

常规硅胶基质高效液相色谱柱使用说明

一、验收色谱柱

收到新色谱柱时请马上按色谱柱检测报告方法测试，以确认色谱柱品质。色谱柱是消耗品，因使用状况不同，其寿命相差甚大。本公司交货之后，以 15 天为测试期，若无异常现象，则视为验收合格。

具体检测方法参照色谱柱检测报告。由于仪器条件、实验条件不同，实际测试结果与检测报告结果可能有差异，差异在-30%~20%之间均为正常范围。窄径柱（如 ID2.0mm）在常规 HPLC 仪器上测试，需要更换微量检测池和 0.005 内径管路。如在检测过程中有任何疑问，请与我们联系。

二、样品前处理

- ◇ 用 0.22 μ m 或 0.45 μ m 的微孔滤膜（滤器）过滤样品溶液
- ◇ 如样品不溶于流动相，注意溶解样品的溶剂必须与流动相互溶，以避免发生沉淀，且进样体积尽可能小。

三、安装色谱柱

- ◇ 安装前，先以乙腈（反相）或正己烷（正相）清洗整个系统。
- ◇ 检查系统流路不得有气泡存在，气泡会造成色谱柱填料间隙从而影响色谱柱性能。
- ◇ 按色谱柱标明的方向接上色谱柱，逐步增大流速至所需流速。直至系统平衡。一般平衡系统所需的流动相为 10-30 倍柱体积。含盐流动相先用不含盐的相同比例配比的溶剂进行过渡，避免流动相中的盐析出。
- ◇ NH₂ 和 CN 柱从正相转到反相条件，或者从反相转到正相条件，必须先用异丙醇或 THF 进行过渡。

注意：任何时候更换流动相时都必须确保溶剂可互溶，不会导致盐结晶析出；任何时候都要避免系统压力的突然变化。

四、色谱柱清洗程序

反相：流动相冲洗 30min 或至实验中最后一个峰的保留时间 2 倍；

乙腈/水（5/95）10 倍柱体积（非盐流动相可省略）；

梯度到乙腈/水（95/5），冲 10 倍柱体积；

正相：流动相冲洗 30min 或至实验中最后一个峰的保留时间的 2 倍；

乙腈/正己烷 (1/99) 10 倍柱体积；

异丙醇/正己烷 (20/80) 10 倍柱体积。

离子交换：流动相冲洗 30min 或至实验中最后一个峰的保留时间的 2 倍；

甲醇/水 (5/95) 10 倍柱体积；

甲醇 10 倍柱体积。

五、色谱柱的保存

反相：乙腈/水 (65/35)

正相：乙腈/正己烷 (1/99)

离子交换：甲醇

六、色谱柱简单再生程序

反相：以下溶剂各冲洗 10 倍柱体积

乙腈/水 (5/95)、THF (或异丙醇)、乙腈/水 (95/5)

正相：以下溶剂各冲洗 10 倍柱体积

正己烷、二氯甲烷、异丙醇、二氯甲烷

硅胶柱 (Si) 除水：30ml 2.5% 2,2-二甲氧基丙烷和 2.5%冰醋酸的 正己烷溶液冲洗。

离子交换：以下溶剂各冲洗 10 倍柱体积

500mM 磷酸缓冲液 pH7、10%乙酸、水、500mM 磷酸缓冲液 pH7、水、甲醇

七、其他注意事项

- ✧ 最高使用温度：60°C
- ✧ pH 范围：反相通常 2.0-8.0，具体参照各固定相的详细说明或直接与我们联系
- ✧ 最高压力：3500psi (245bar)
- ✧ 最高流速：依实际压力而定
- ✧ 流动相使用：使用 HPLC 级试剂和超纯水，用 0.45µm 微孔滤膜过滤