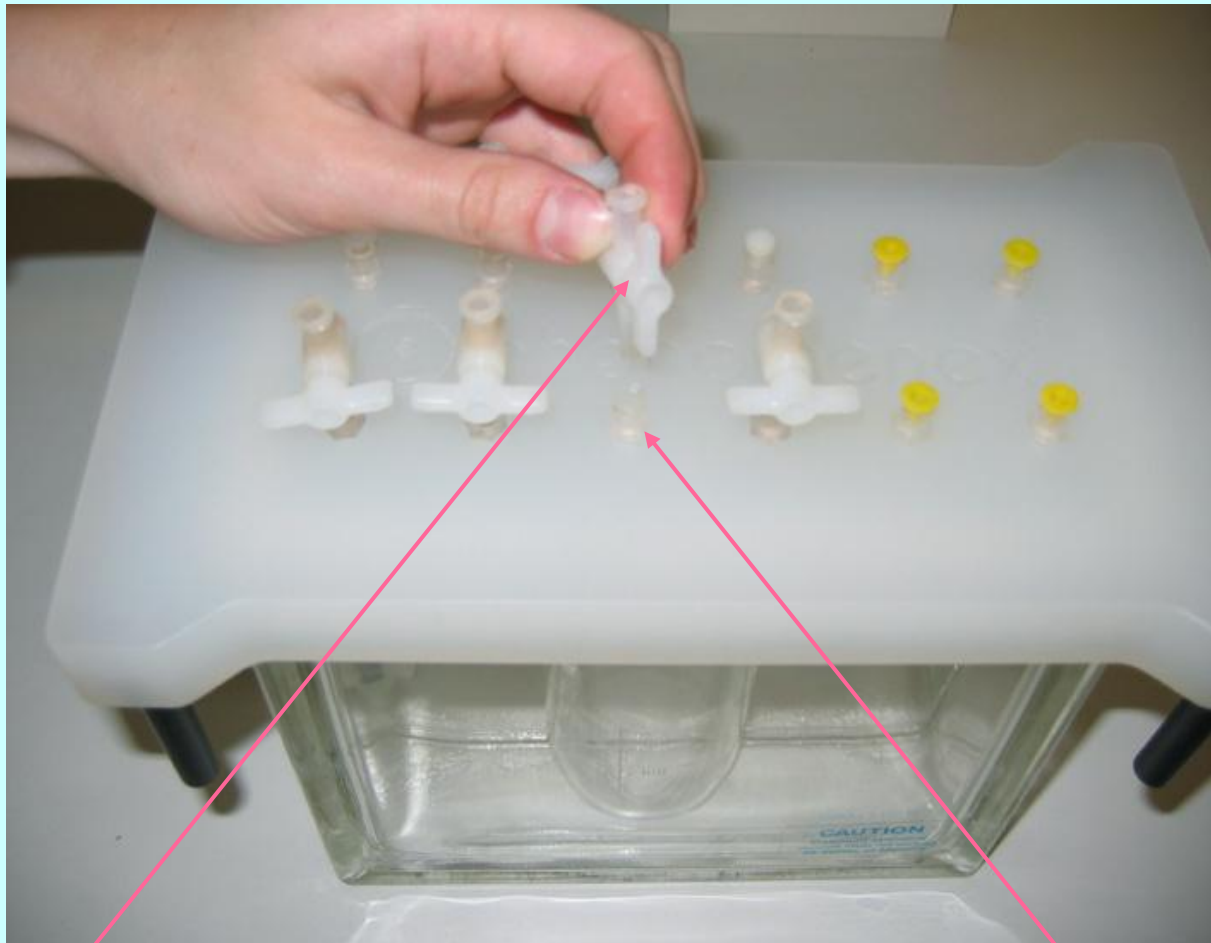




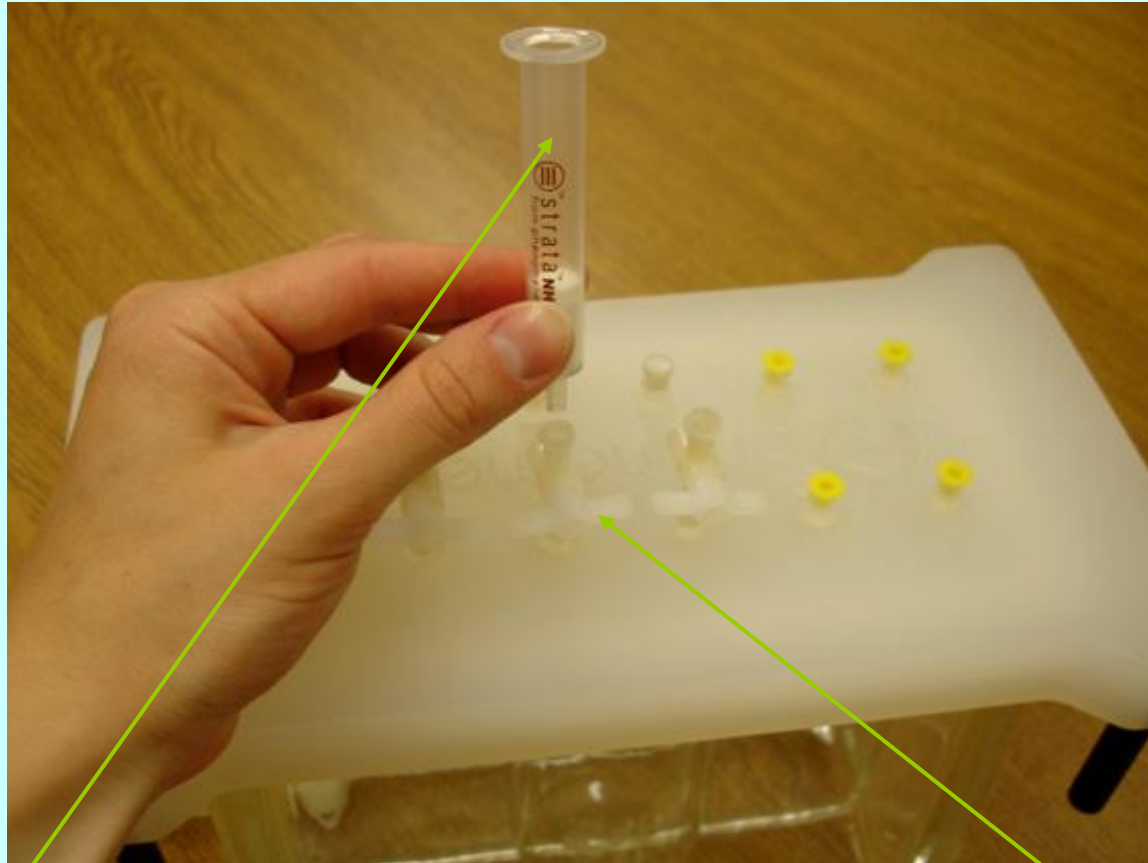
6. Камера со стаканом закрывается подготовленной крышкой устройства



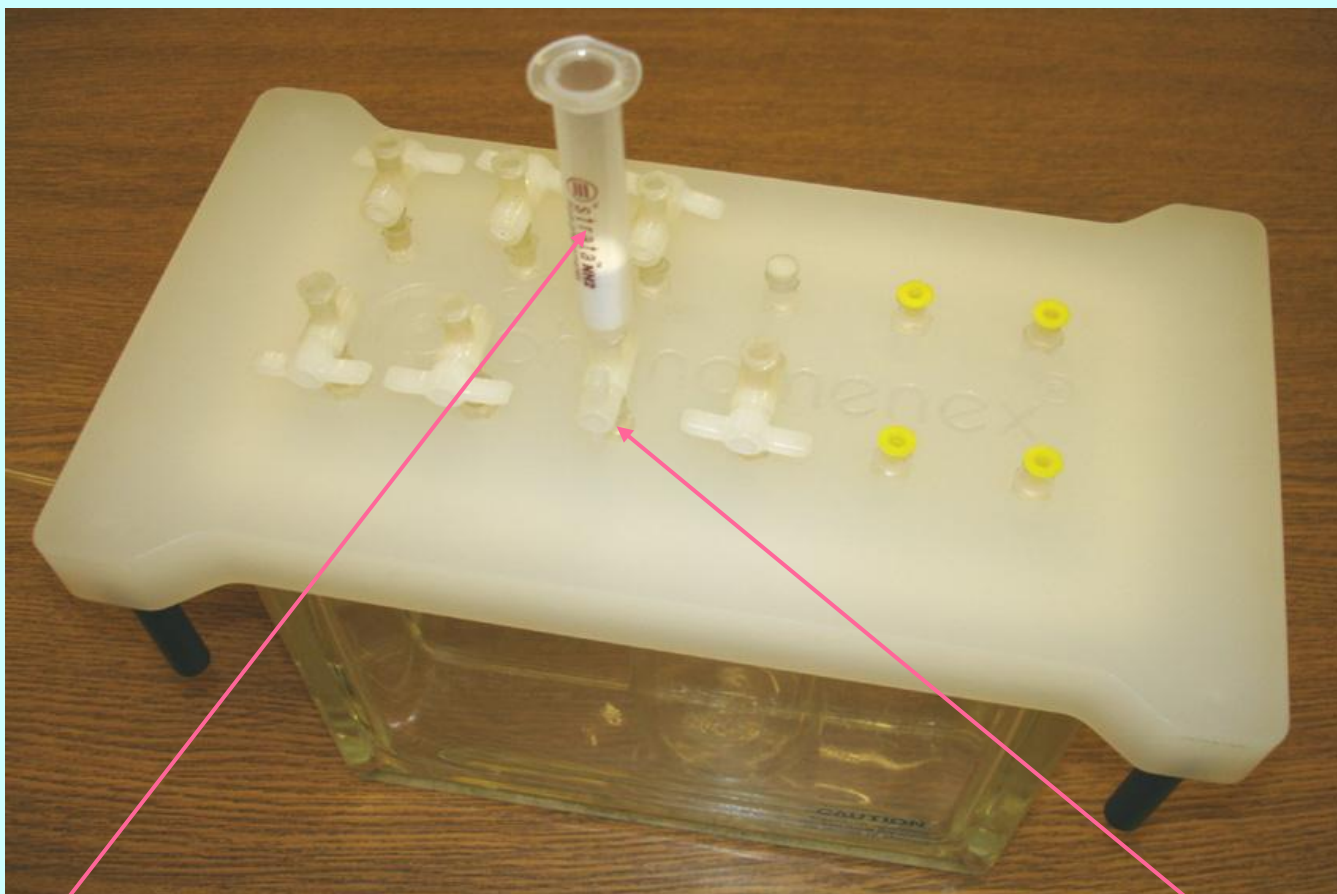
7. Заглушки присоединяются к внешним фитингам, которые не будут задействованы в процессе твердофазной экстракции, или использованы для регулировки давления в системе



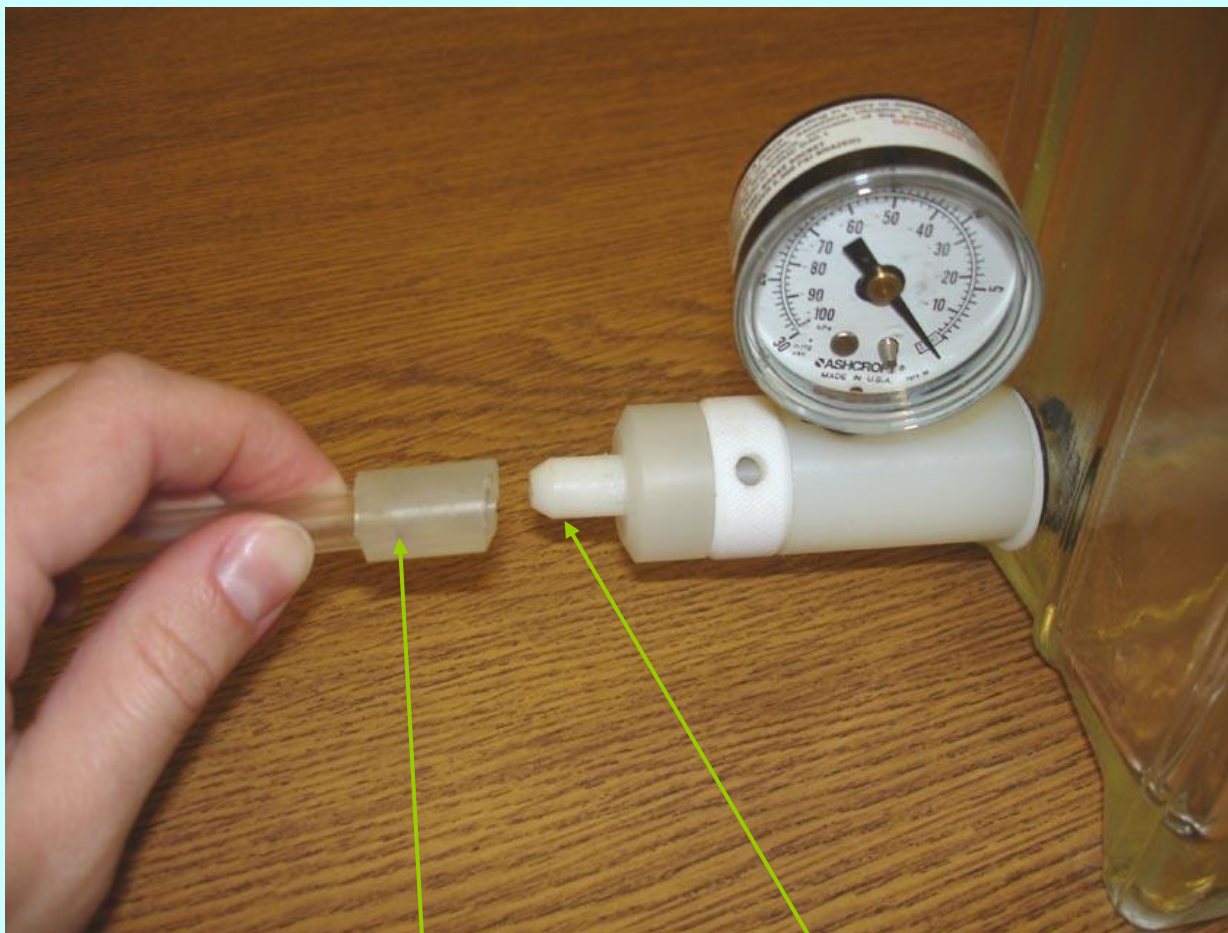
8. Запорные краны вставляются во внешние фитинги, которые будут задействованы в процессе твердофазной экстракции либо будут использоваться для регулировки давления в системе



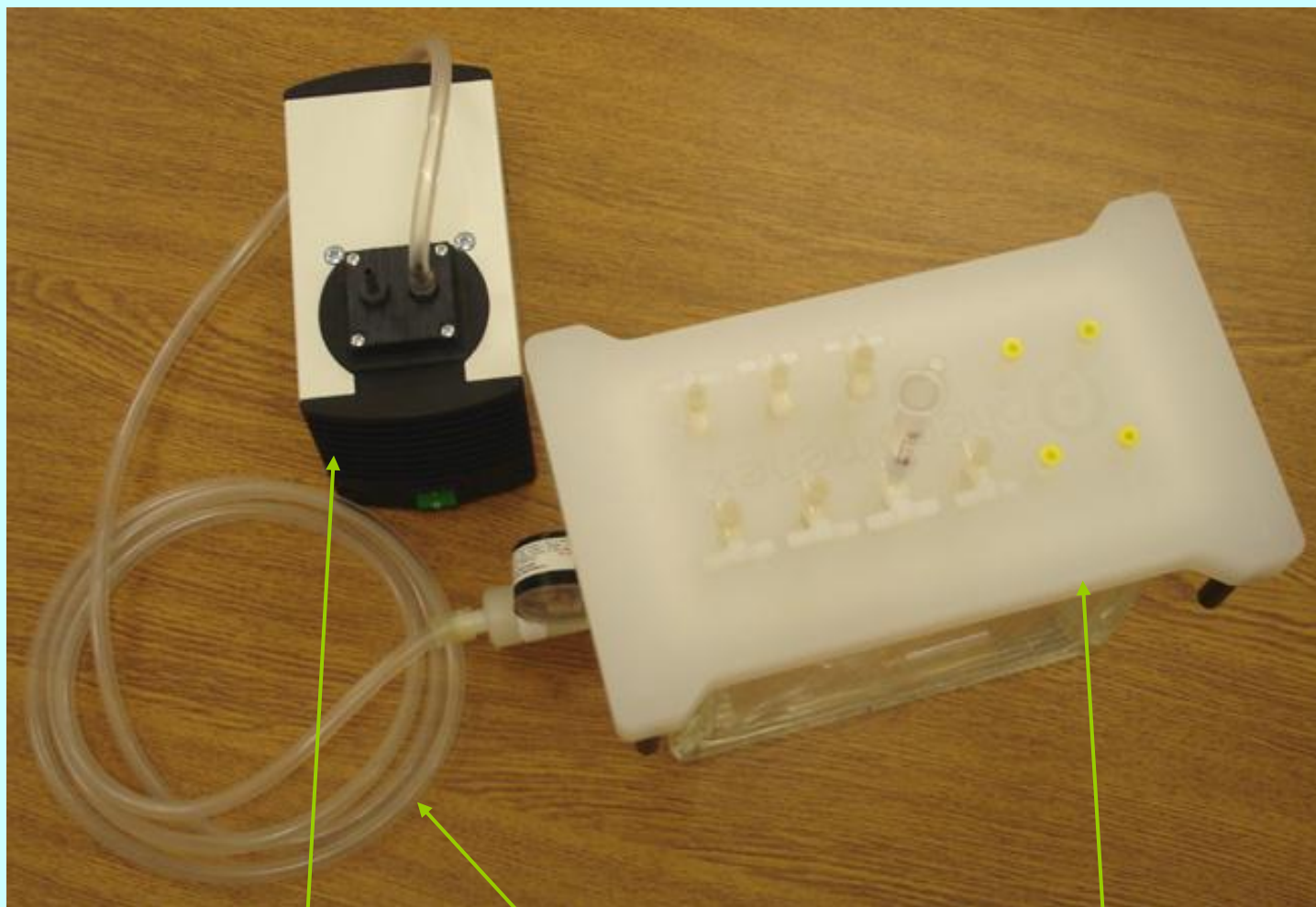
9. Патрон (картридж) присоединяется к запорному крану, который будет задействован в процессе твердофазной экстракции



Патрон (картридж), присоединенный к запорному крану



10. Шланг насоса присоединяется к устройству.  
Возможно использование не только вакуумного, но и  
обычного силиконового шланга, т.к. перепад давления в  
установке по сравнению с атмосферным невелик  
(обычно 0.2 – 0.4 бар)



Насос, соединенный шлангом с устройством  
Длина шланга выбирается исходя из места  
расположения насоса

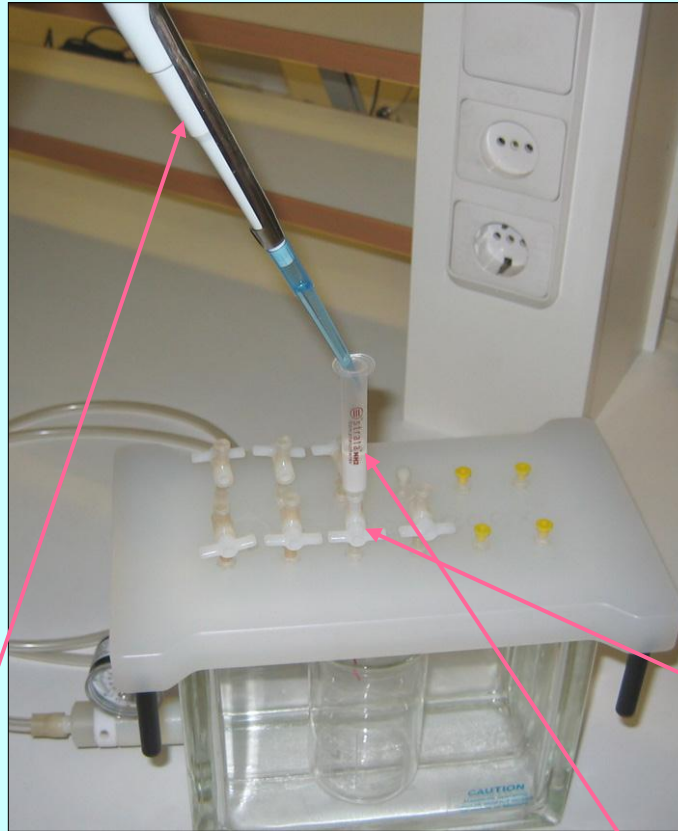


Установка в сборе

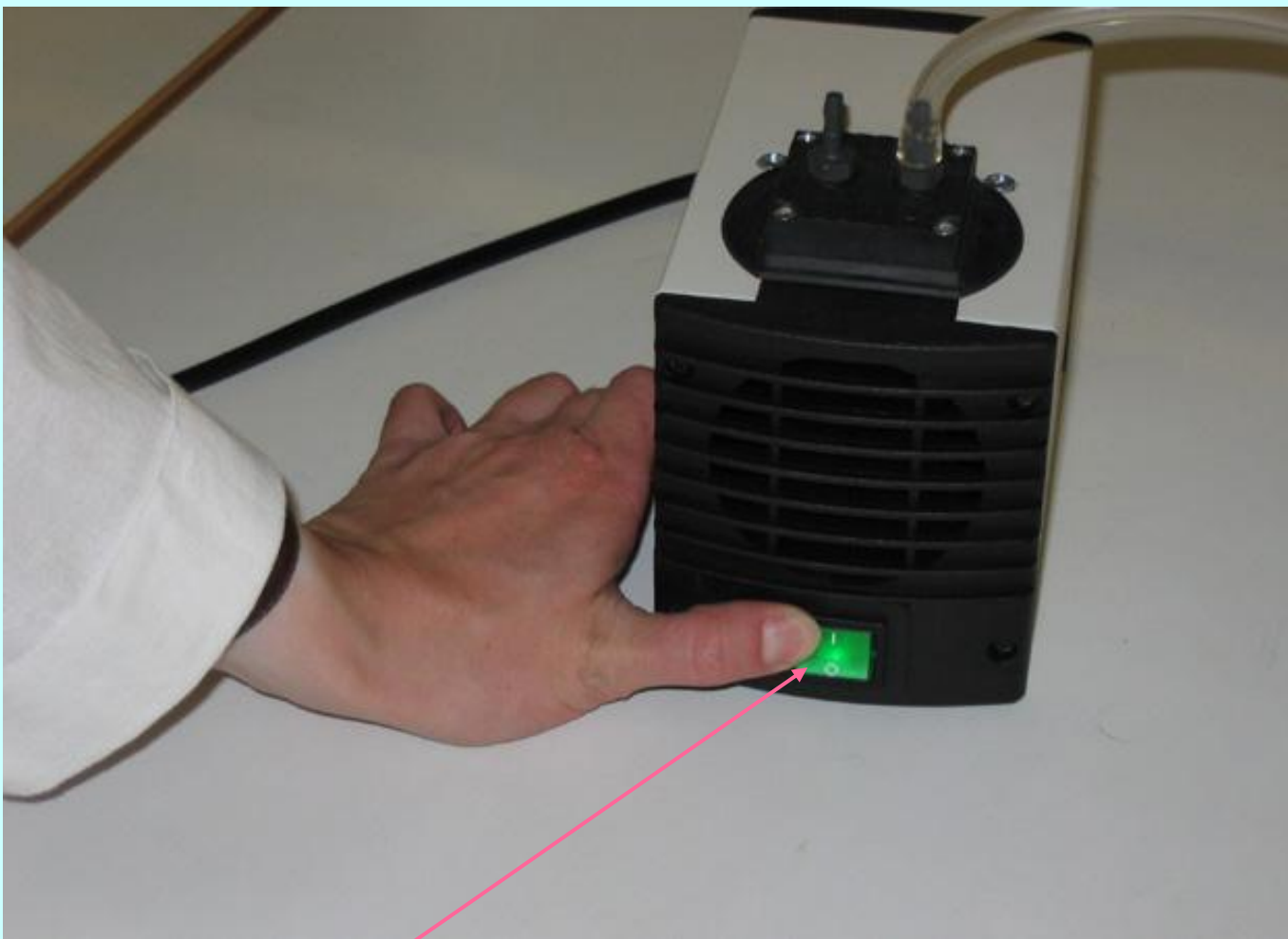


ПРОЦЕСС  
ПРОВЕДЕНИЯ  
УДЕРЖИВАЮЩЕЙ  
ТФЭ

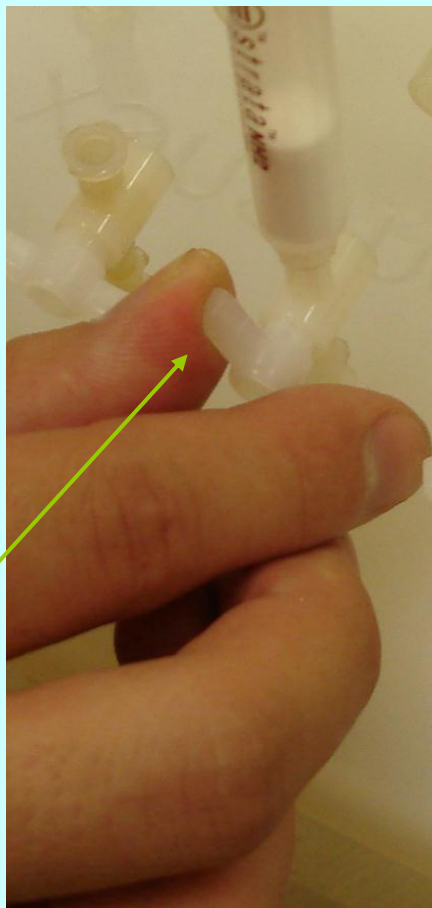
# КОНДИЦИОНИРОВАНИЕ/ УРАВНОВЕШИВАНИЕ



1. С помощью пипет-дозатора или пипетки на патрон наносится жидкость для его кондиционирования/уравновешивания. Запорный кран под патроном должен быть **закрыт** (ручка установлена перпендикулярно оси протекания жидкости)



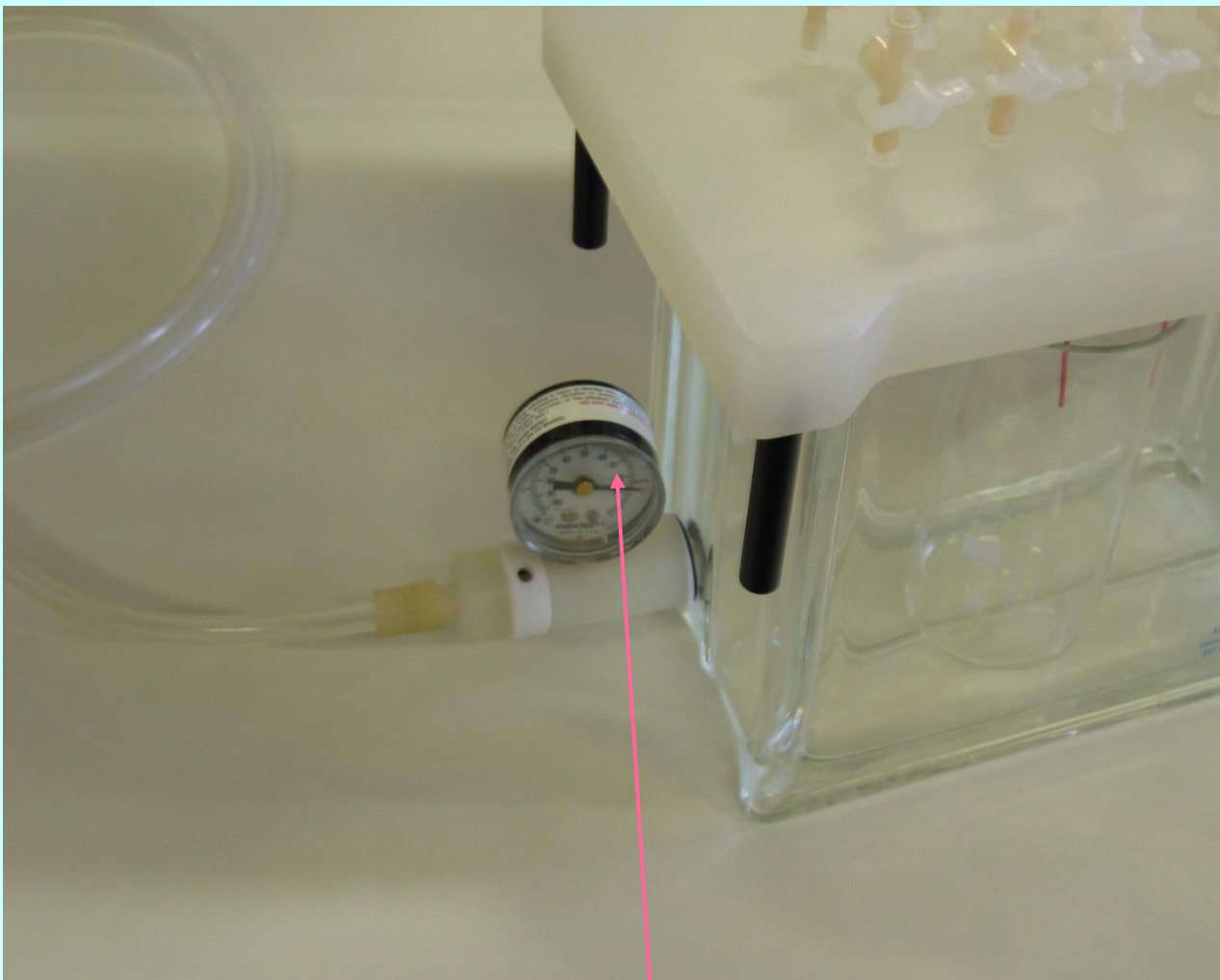
2. Включается вакуумный насос. Запорные краны при этом должны быть закрыты



3. Запорный кран поворачивается в положение, позволяющее поддерживать нужную скорость элюирования. Управление скоростью потока жидкости, проходящей через патрон, осуществляется с помощью запорного крана,



а также регулированием давления в системе (путем изменения размера отверстия в вакуумной линии регулирующим вентилем или с помощью незадействованных для твердофазной экстракции запорных кранов)



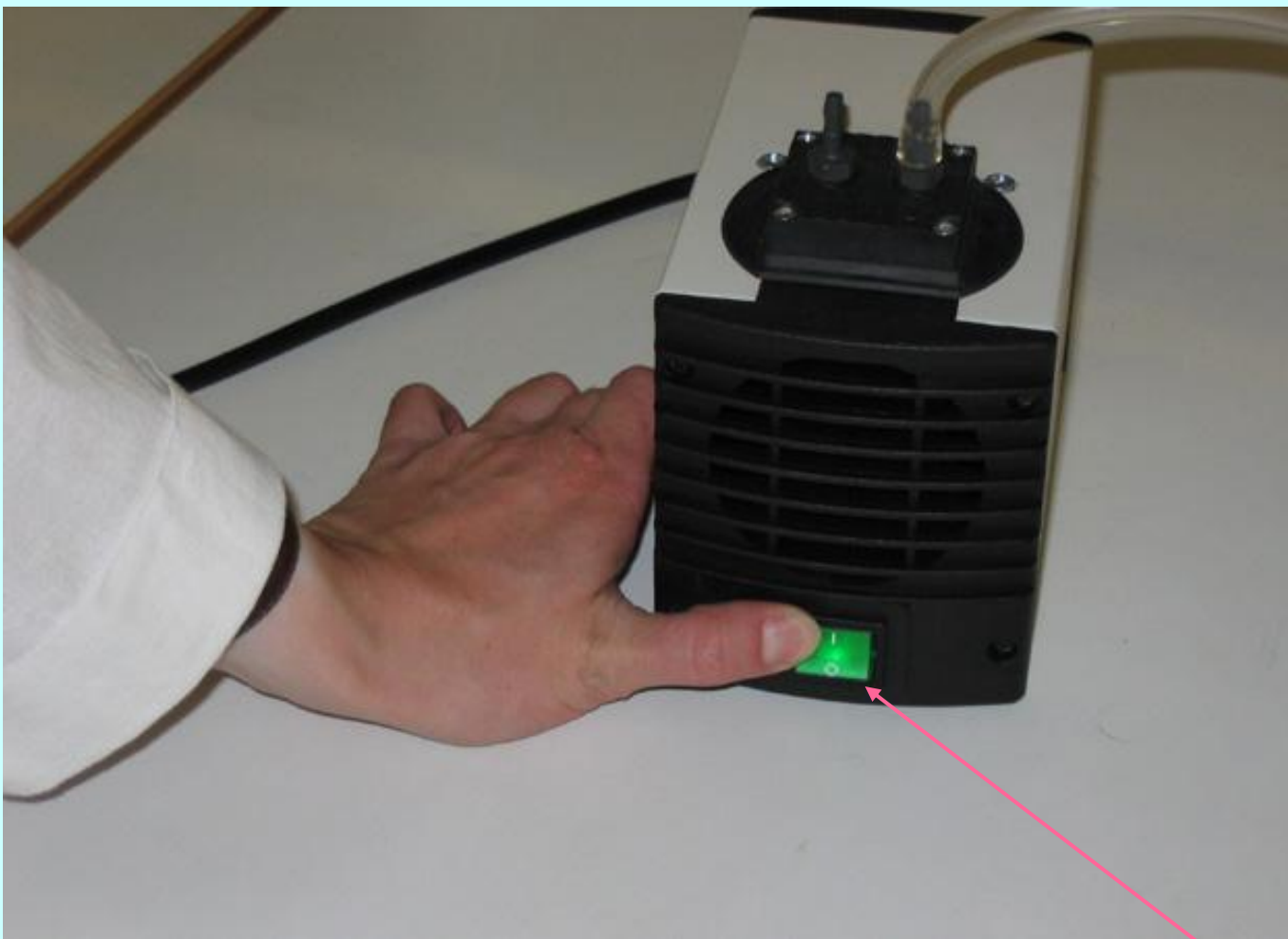
Во время элюирования вакуум желательно поддерживать на уровне примерно 30-40 кПа (по показанию манометра).

**ВНИМАНИЕ!** Предельно допустимый уровень давления составляет 65 кПа



4. Элюат собирается в емкости для слива

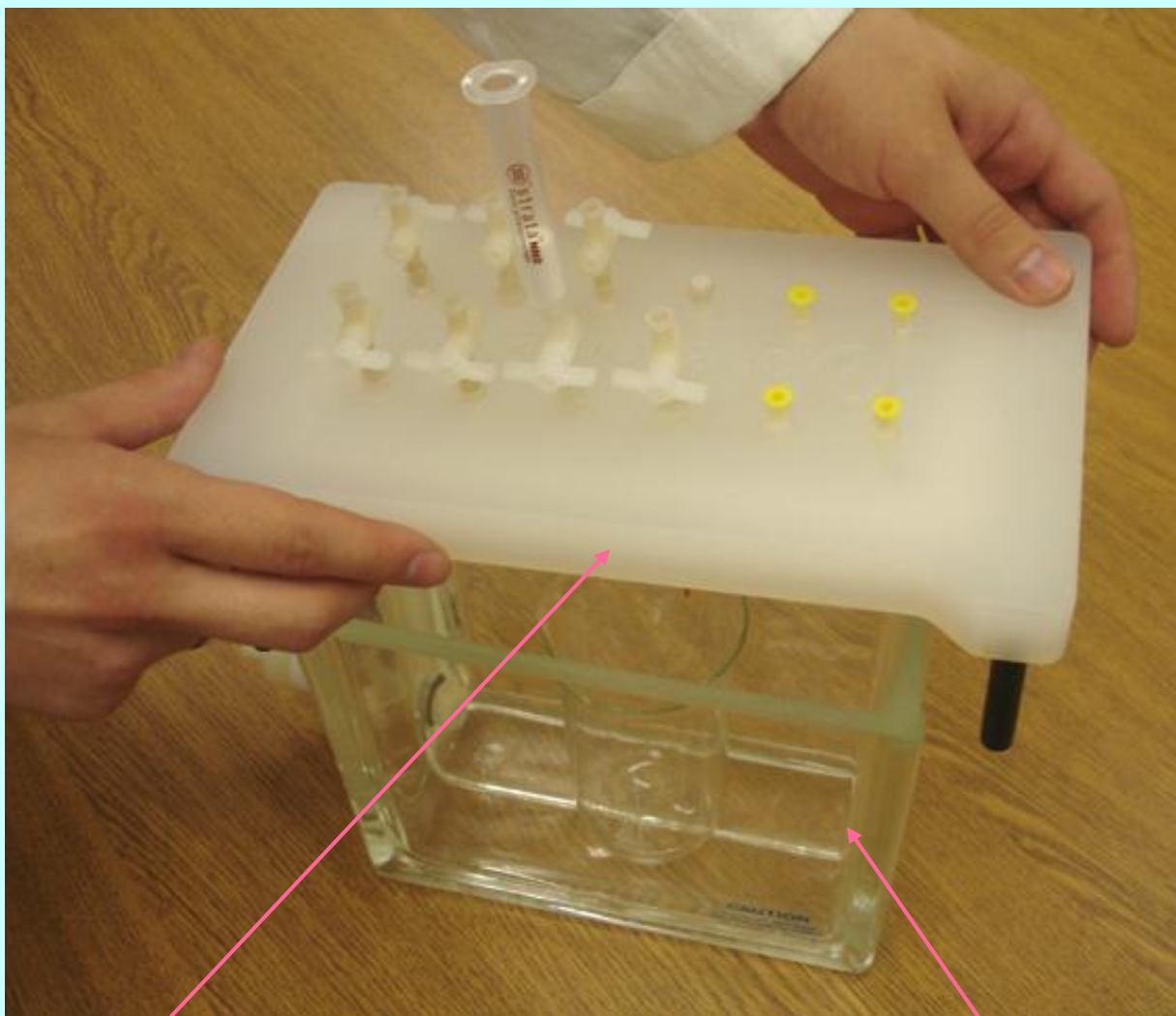




5. По окончании процесса элюирования вакуумный насос выключается

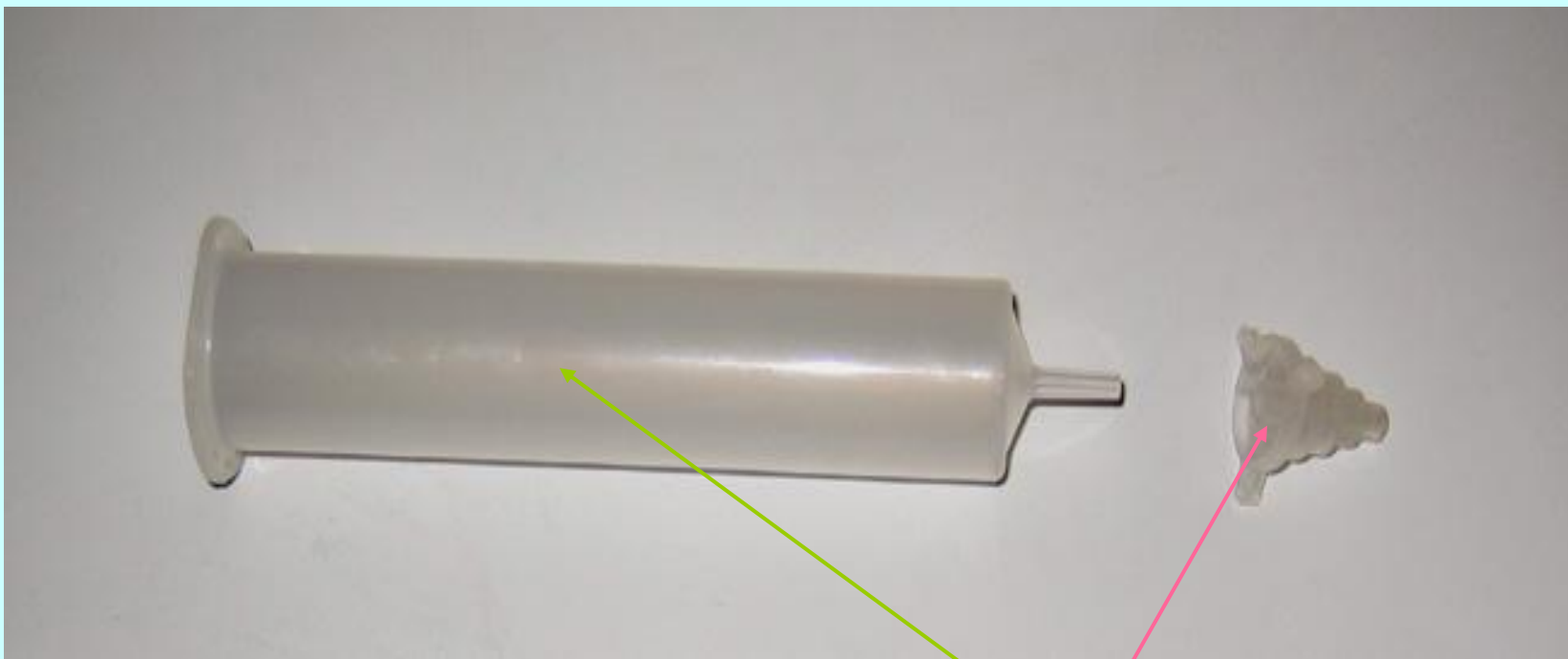


6. Вакуум в системе сбрасывают, максимально открывая отверстие вакуумной линии при помощи регулировочного вентиля



7. Крышка устройства снимается с камеры

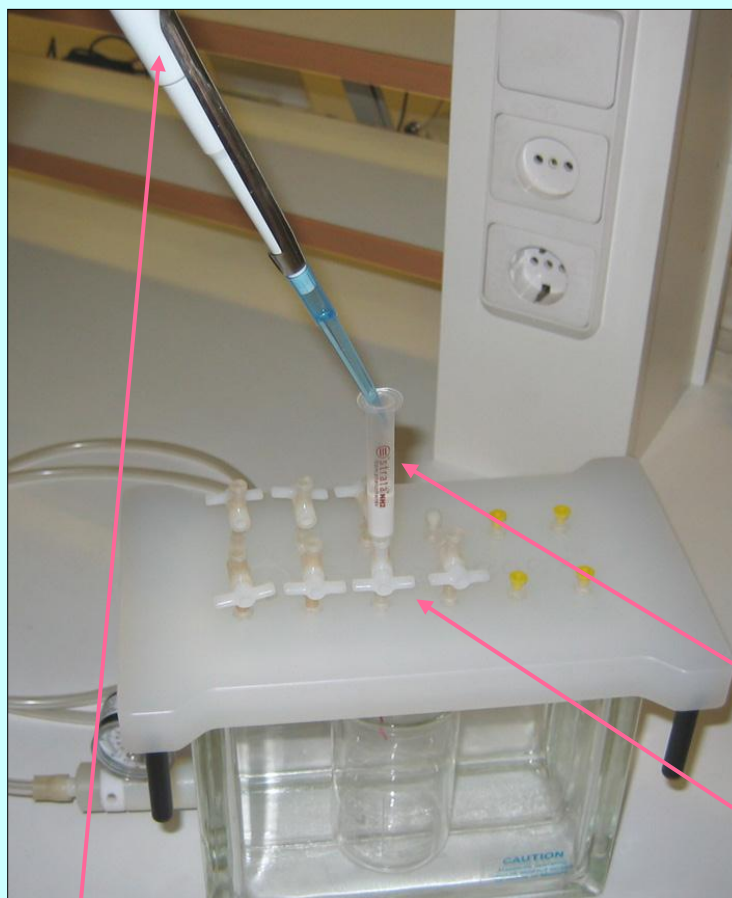
# НАНЕСЕНИЕ ПРОБЫ



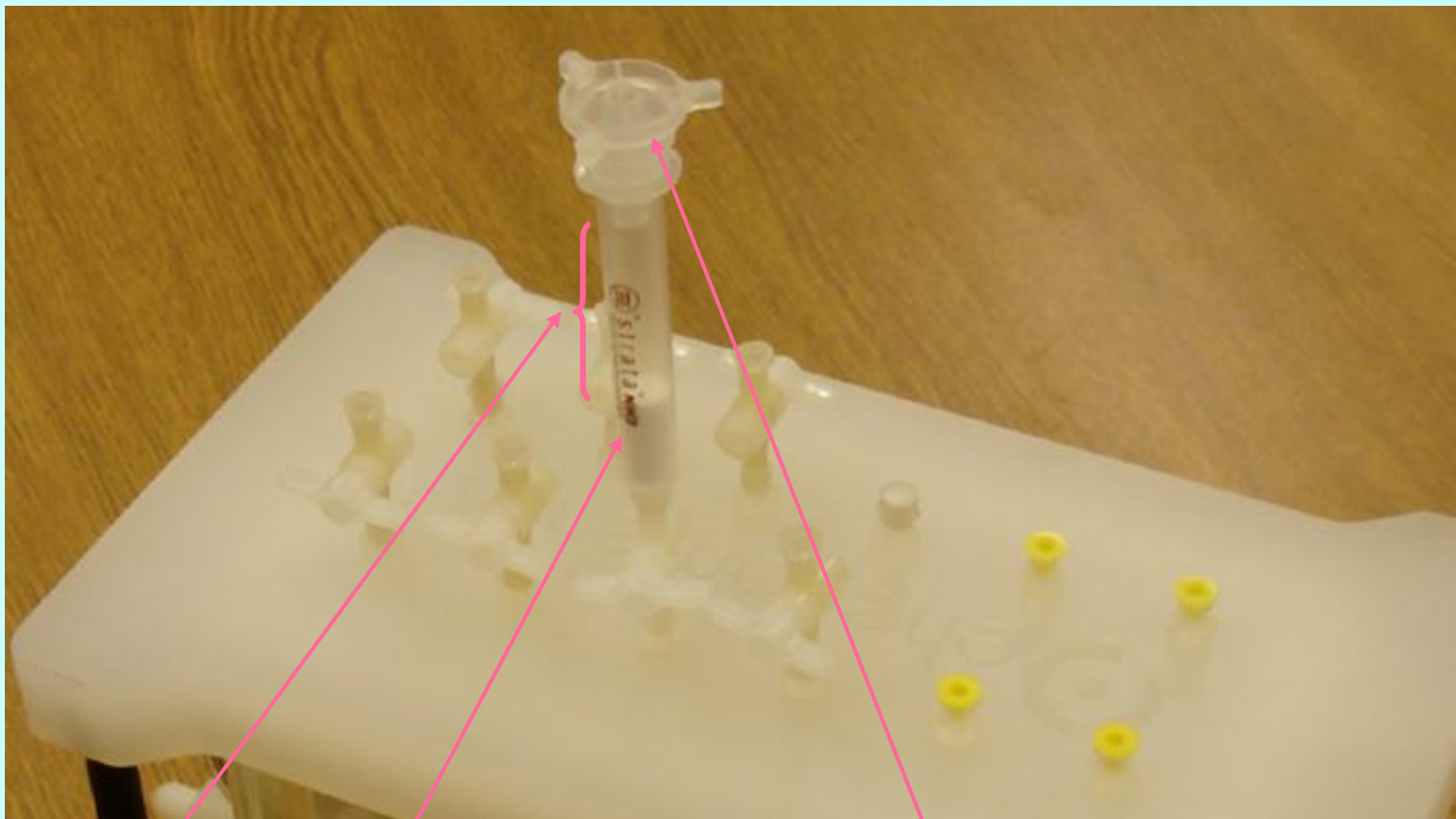
За процессами кондиционирования и уравнивания следует нанесение пробы

1. Для нанесения проб больших объемов применяются резервуары с адаптерами.

В качестве резервуара может быть использован корпус обычного одноразового медицинского пластикового шприца

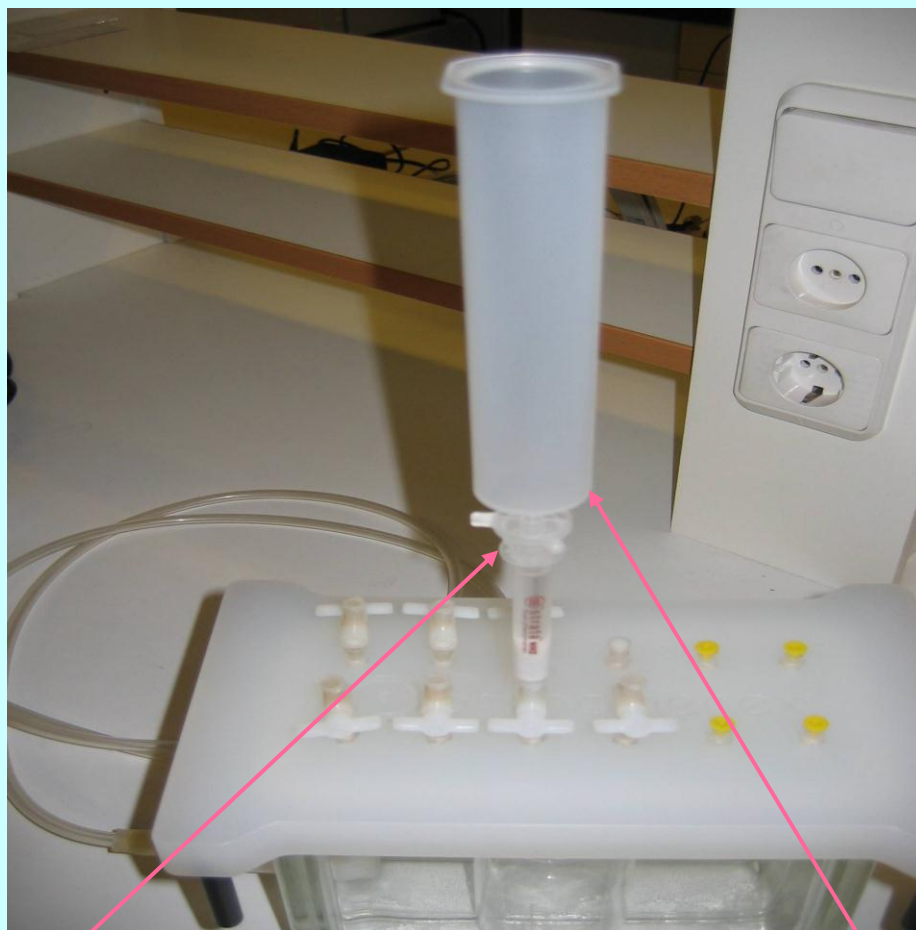


2. С помощью пипет-дозатора или пипетки на патрон наносится количество пробы, составляющее около  $3/4$  вместимости патрона. Запорный кран под патроном должен быть **закрыт**



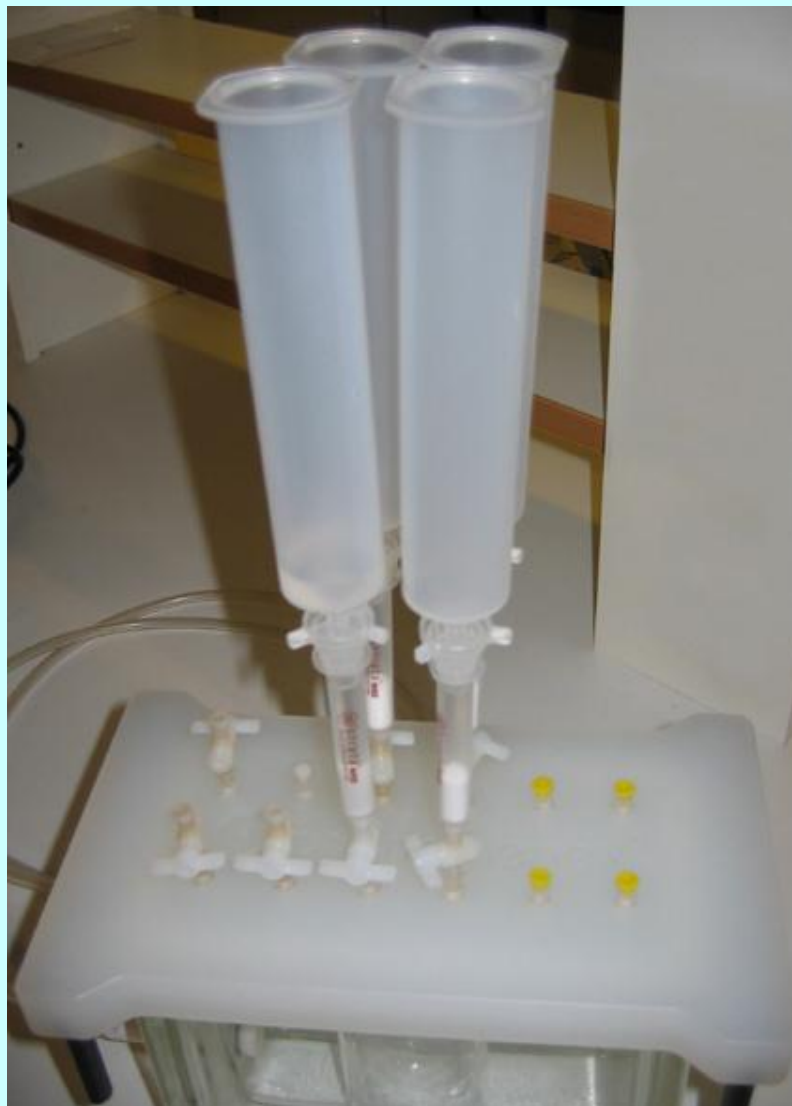
3. К патрону присоединяется адаптер.

Это необходимо, если объем пробы по сравнению с «мертвым» объемом патрона достаточно велик – чтобы постоянно не подливать пробу в патрон



4. К адаптеру присоединяется резервуар

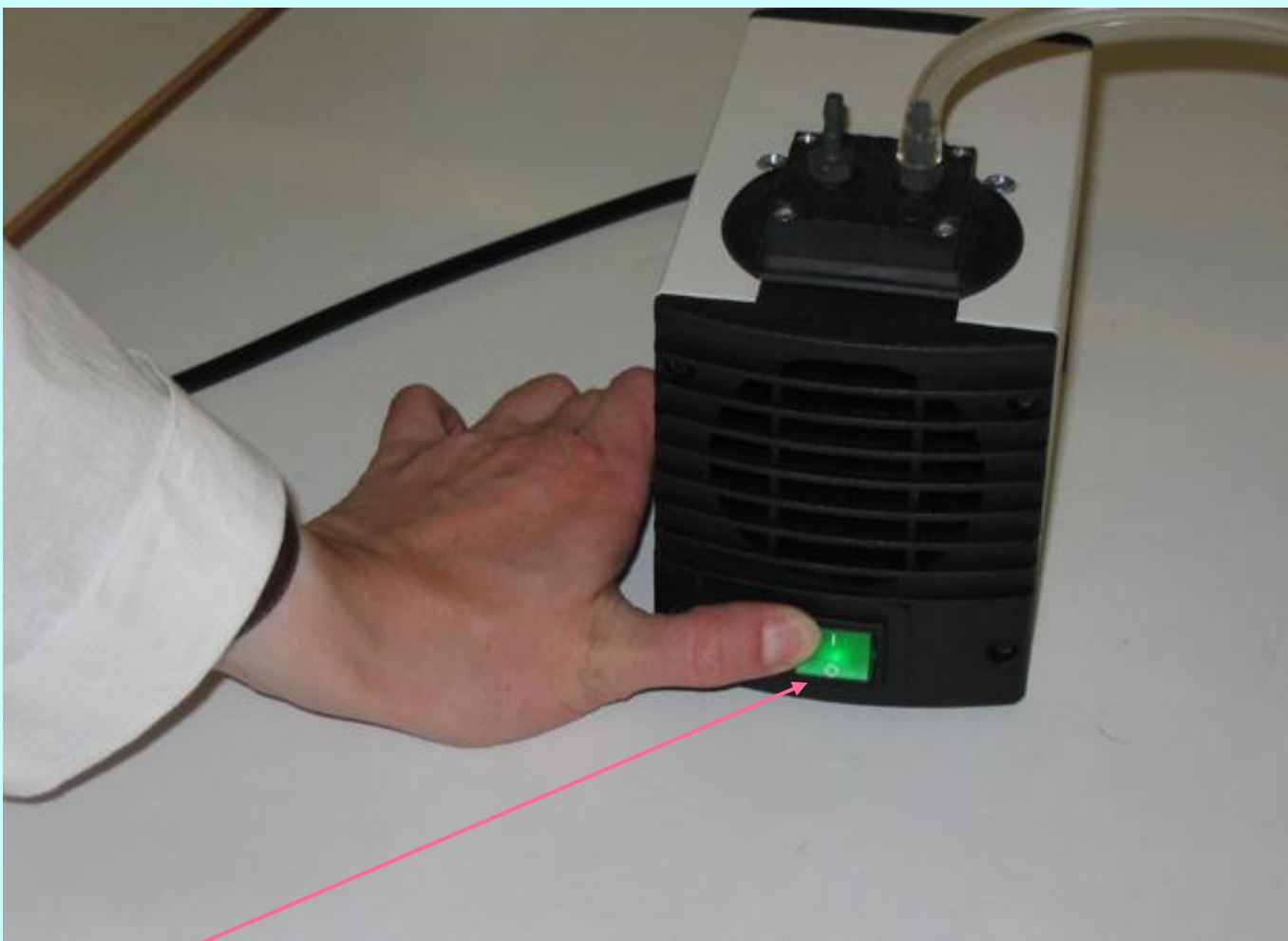




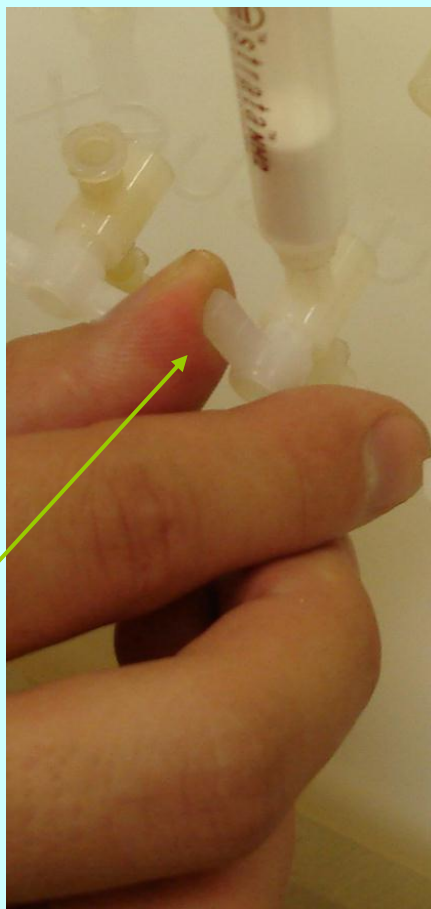
Вид установки сверху в случае одновременного использования четырех позиций для ТФЭ



5. Из цилиндра (или другой емкости) в резервуар наливается проба

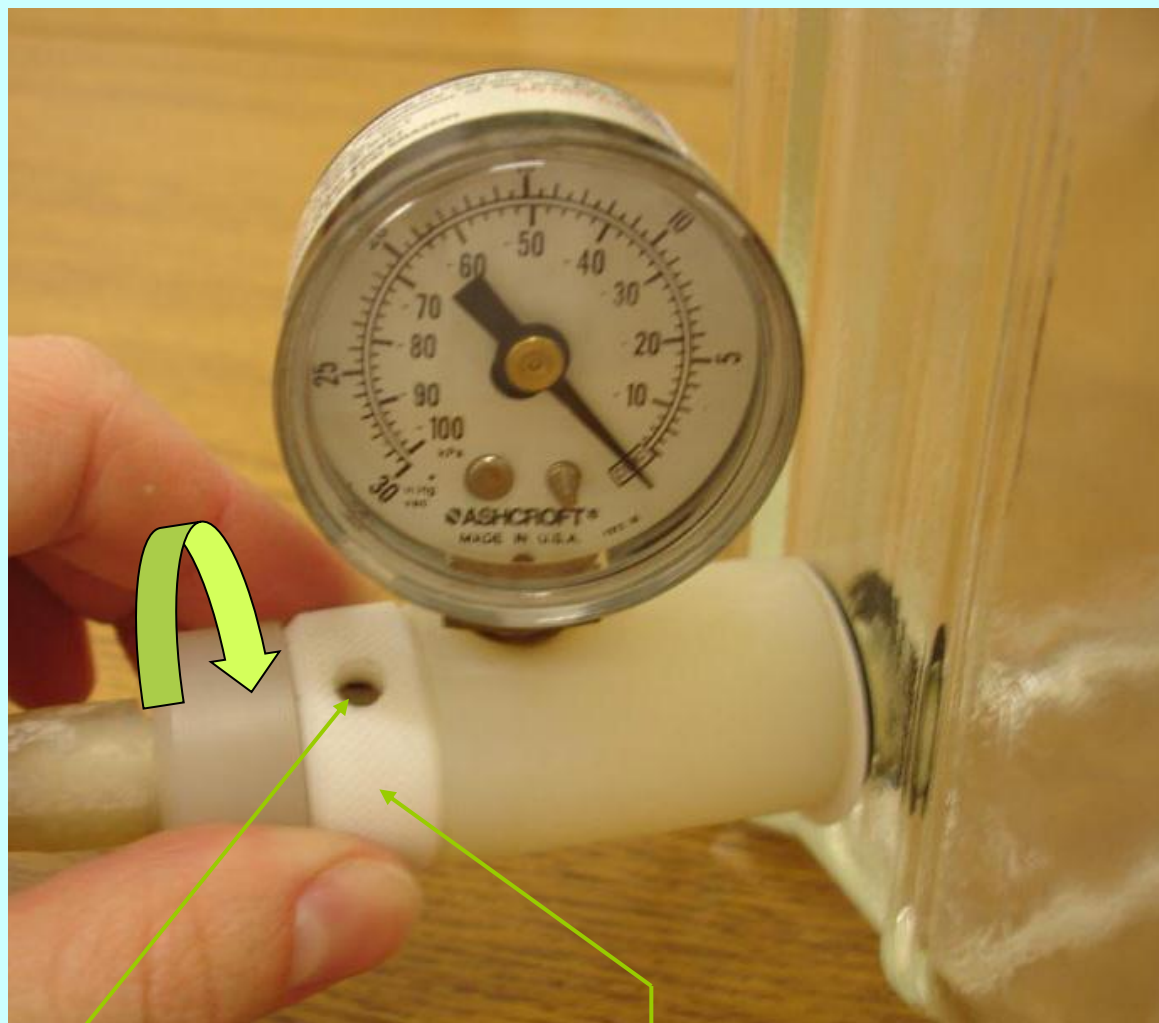


6. Включается вакуумный насос. Запорные краны при этом должны быть закрыты

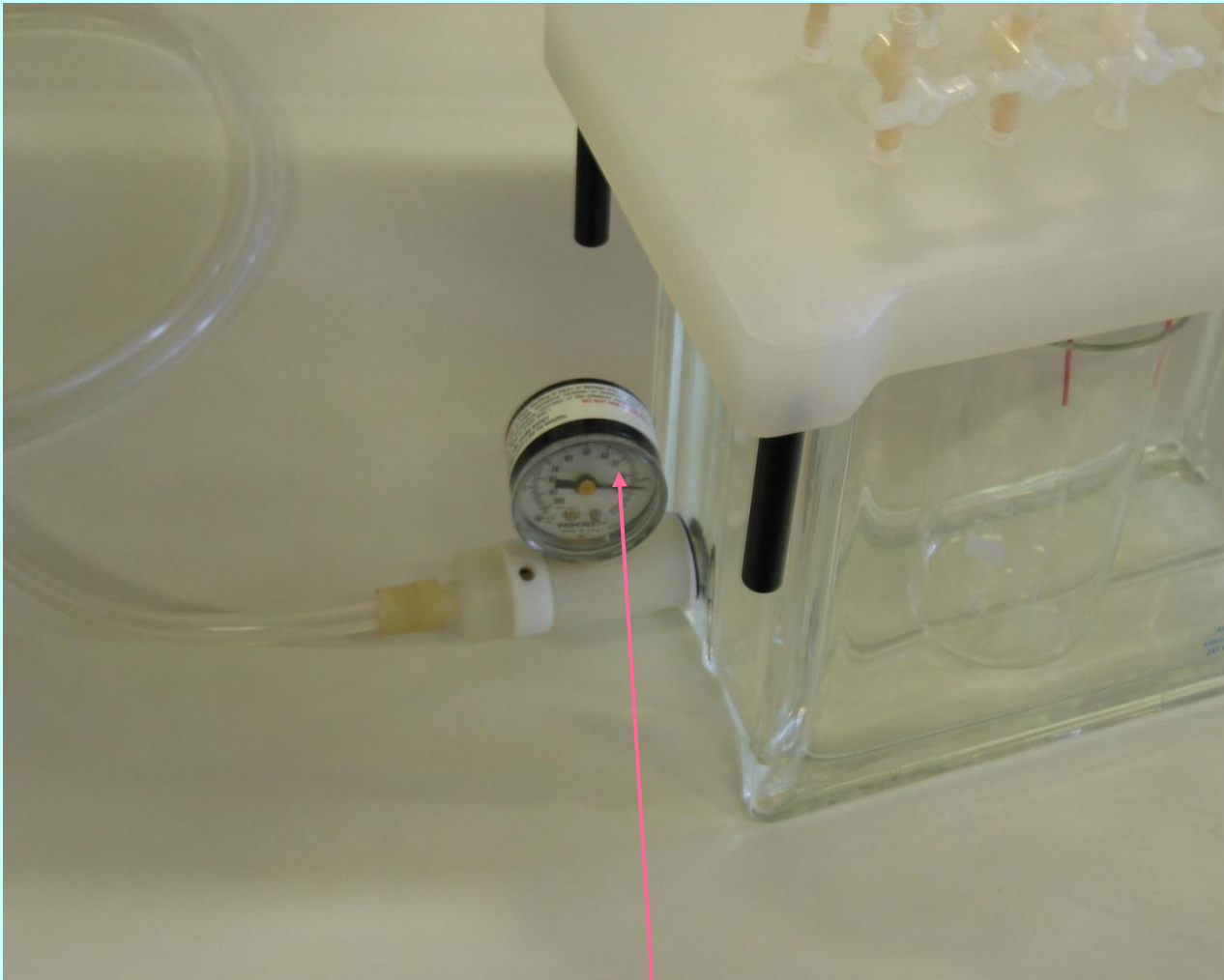


7. Запорный кран поворачивается в положение, позволяющее поддерживать нужную скорость элюирования.

Управление скоростью потока жидкости, проходящей через патрон, осуществляется с помощью запорного крана,

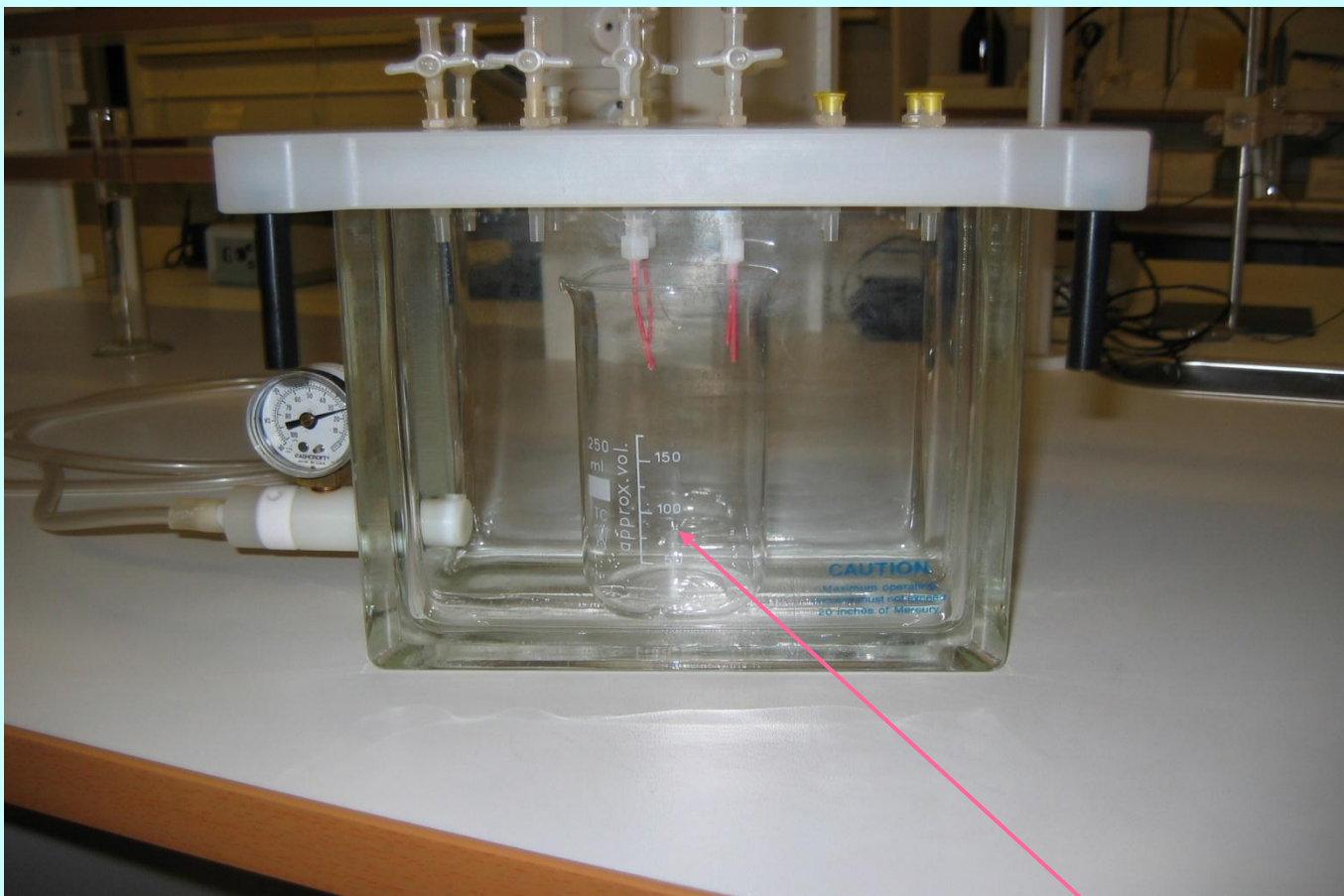


а также регулированием давления в системе (путем изменения размера отверстия в вакуумной линии регулирующим вентилям или с помощью незадействованных для твердофазной экстракции запорных кранов)

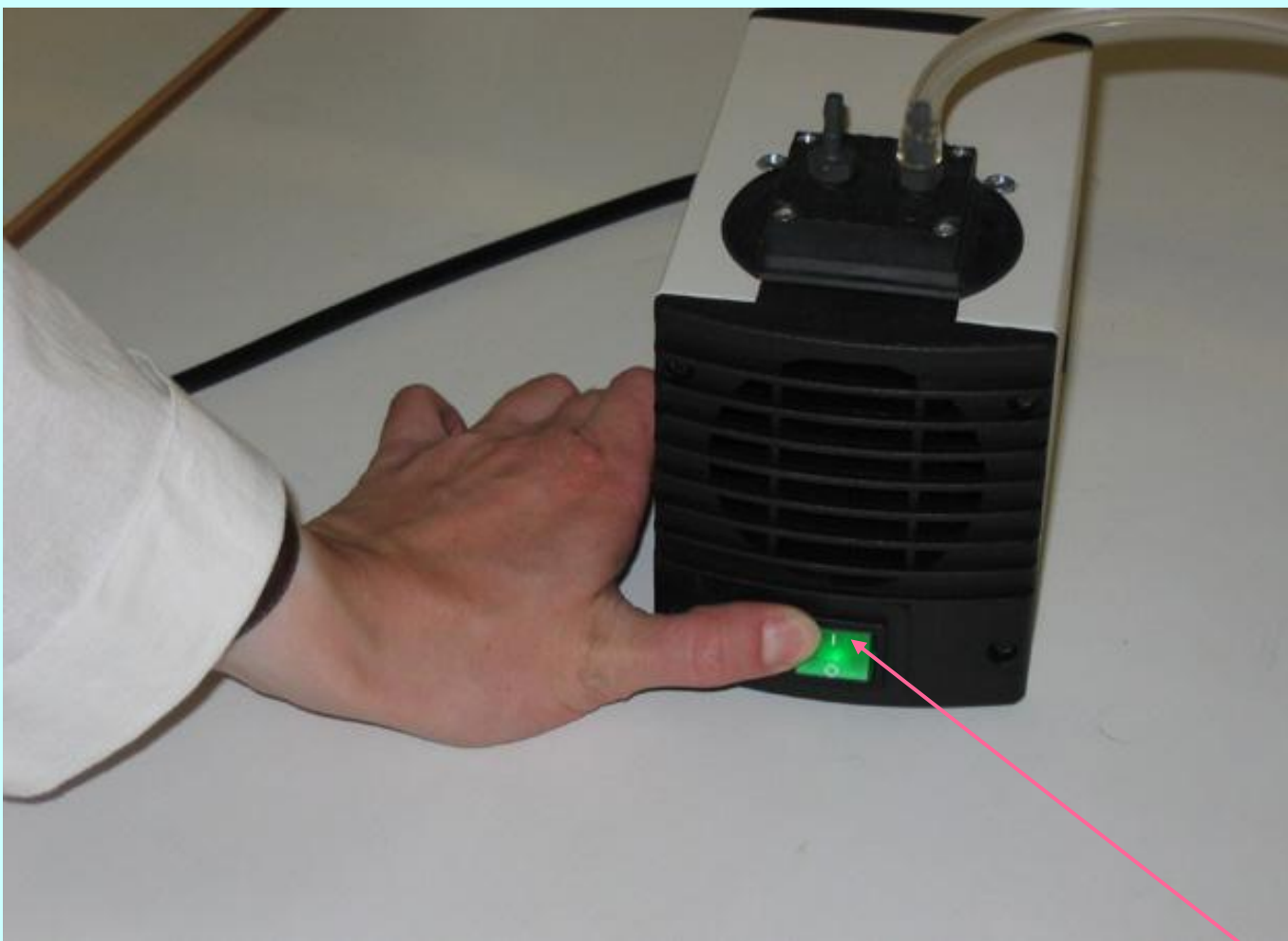


Во время элюирования вакуум желательно поддерживать на уровне примерно 30-40 кПа (по показанию манометра).

**ВНИМАНИЕ!** Предельно допустимый уровень давления составляет 65 кПа



8. Элюат собирается в емкости для слива

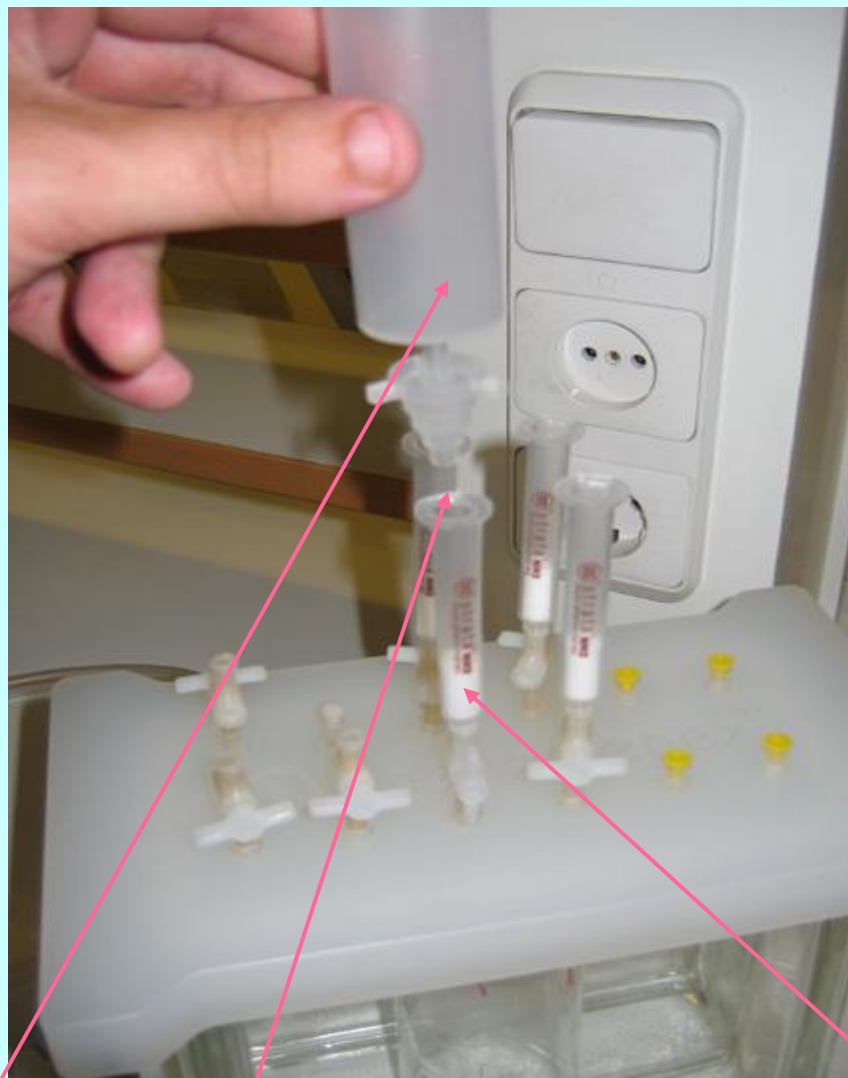


9. По окончании процесса элюирования вакуумный насос выключается



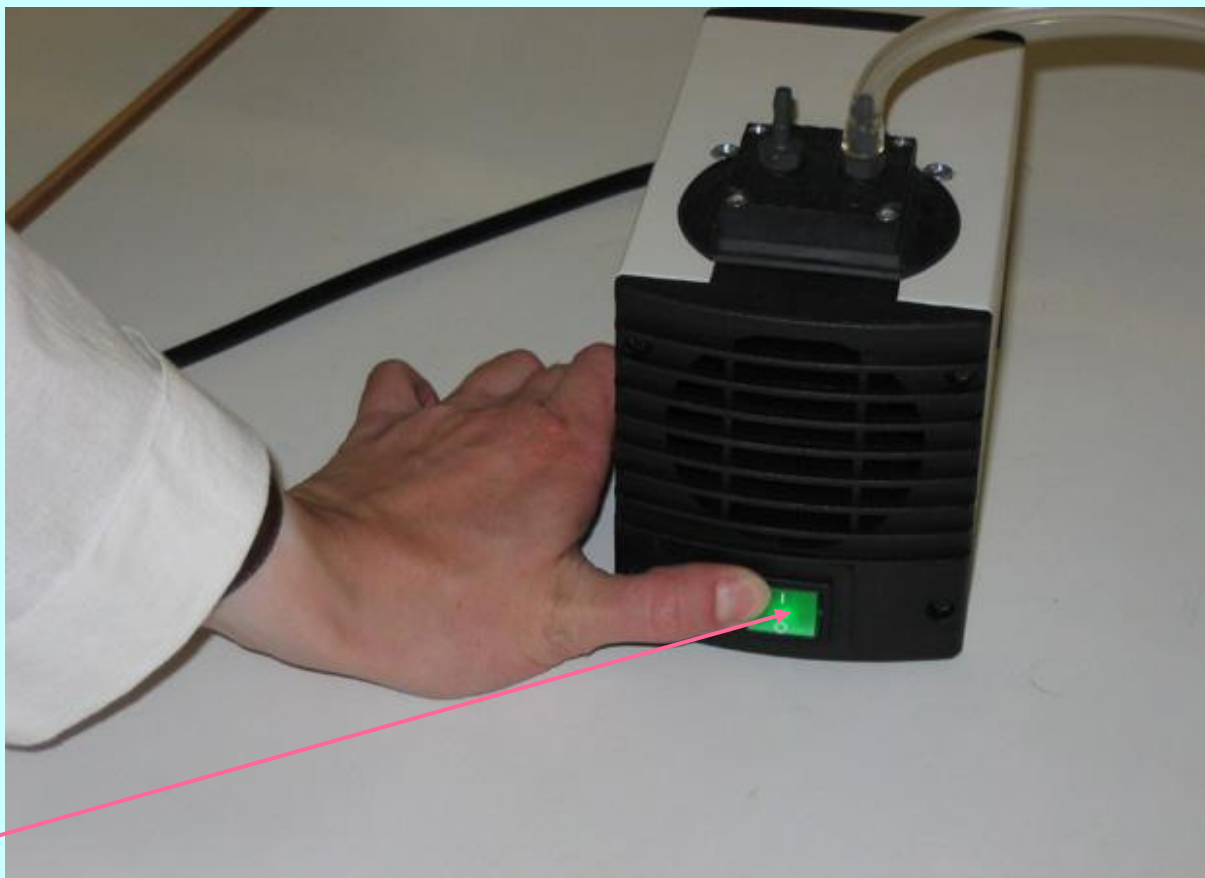


10. Вакуум в системе сбрасывают, максимально открывая отверстие вакуумной линии при помощи регулировочного вентиля



11. Резервуар с адаптером снимается с патрона

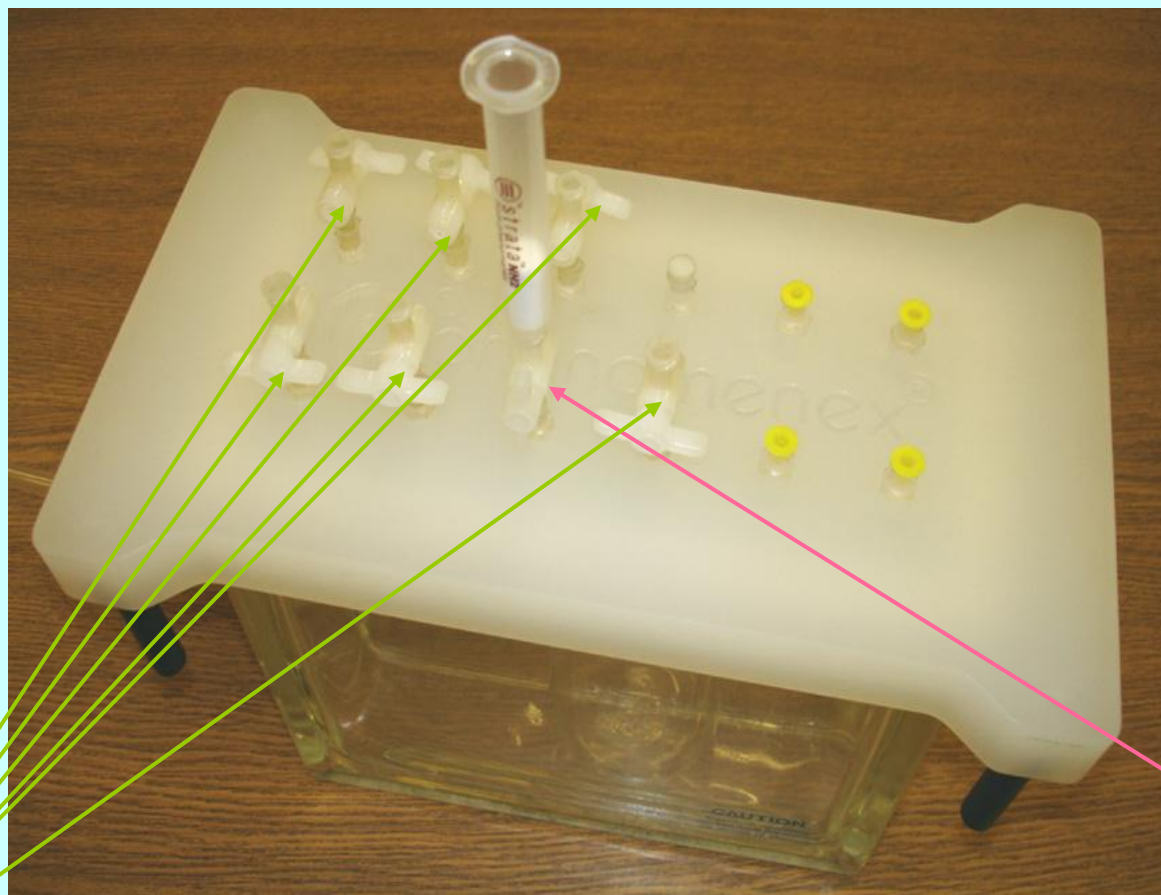
# СУШКА СОРБЕНТА



После удаления резервуара с адаптером во многих методах ТФЭ необходима сушка сорбента.

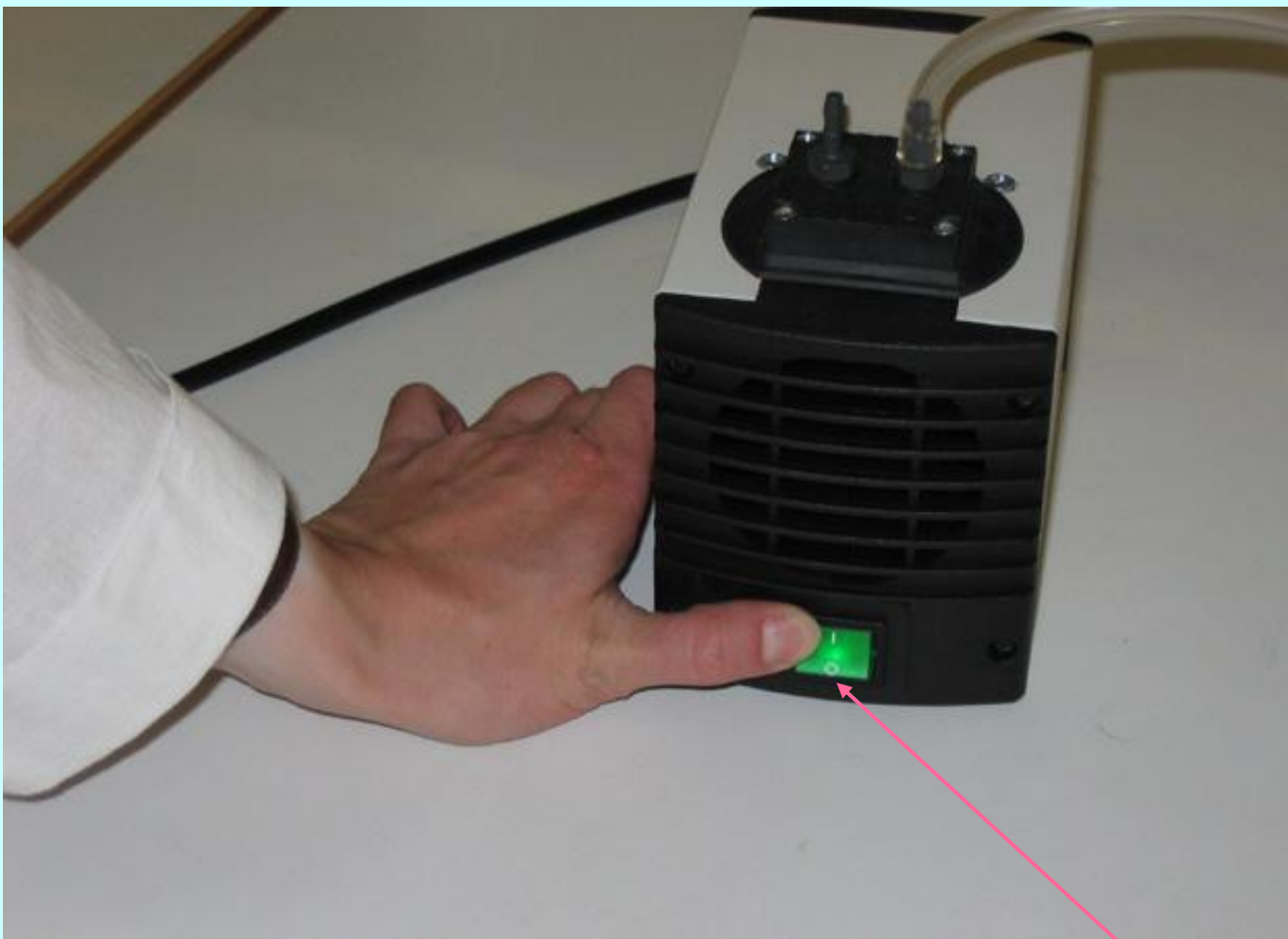
Для ее осуществления, **не разбирая установки**, следует:

1. Включить вакуумный насос. Все запорные краны, кроме крана, соединенного с высушиваемым патроном, при этом должны быть **закр~~ы~~ты**



Все запорные краны, кроме крана, соединенного с высушиваемым патроном, закрываются.

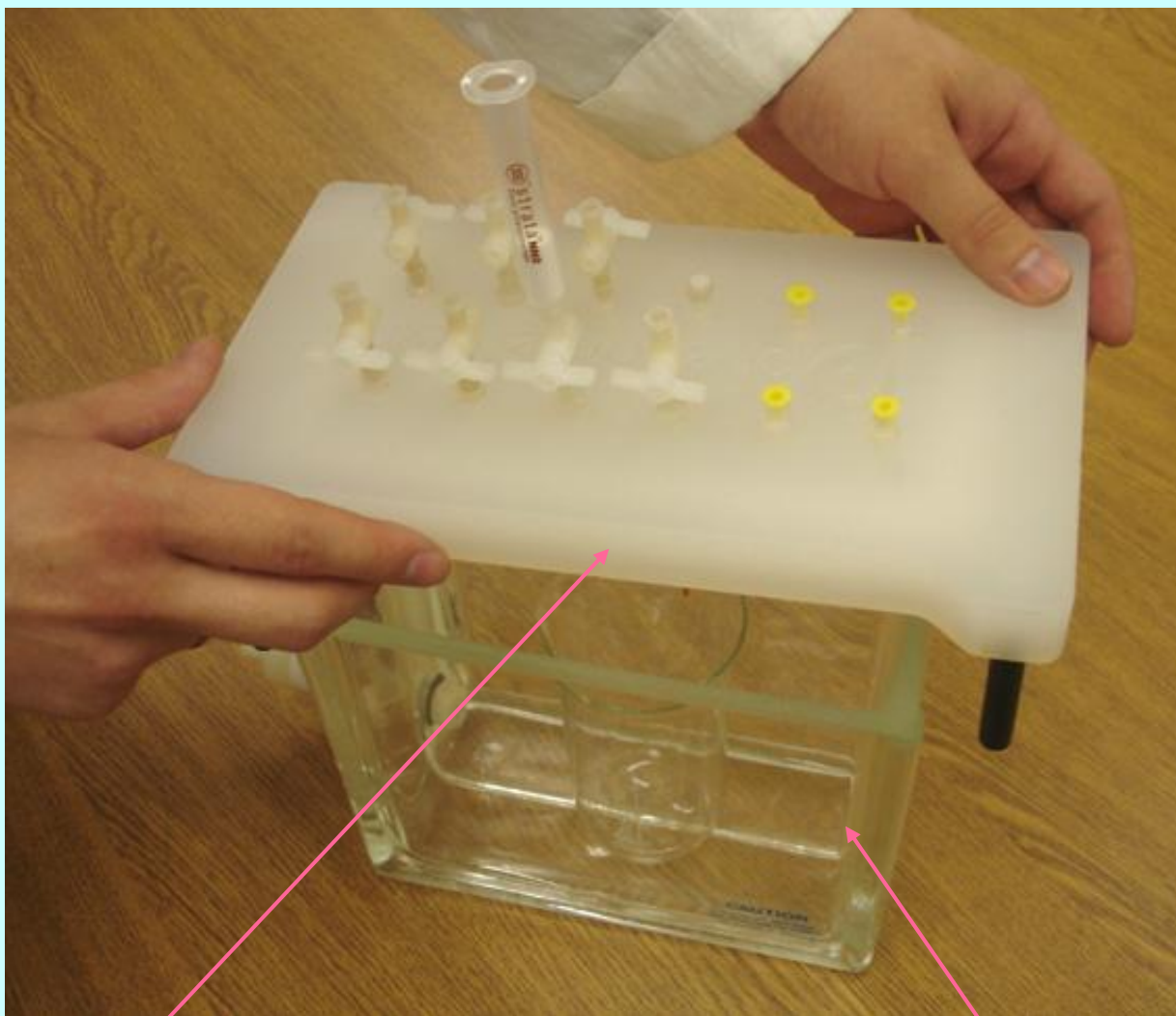
Время сушки указано в методике; сушку следует производить, контролируя вакуум в системе. Предельно допустимый уровень вакуума – 65 КПа



2. По окончании процесса сушки вакуумный насос  
выключается



3. Вакуум в системе сбрасывают, максимально открывая отверстие вакуумной линии при помощи регулировочного вентиля



4. Крышка устройства снимается с камеры



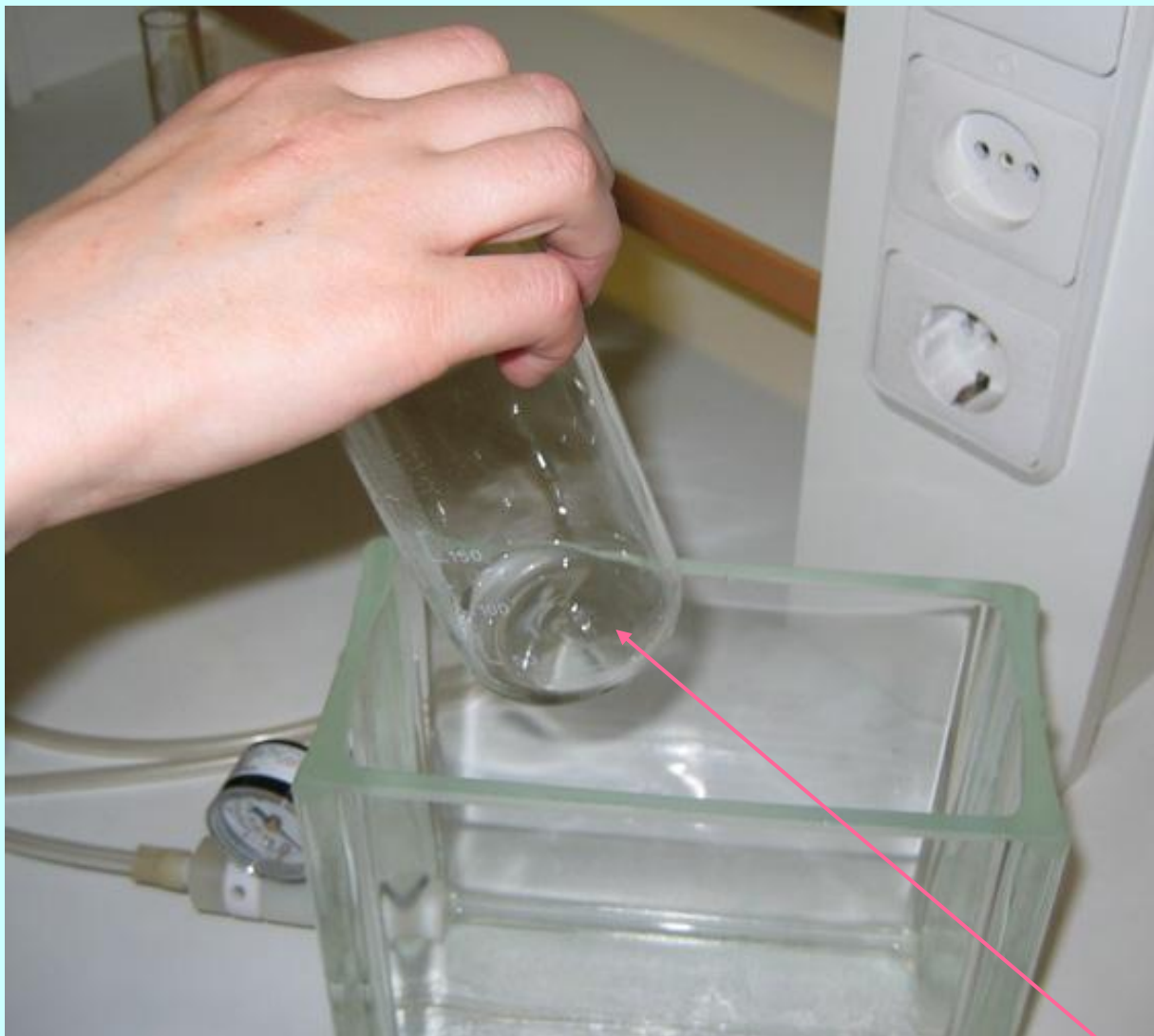
# ПРОМЫВКА СОРБЕНТА

В зависимости от природы анализируемого вещества промывка сорбента может осуществляться как до процесса его сушки, так и после него.

**Условия промывки** – состав растворителя (растворителей), объемы и скорость элюирования отражены в методиках выполнения измерения и методических указаниях.

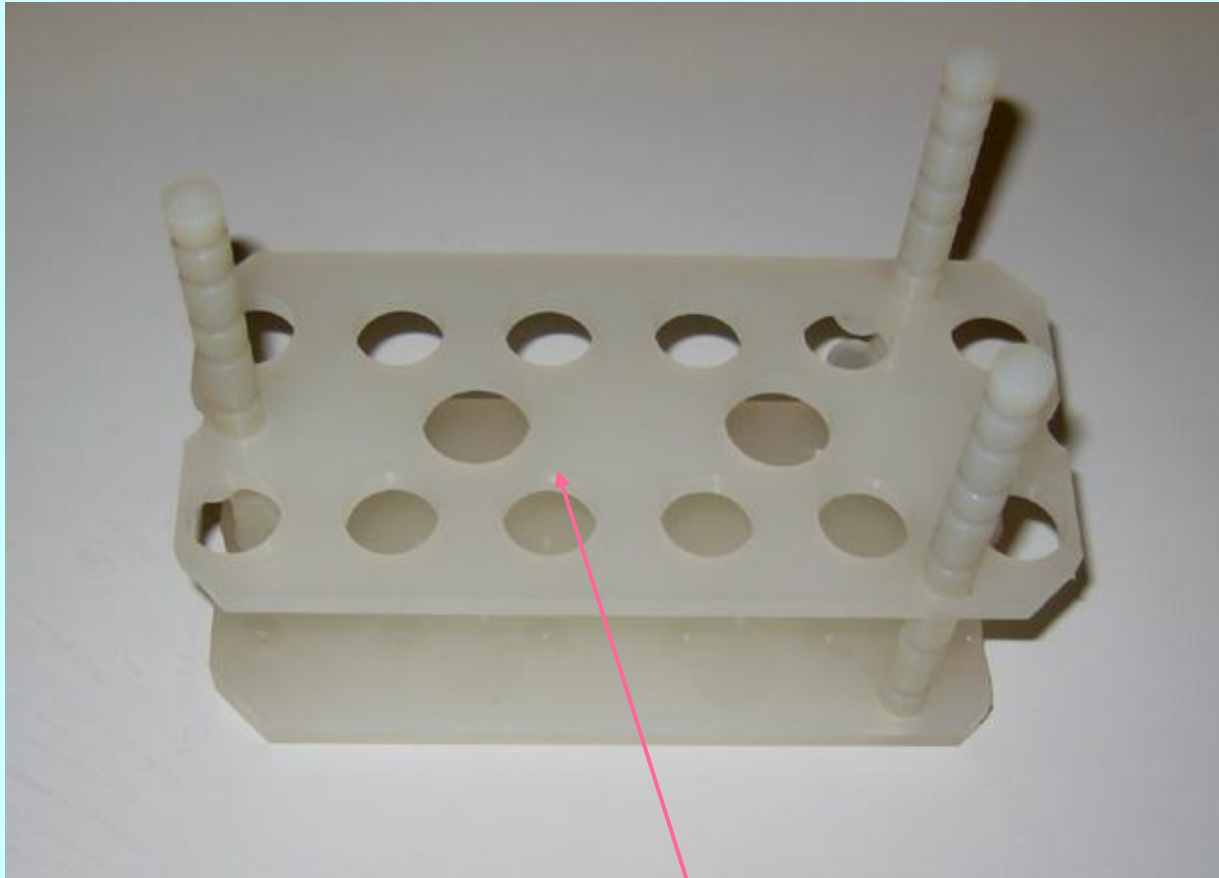
Техника нанесения растворителей на патрон при промывке аналогична применяемой в процессах кондиционирования/уравновешивания патрона ТФЭ (см. раздел «Кондиционирование/уравновешивание»).

Если метод требует использования нескольких растворителей, после нанесения и элюирования первого из них запорный кран закрывают, не допуская высушивания поверхности сорбента, и, не выключая вакуумный насос (обязательно следя за давлением в системе, чтобы его значение не превысило допустимого), наносят следующий. Таким образом процесс повторяют до использования последнего растворителя.

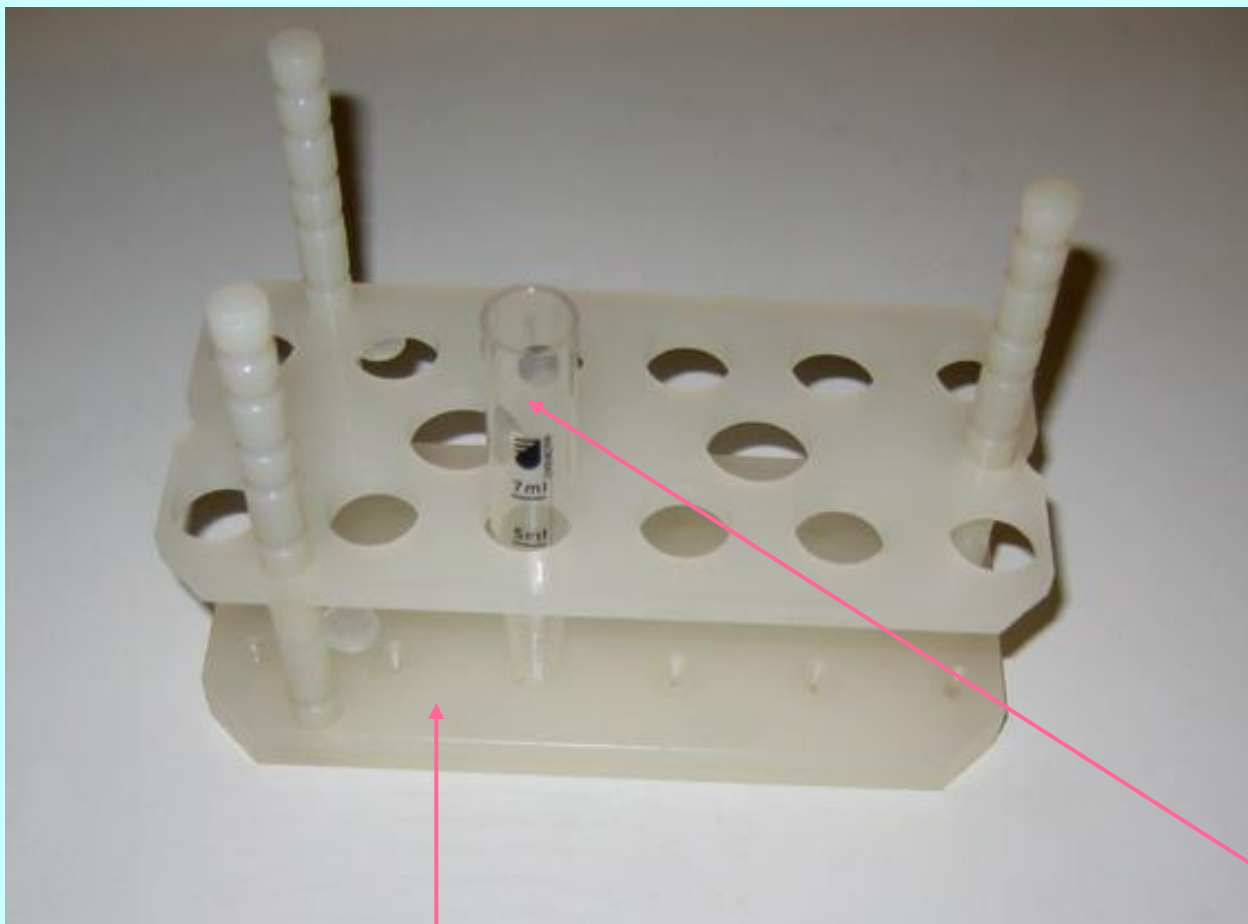


5. После промывки и сушки сорбента емкость для слива в (данном случае стакан) удаляется из камеры

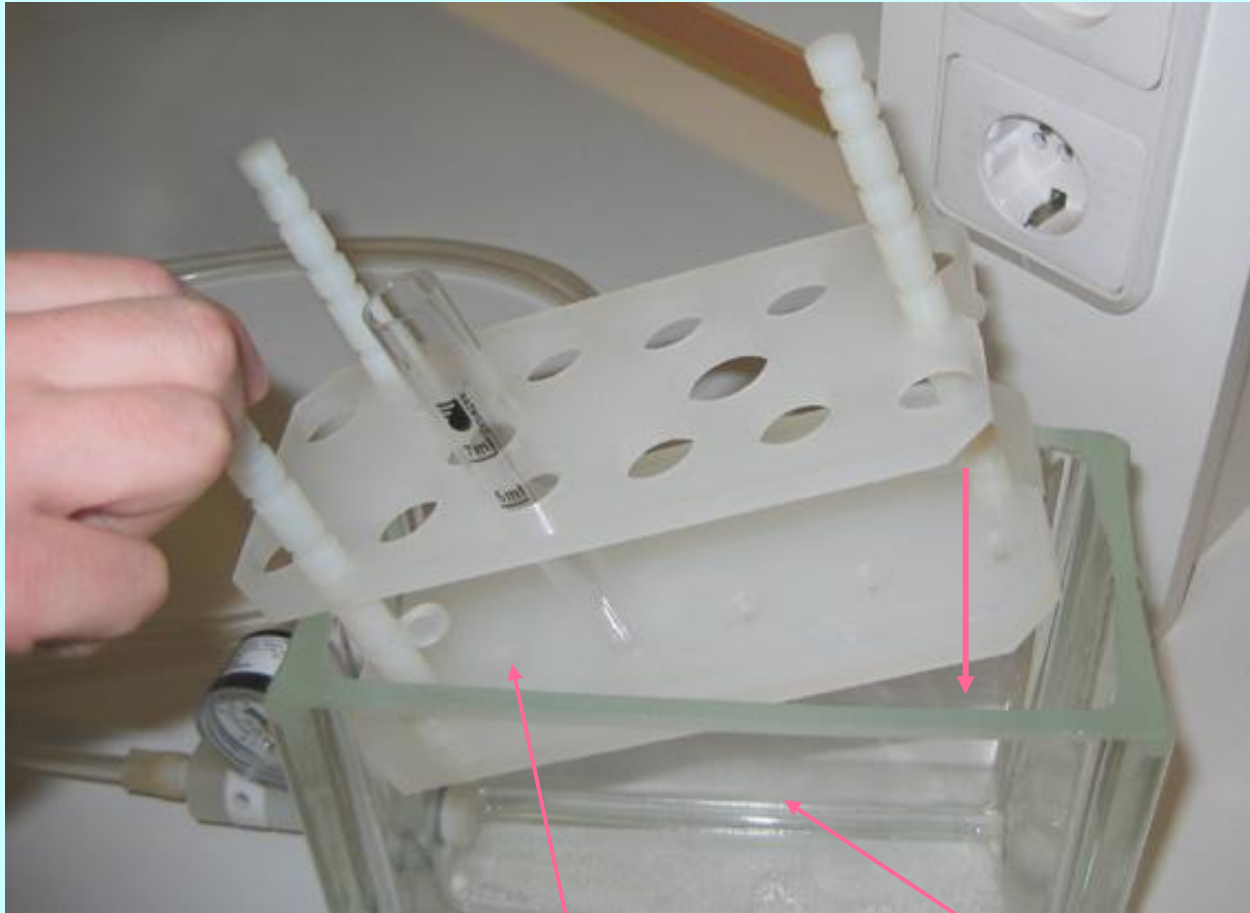
**ЭЛЮИРОВАНИЕ**  
**ЦЕЛЕВОГО**  
**КОМПОНЕНТА**



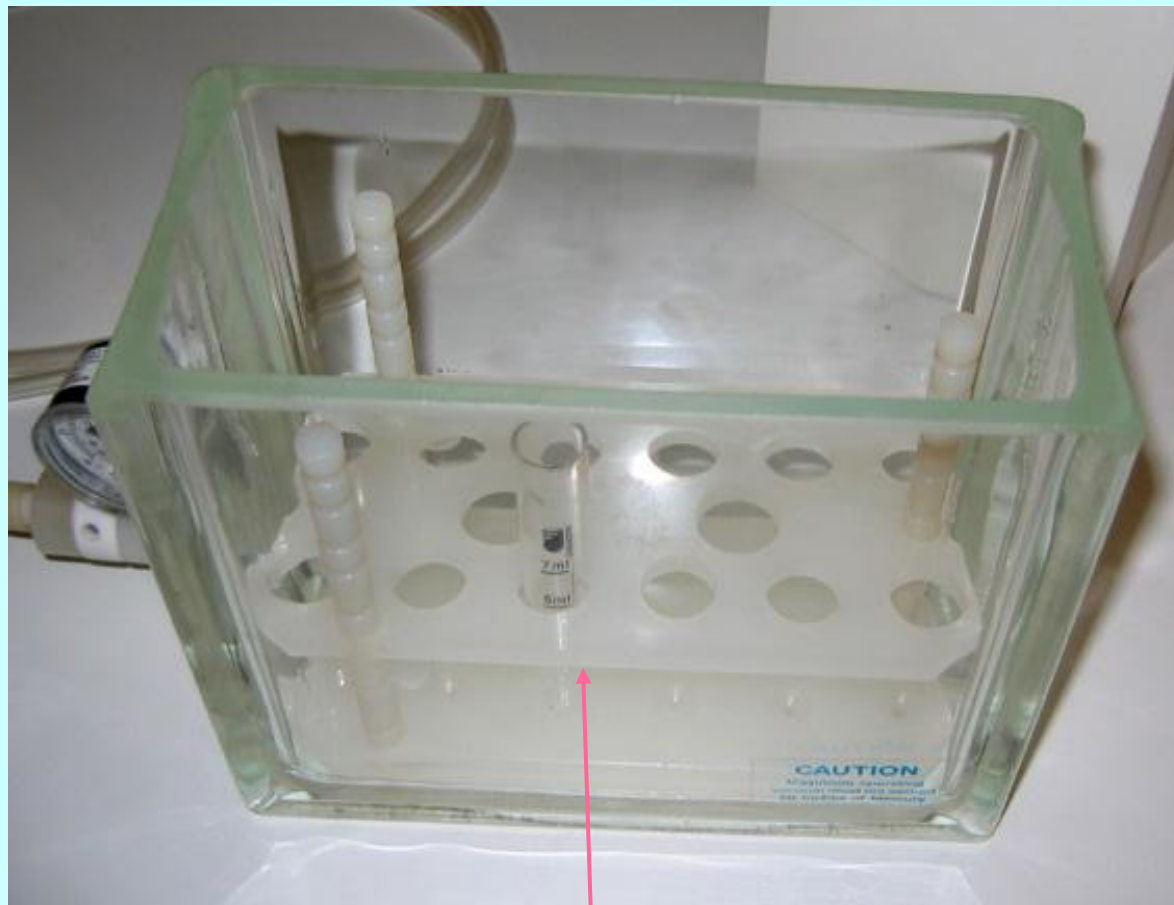
Далее проводится элюирование целевого компонента с патрона  
1. Готовится штатив для пробирок из комплекта устройства



2. В штатив для пробирок помещается пробирка с коническим дном. Пробирку следует устанавливать в ту позицию на штативе, которая будет находиться под иглой, задействованной в элюировании.

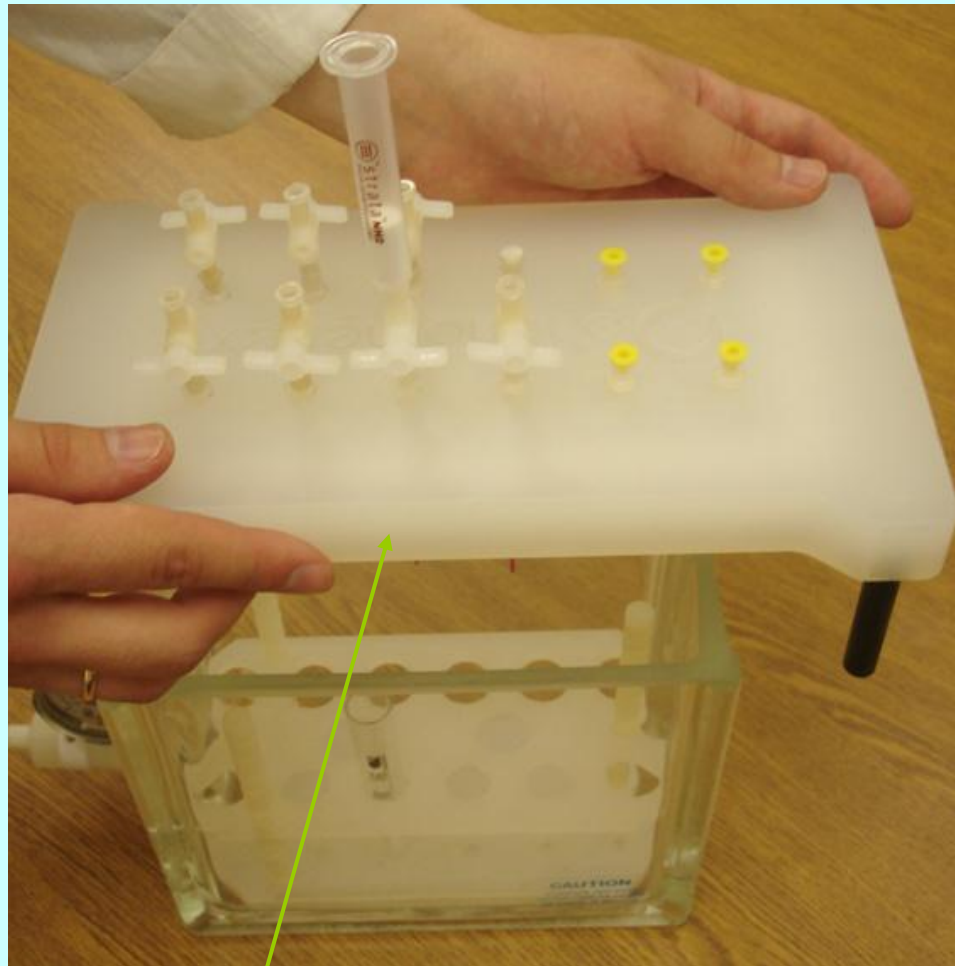


3. Штатив с пробиркой помещается в камеру

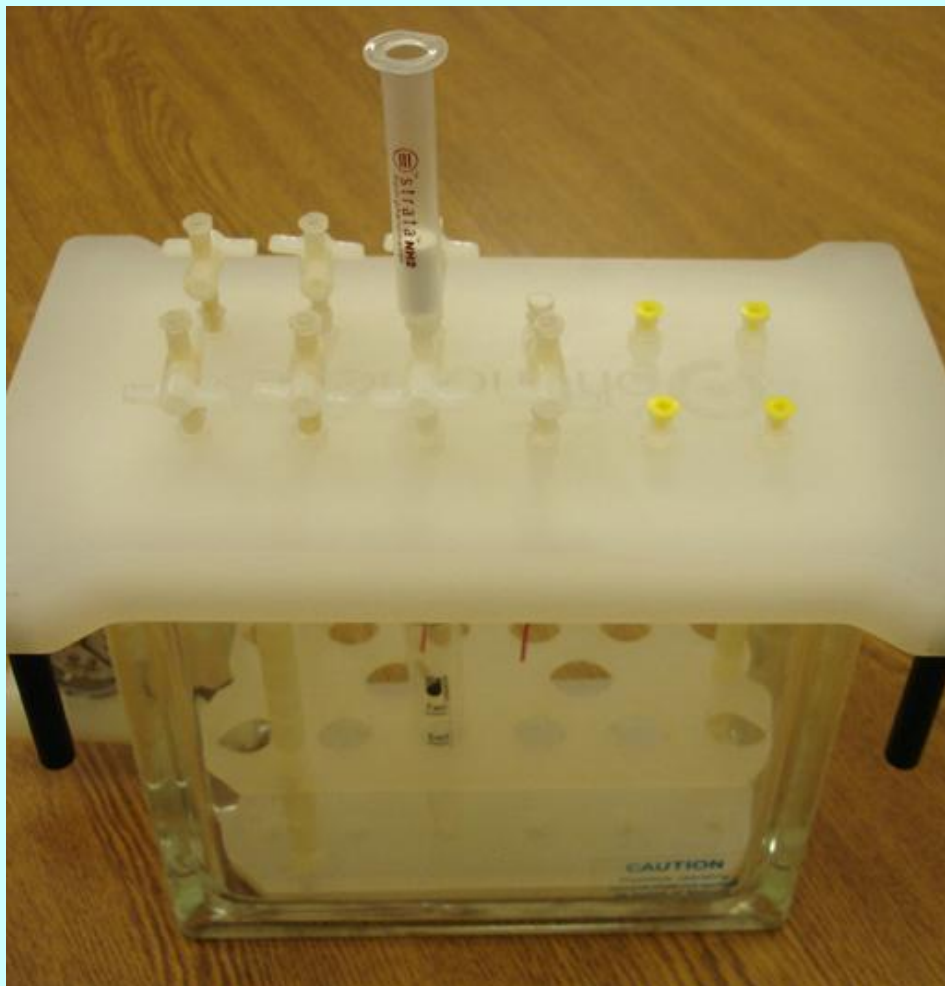


Штатив с пробиркой, помещенный в камеру





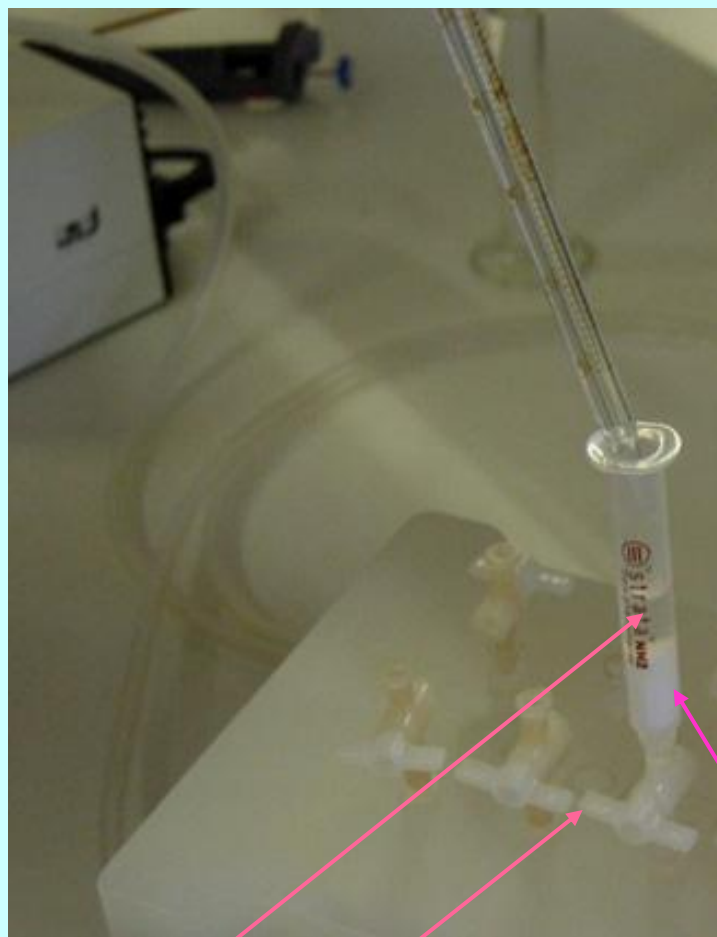
4. Камера закрывается крышкой устройства. Необходимо следить, чтобы игла была опущена в пробирку



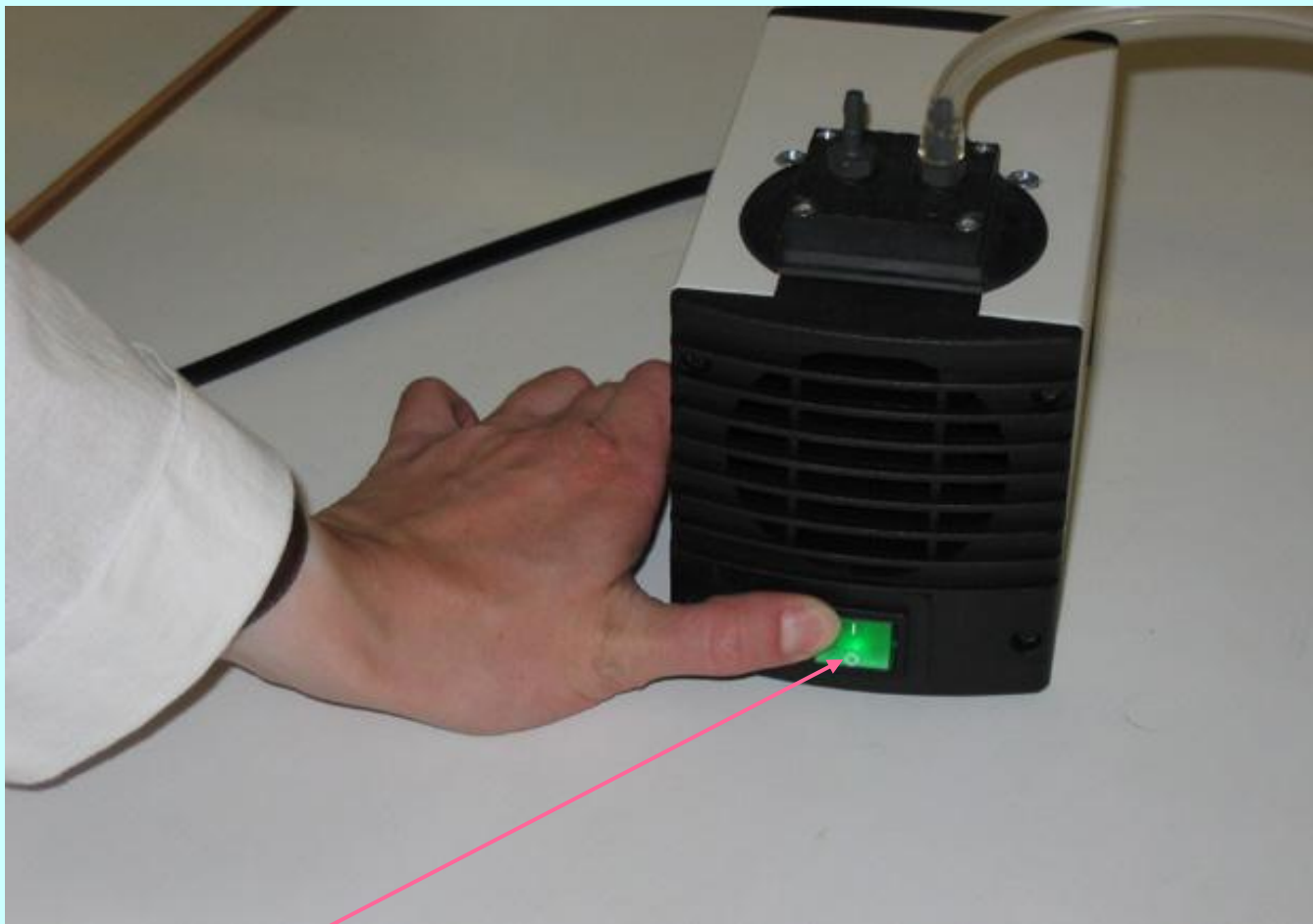
Установка, собранная для элюирования целевого компонента



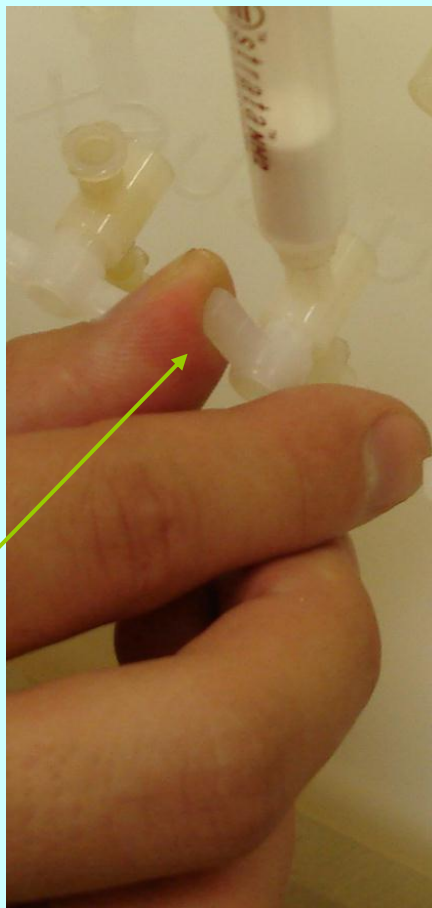
5. С помощью пипетки отбирается нужное количество элюирующей жидкости



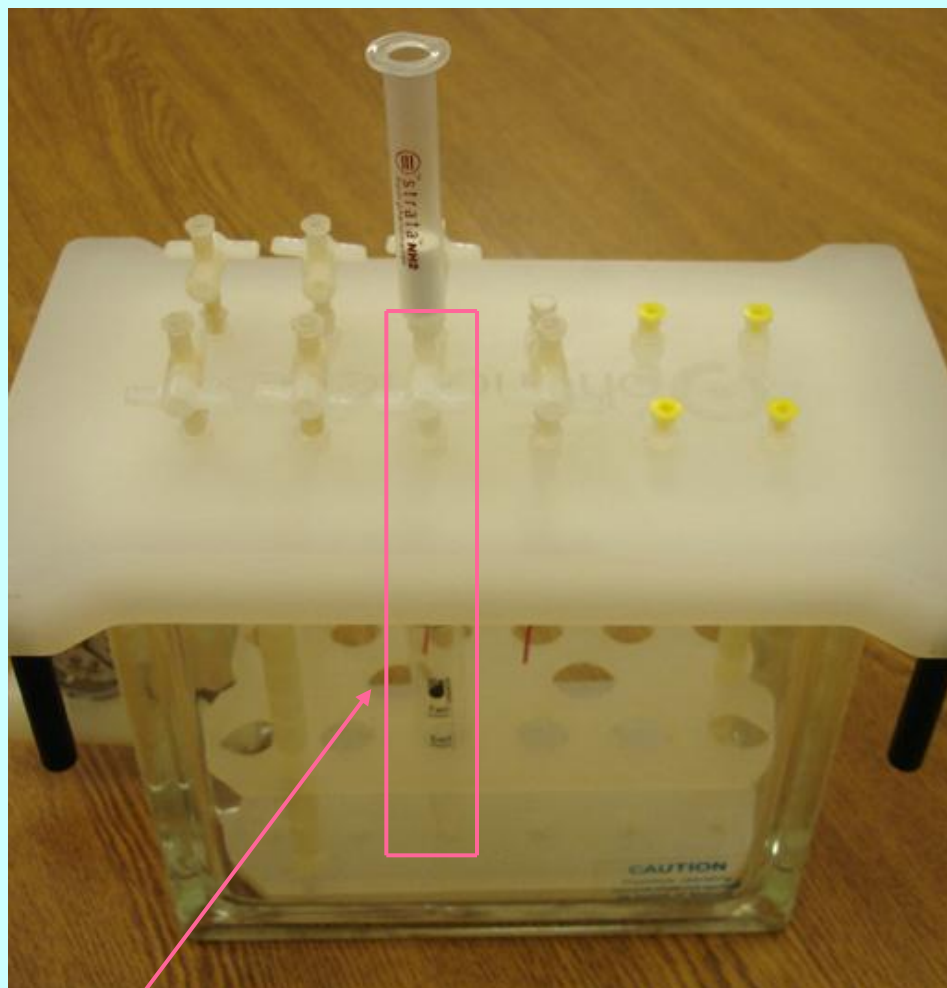
6. Производится загрузка элюирующей жидкости на патрон. При этом запорный кран должен быть **закрыт**



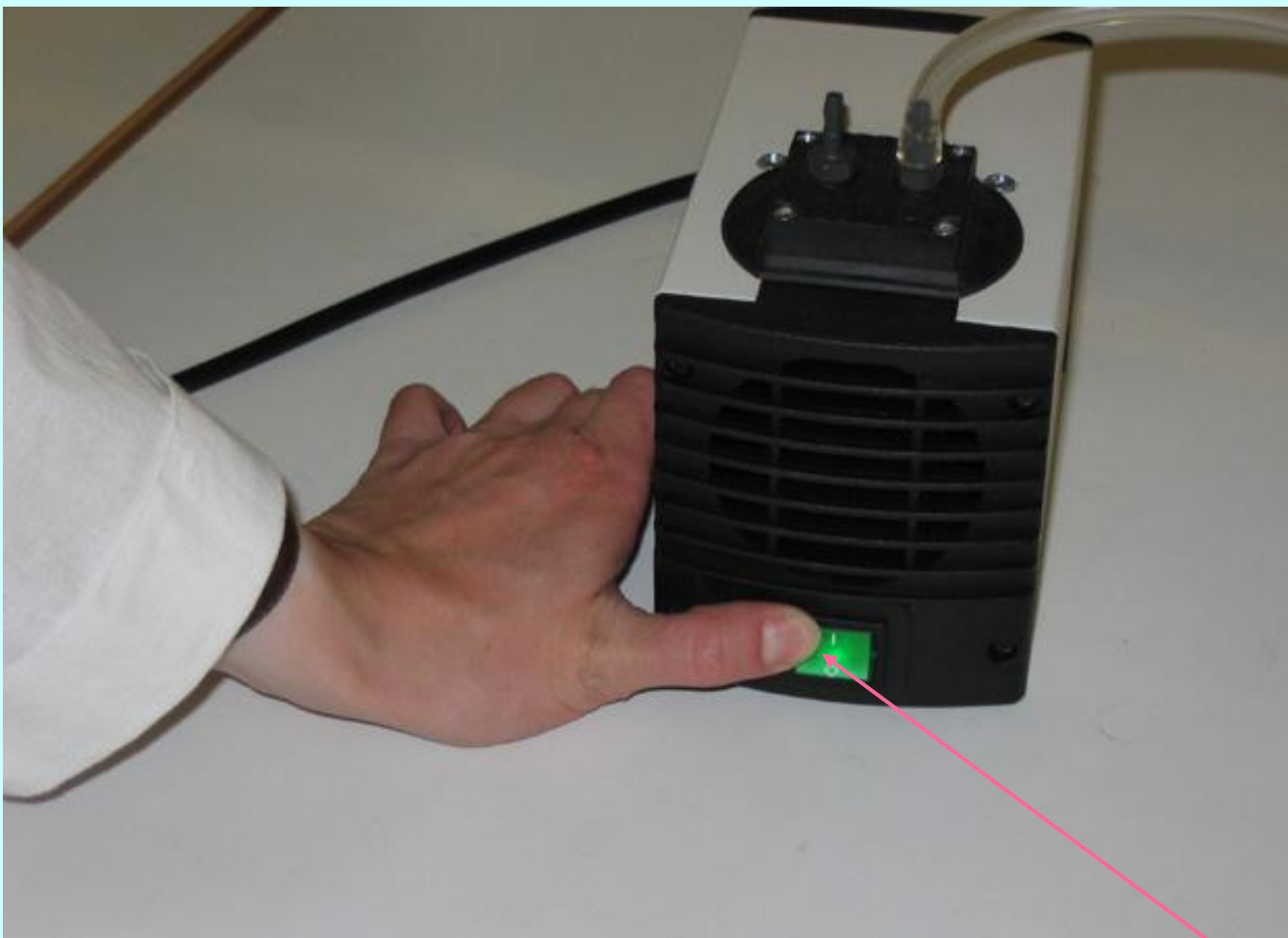
7. Включается вакуумный насос. Запорные краны при этом должны быть закрыты



8. Запорный кран поворачивается в положение, позволяющее поддерживать нужную скорость элюирования



9. Процесс элюирования продолжается до полного выхода элюата

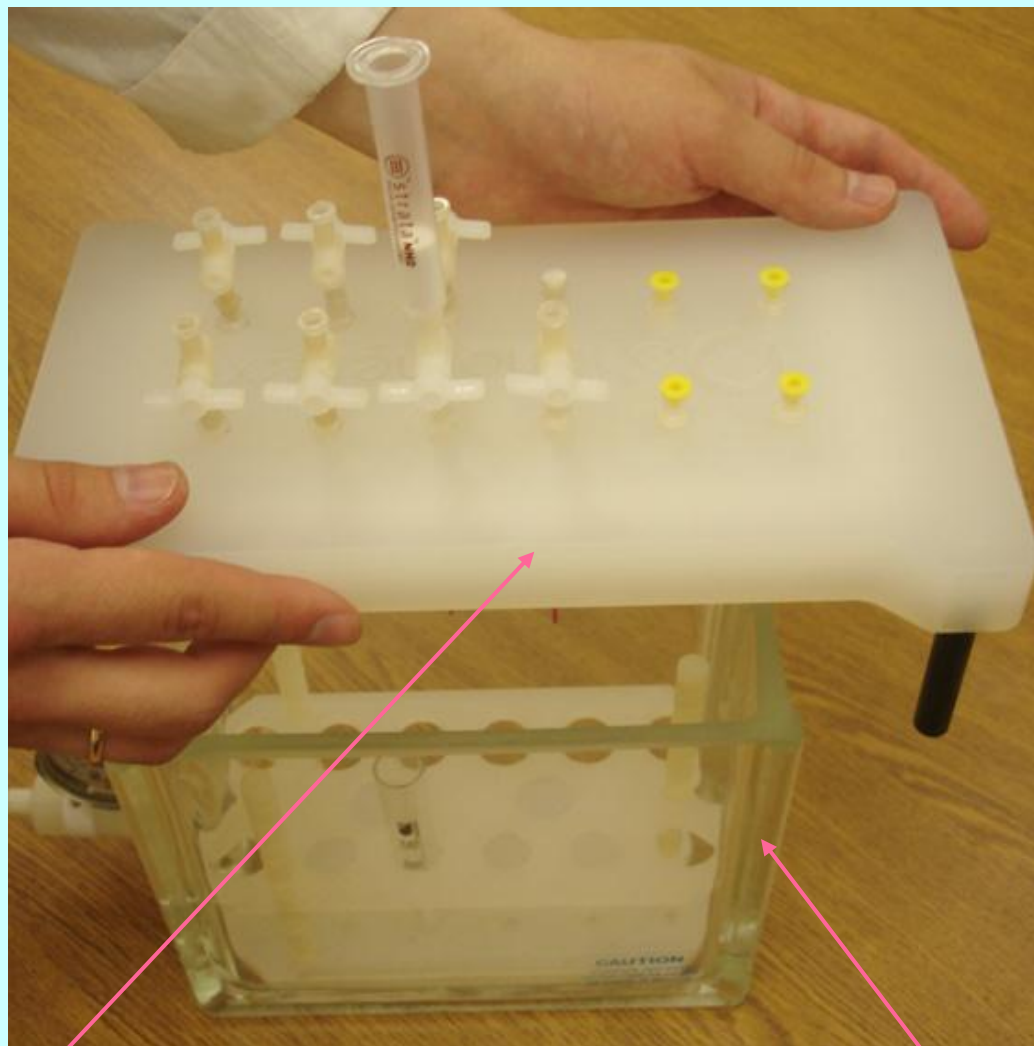


10. По окончании процесса элюирования вакуумный насос  
выключается





11. Вакуум в системе сбрасывают, максимально открывая отверстие вакуумной линии при помощи регулировочного вентиля



12. Крышка устройства снимается с камеры



13. Элюат из пробирки направляется на ВЭЖХ

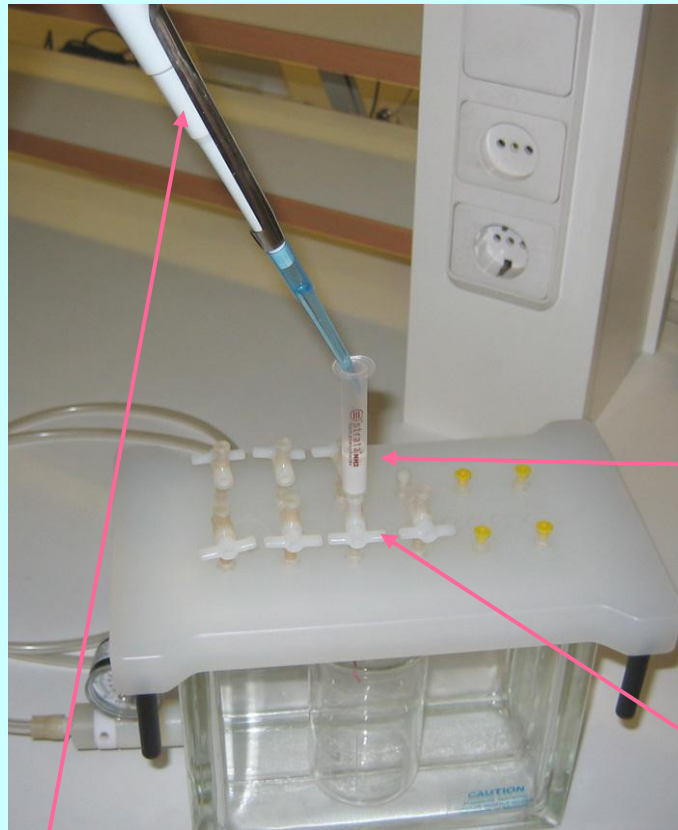
ПРОЦЕСС  
ПРОВЕДЕНИЯ  
НЕУДЕРЖИВАЮЩЕЙ  
ТФЭ

Как отмечалось ранее, при **неудерживающей ТФЭ целевой компонент**, растворенный в нанесенной пробе, **не удерживается на сорбенте** (в картридже). Поэтому в данной модификации метода отсутствуют процессы сушки и промывки сорбента, а элюирование целевого компонента происходит одновременно с нанесением пробы.

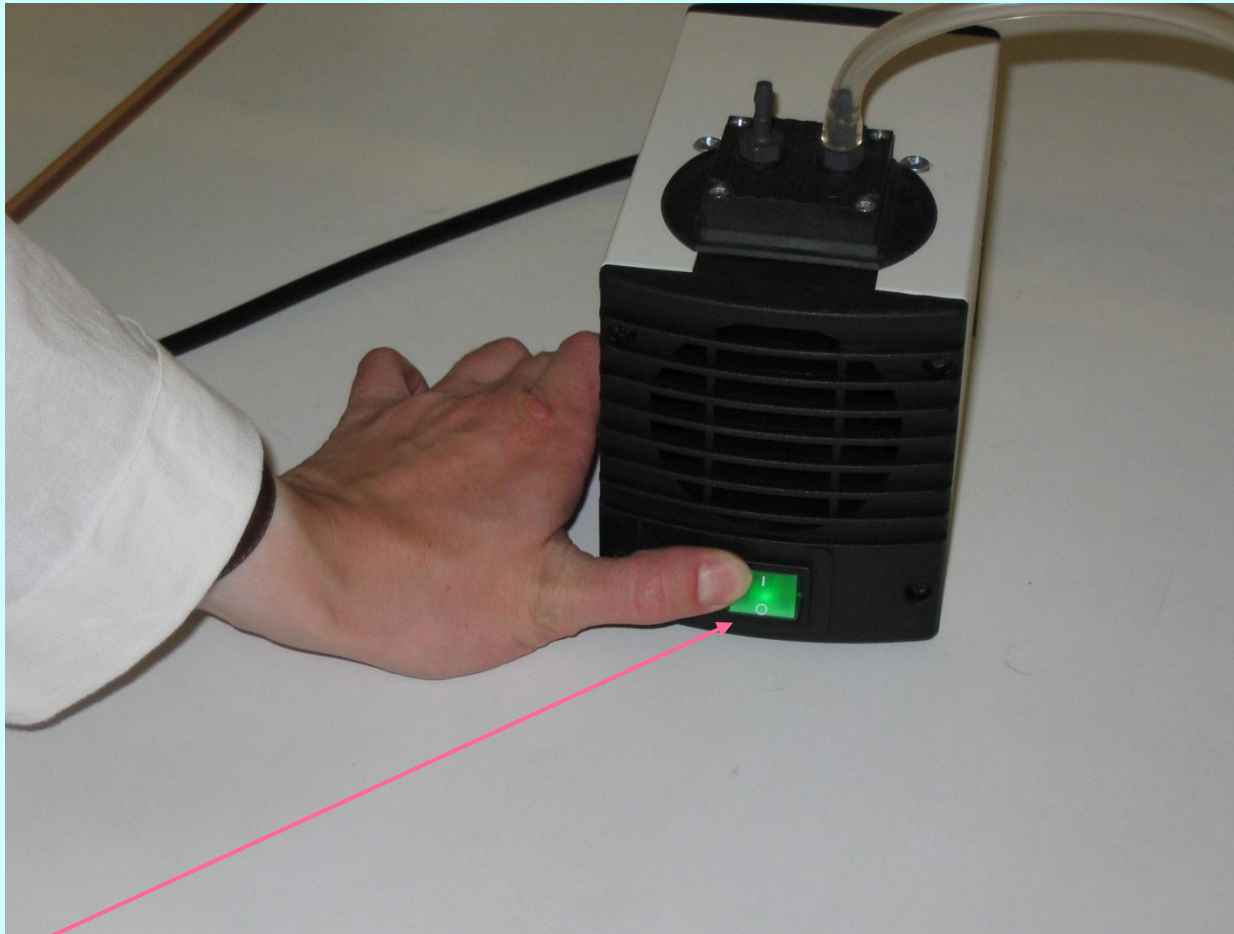
С практической точки зрения важен выбор посуды для сбора элюата, содержащего целевой компонент. Емкость для сбора должна иметь соответствующий **объем, превышающий объем наносимой пробы**. Кроме того, в большинстве случаев важен выбор материала, из которого она изготовлена. Например, для пробоподготовки при анализе большинства органических низкомолекулярных веществ предпочтительнее использовать стеклянную посуду, в то время как в случае ионнообменных процессов лучшим вариантом является посуда из полимеров – полиэтилена или полипропилена.

Далее представлена последовательность проведения процесса **неудерживающей ТФЭ**.

# КОНДИЦИОНИРОВАНИЕ / УРАВНОВЕШИВАНИЕ

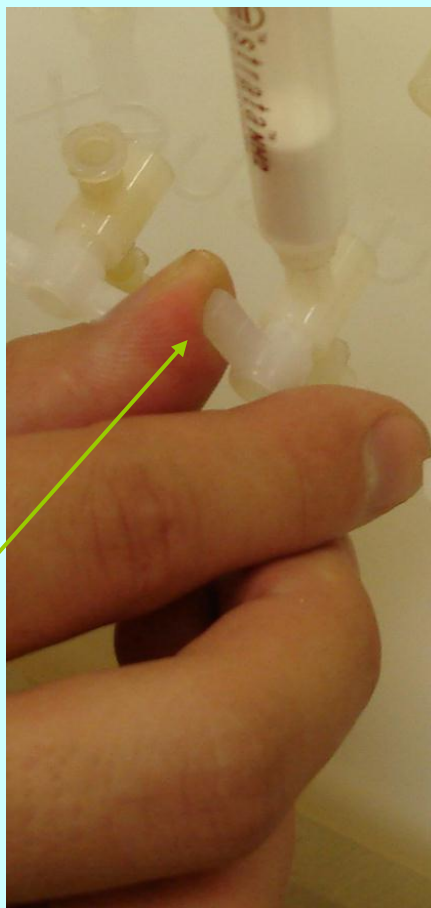


1. С помощью пипет-дозатора или пипетки на патрон наносится жидкость для кондиционирования/уравновешивания. Запорный кран под патроном должен быть **закрыт** (ручка установлена перпендикулярно оси протекания жидкости)



2. Включается вакуумный насос. Запорные краны при этом должны быть закрыты

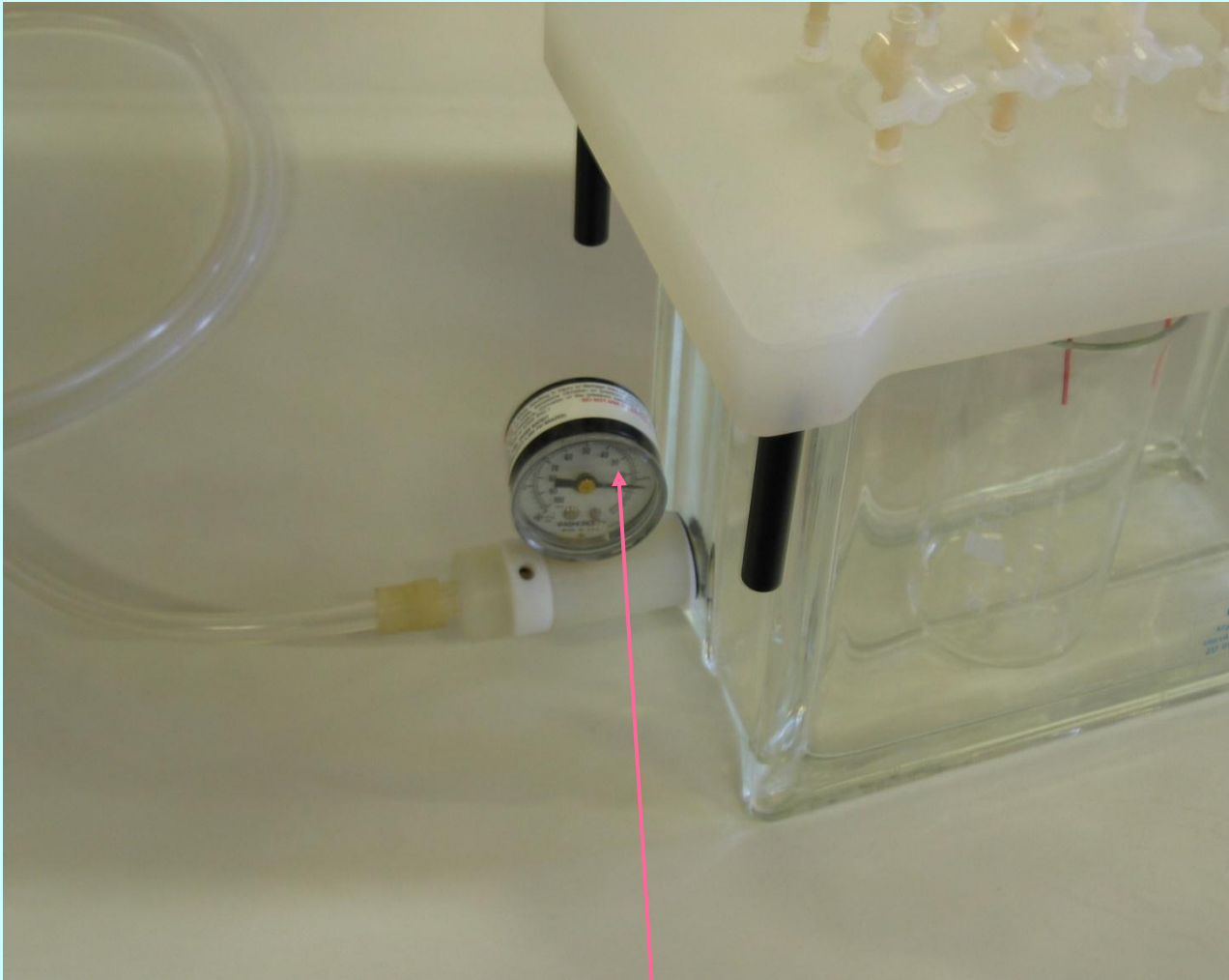




3. Запорный кран поворачивается в положение, позволяющее поддерживать нужную скорость элюирования. Управление скоростью потока жидкости, проходящей через патрон, осуществляется с помощью запорного крана,



а также регулированием давления в системе (путем изменения размера отверстия в вакуумной линии регулирующим вентилем или с помощью незадействованных для твердофазной экстракции запорных кранов)

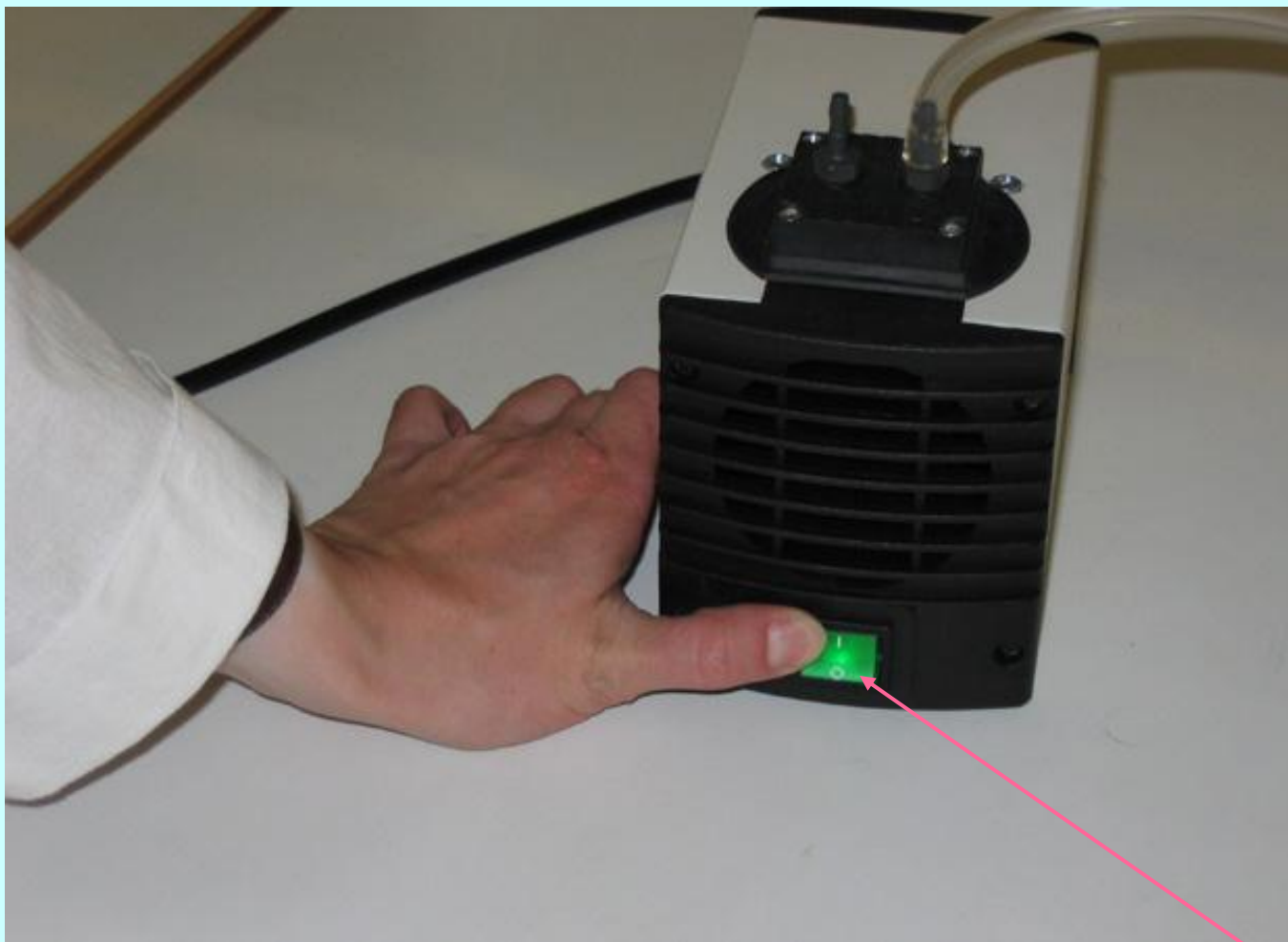


Во время элюирования вакуум желательно поддерживать на уровне примерно 30-40 кПа (по показанию манометра).

**ВНИМАНИЕ!** Необходимо помнить, что предельно допустимый уровень давления составляет 65 кПа



4. Элюат собирается в емкости для слива

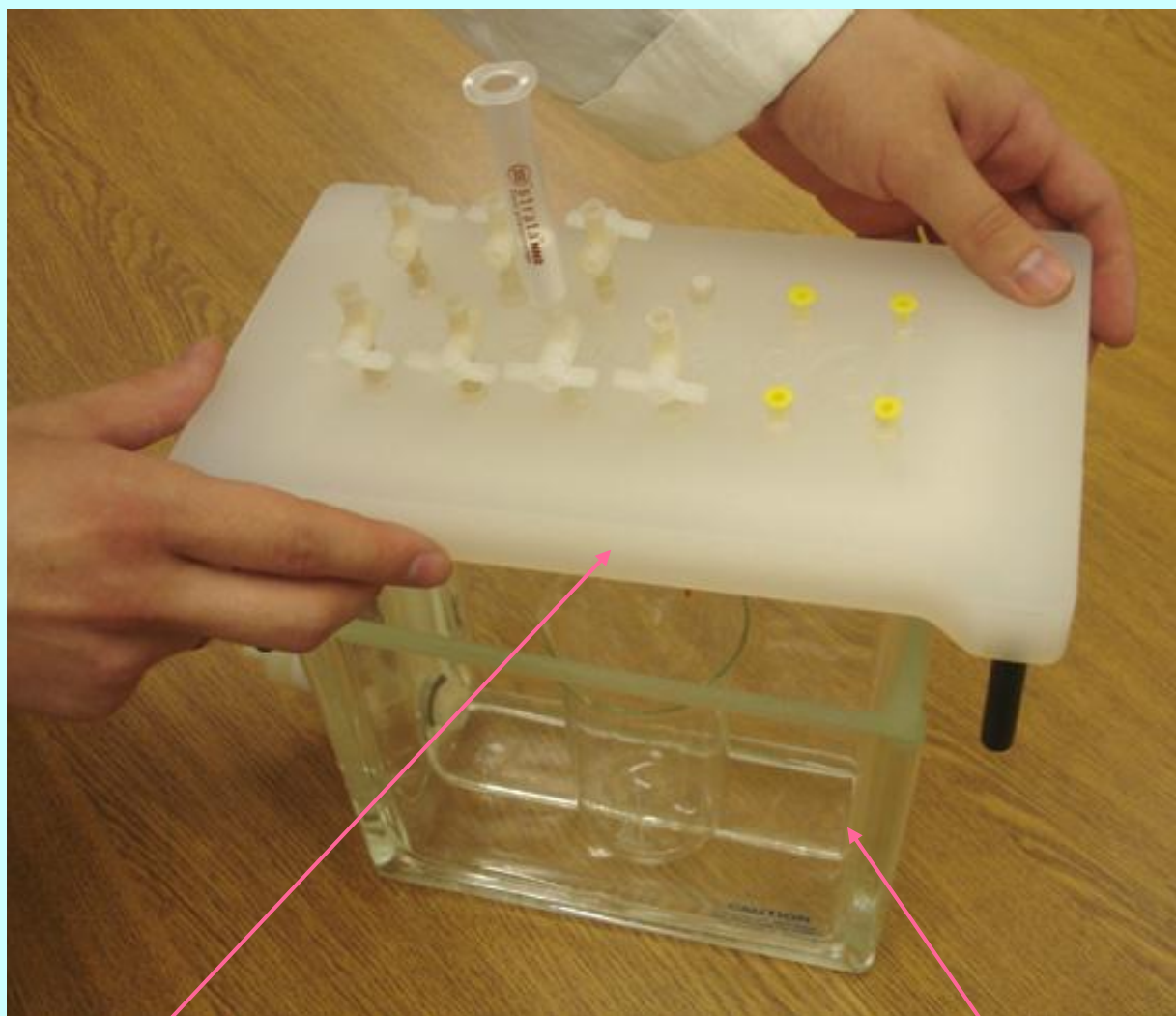


5. По окончании процесса элюирования вакуумный насос  
выключается



6. Вакуум в системе сбрасывают, максимально открывая отверстие вакуумной линии при помощи регулировочного вентиля

[вернуться к неудерживающей экстракции](#)

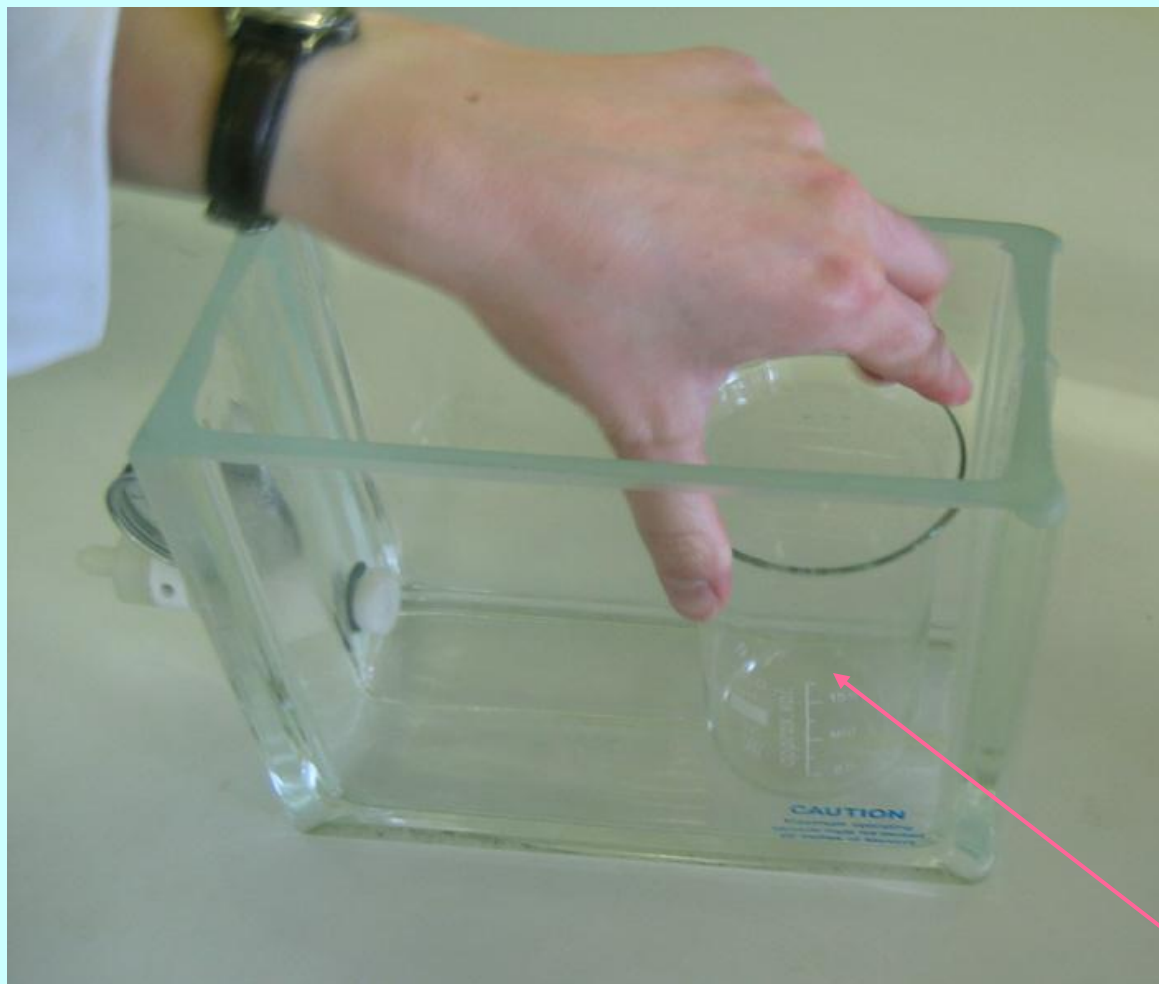


7. Крышка устройства снимается с камеры



8. После кондиционирования и уравнивания сорбента стакан удаляется из камеры и меняется на емкость для сбора элюата с целевым компонентом





Для сбора элюата, содержащего целевой компонент при неудерживающей ТФЭ возможно использование стакана

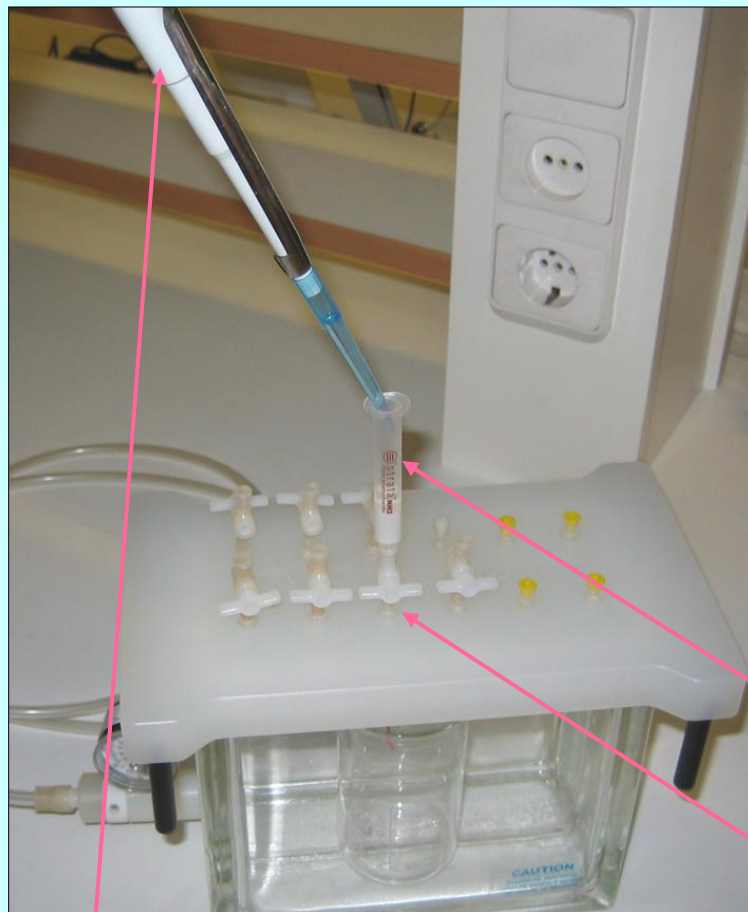
**НАНЕСЕНИЕ ПРОБЫ /**  
**ЭЛЮИРОВАНИЕ**  
**ЦЕЛЕВОГО КОМПОНЕНТА**



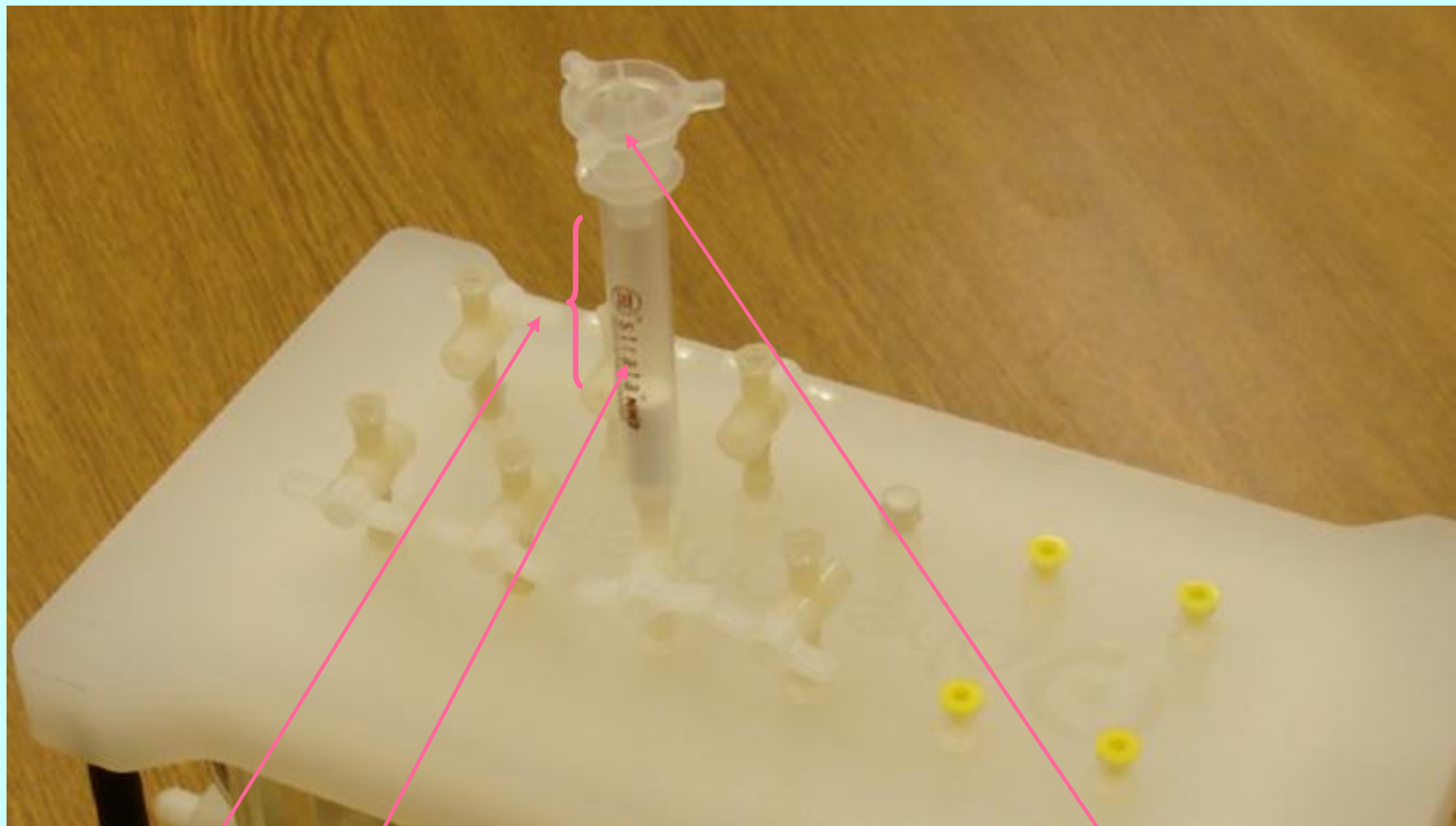
За процессами кондиционирования и уравнивания  
следует элюирование целевого компонента

1. Для нанесения проб больших объемов применяются  
резервуары с адаптерами.

В качестве резервуара может быть использован корпус  
обычного одноразового медицинского пластикового шприца

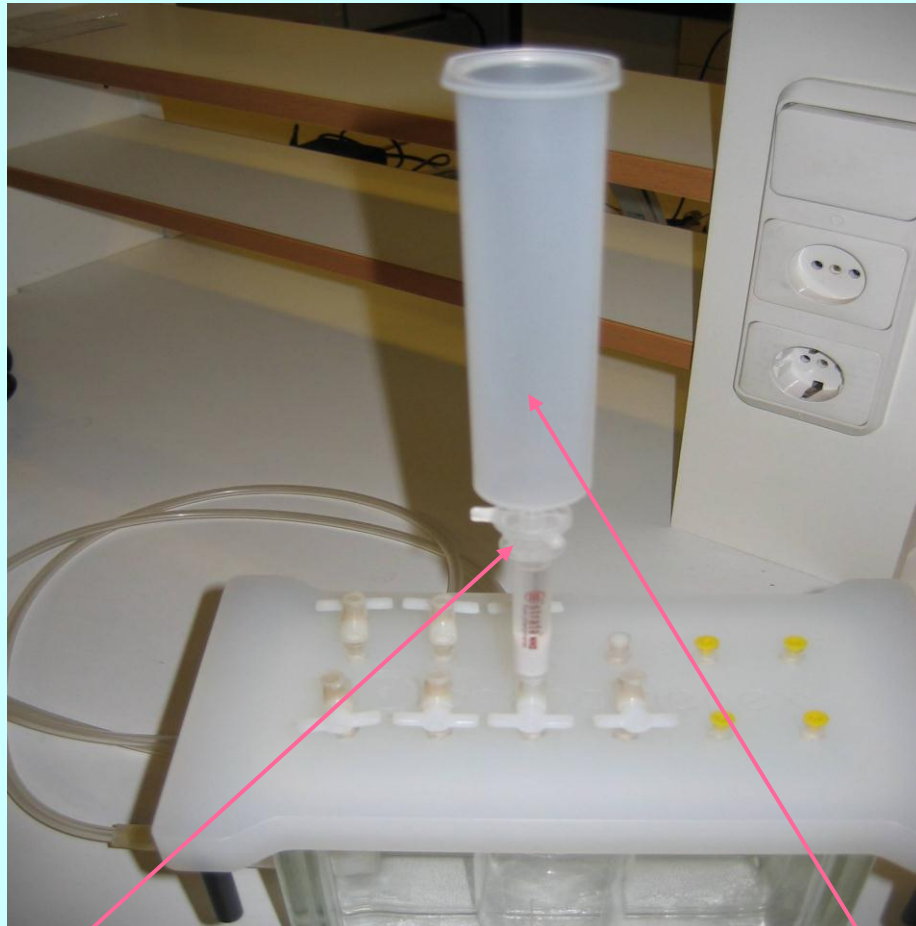


2. С помощью пипет-дозатора или пипетки на патрон наносится количество пробы, составляющее около  $3/4$  вместимости патрона. Запорный кран под патроном должен быть **закрыт**

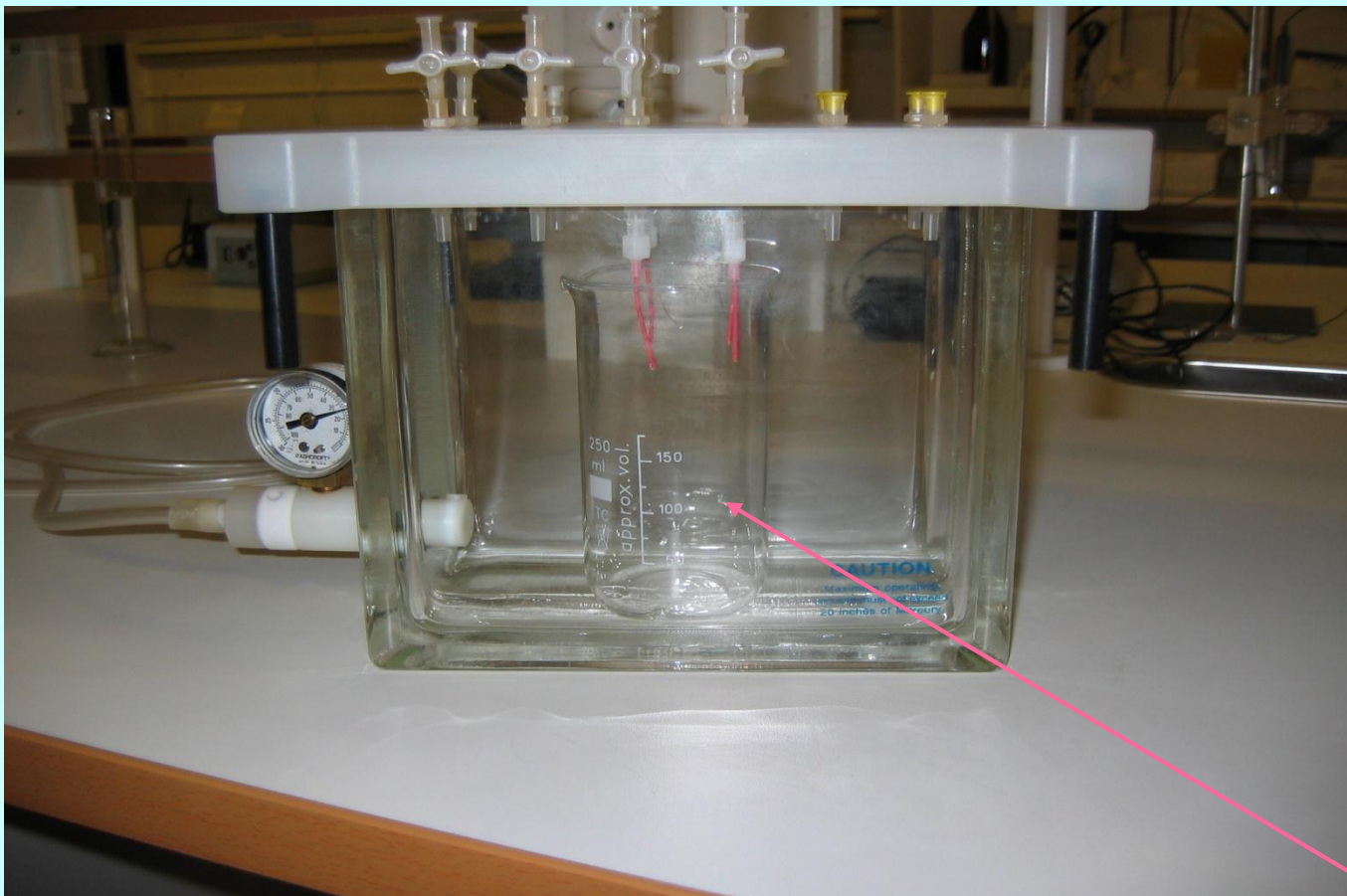


3. К патрону присоединяется адаптер.

Это необходимо, если объем пробы по сравнению с «мертвым» объемом патрона достаточно велик – чтобы постоянно не подливать пробу в патрон



4. К адаптеру присоединяется резервуар



5. В резервуар наливается оставшийся объем пробы. Проводят элюирование аналогично описанному на слайдах выше ([см](#)). Режим элюирования подробно описан в методиках выполнения измерений и методических указаниях.

**ВНИМАНИЕ!** Помните, что целевой компонент при неудерживающей ТФЭ после элюирования содержится в емкости для сбора элюата, т.е. в данном случае в стакане



6. По окончании элюирования емкость с элюатом, содержащим целевой компонент, извлекается из камеры и направляется на ВЭЖХ