

## HP-C18 色谱柱使用手册

### 色谱柱信息

HP-C18 键合固定相采用独特的创新设计，以高纯度具有良好机械稳定性的硅胶为基质，通过采用高纯度键合试剂，最大限度实现单层官能团的覆盖和完全的残余硅醇基封尾，碳载量为 17.0%。其键合单分子层形成和封尾收到严格控制，保证了色谱柱间的高度重现性。HP-C18 柱具有最大表面覆盖率，因此具有优异的稳定性。该填料为均一的球形颗粒，粒径为 3  $\mu\text{m}$ 、5  $\mu\text{m}$  和 10  $\mu\text{m}$ ，孔径 120  $\text{\AA}$ ，比表面积 300  $\text{m}^2/\text{g}$ 。色谱柱采用专利匀浆装填技术，实现柱床密度均一稳定，因此可保证具有最高的柱效。HP-C18 柱特别为极性和亲水性的化合物分离而设计，保留效果强且选择性好。专利的表面修饰使其可以使用高比例水相或纯水相作为流动相。该款色谱柱可用于分离各种极性和非极性化合物，例如药物、多肽、氨基酸、寡核苷酸、低聚糖和有机酸等的分离。

### 稳定性和性能

HP-C18 柱使用的是被完全覆盖的键合硅胶填料，因此具有优异的化学稳定性。图 1 显示，在 HP-C18 柱上运行 13000 CV (Column Volume, CV) 流动相 (甲醇: 水=85: 15, v/v) 后，三种标准化合物苯胺、苯甲醚和甲苯的保留时间仍具有极高的重复性。

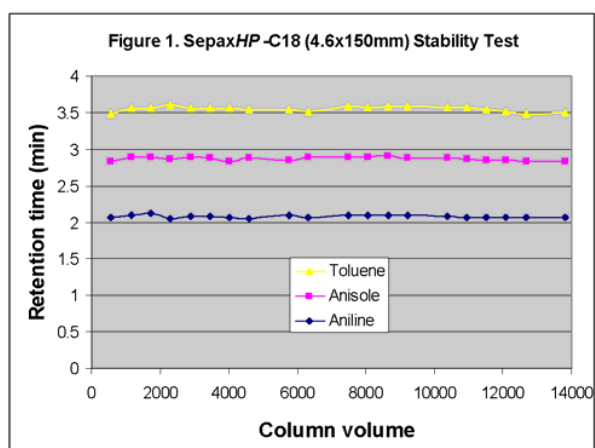


图 1: HP-C18 (4.6×150 mm) 稳定性试验

这种高稳定性使 HP-C18 柱非常适合多种分析物的验证。其独特的单官能团化学键合技术可避免形成复合的 C18 分子层，均匀的涂层确保固定相具有高选择性和高效率的分离特点。图 2 展示了 4.6×150 mm HP-C18 色

柱的质量控制测试色谱图。

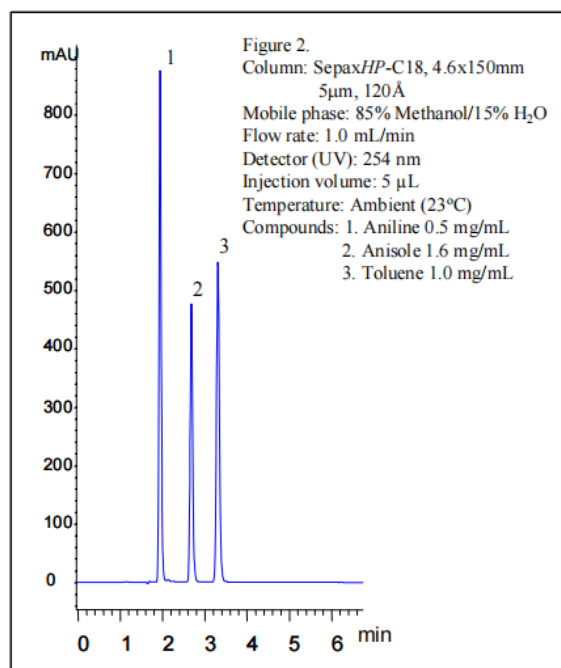


图 2: HP-C18 色谱柱 (4.6×150 mm) 质量控制测试色谱图

色谱柱: HP-C18, 4.6×150 mm, 5  $\mu\text{m}$ , 120  $\text{\AA}$

流动相: 85%甲醇和 15% H<sub>2</sub>O

流速: 1.0 mL/min

检测器 (UV): 254 nm

进样量: 5  $\mu\text{L}$

柱温: 室温 (23°C)

样品: (1) 苯胺 (0.5 mg/mL); (2) 苯甲醚 (1.6 mg/mL); (3) 甲苯 (1.0 mg/mL)

### 安全注意事项

HP-C18 柱通常在高压下运行。如果管路连接不紧，将会导致有机溶剂和注入样品的泄漏，从而对操作人员的健康产生影响。一旦发生泄漏，应佩戴适当的手套进行处理。另外当打开色谱柱时还应采取适当的保护措施，以防止微小的硅胶颗粒进入呼吸道。

### 色谱柱安装与操作

色谱柱在运输过程中或在没有使用时，它的两端总是用堵头进行密封。当将色谱柱接入色谱仪器系统时，首先移去两端的堵头。请注意将流动相流动的方向与柱上标记的方向保持一致。除非出于特殊考虑，例如为了清除堵在色谱柱入口端的脏污等而需要将色谱柱反接以进行冲洗时，建议用户在接上色谱柱时一定要遵循柱上标记的方向。由于色谱柱的连接是整个色谱操作过程的一部分，如果密封卡套过紧，或安装不合适，或者密封卡套与色谱柱

端口不匹配，都有可能导致溶液的泄漏。请按照下面步骤将色谱柱与密封卡套相连接，从而将色谱柱接入 HPLC 系统：

(a) 第一次使用的管线，请依次将管线接头和密封卡套装在外径 1/16” 的管线上。密封卡套的宽口端应朝向管线接头。

(b) 将管线紧紧插入色谱柱的接口，向前滑动密封卡套和管线接头，并使管线接头的螺纹与色谱柱端口的螺纹相互衔接，然后拧紧管线接头。如果管线为高分子材料，请转到步骤 (d)；如果是金属管线，请继续 (c)。

(c) 在用力将管线压入柱端接口之后，用 1/4” 扳手将已拧紧的螺帽再进一步紧固。

(d) 对色谱柱的另一端采用上述方法进行的操作。

## 色谱柱活化

新的 HP-C18 柱在甲醇或乙腈和水的混合物中运输，在储存和运输过程中，硅胶填料可能会干涸。这时推荐使用 10-20 CV 的纯有机溶剂如甲醇、乙腈等进行冲洗以激活色谱柱。接着可使用流动相冲洗色谱柱，流速由 0.1 mL/min 逐渐升至所需的操作条件，直至基线稳定为止。如果柱压和基线波动较大，这可能是气泡进入了色谱柱中，可用较高流速冲洗色谱柱 2-5 分钟，例如 4.6×150 mm 色谱柱，粒径 5 μm 的柱子可采用流速 2 mL/min，粒径 3 μm 的柱子，流速则需要降低。

## 样品与流动相

为了避免色谱柱的堵塞，所有样品和溶剂，包括缓冲溶液在内，都必须在使用前用 0.45 μm 或 0.2 μm 的滤膜过滤。HP-C18 键合固定相是专门为与水流动相兼容而设计，可以高比例的水相作为流动相。流动相的选择范围较广，包括有机溶剂、含水缓冲液或有机与水的混合物，例如甲醇或乙腈与水。流动相需要脱气后使用，一种简单的脱气方法是在抽水真空下对流动相进行 5 分钟的超声波处理。进行梯度洗脱时 HP-18 色谱柱通常以 5% 甲醇或乙腈作为初始流动相。

## 色谱柱的保养

**pH** 为了获得最佳的分离效果和延长柱的使用寿命，避免 HP-C18 色谱柱在 pH 低于 2 或高于 9 的条件下使用。较高的 pH 会溶解二氧化硅，形成 C18 键合缺陷，导致分离效率损失和保留时间改变。pH 值为 2-9 时性能最佳，使用寿命最长。

**压力** 尽管 HP-C18 色谱柱可以在高达 5,000 psi 的压力下

工作，但正常工作压力通常低于 3,000 psi。在高压下持续使用可能最终损坏色谱柱和输液泵。由于压力来源于流速，因此最大流速将受制于系统所能承受的压力。一般而言，柱压会随着色谱柱使用时间的增加而逐渐增加。压力突然增加预示色谱柱入口端的筛板发生了堵塞。在这种情况下，建议将色谱柱反接后用适宜的溶剂进行冲洗。

**温度** 最高操作温度为 60°C。长时间在高温 (>75°C) 下操作会损坏色谱柱，这种情形在高的 pH (>8) 条件下特别突出。

**储存** 不要让水或缓冲液存留在色谱柱中。在替代缓冲液时，请用至少 20-30 CV 的 50% 甲醇（或乙腈）水溶液冲洗色谱柱，去除含水缓冲液，再用 20-30 CV 的纯有机溶剂如乙腈等进行冲洗。每根色谱柱在运输过程中均会附有两个可拆卸的堵头。为了防止柱床干涸，请用堵头塞紧色谱柱的两端。

HP-C18 产品规格

内径×长度 mm×mm	粒径 μm	孔径 Å	货号
2.1×150			103183-2115
2.1×100	3	120	103183-2110
2.1×50			103183-2105
4.6×250			103183-4625
4.6×150	3	120	103183-4615
4.6×100			103183-4610
4.6×50			103183-4605
2.1×150			103185-2115
2.1×100	5	120	103185-2110
2.1×50			103185-2105
2.1×30			103185-2103
4.6×250			103185-4625
4.6×150			103185-4615
4.6×100	5	120	103185-4610
4.6×50			103185-4605
10.0×250			103185-10025
21.2×250			103185-21225

\*其他规格色谱柱产品及任何问题可致电：400-636-8880 或联系 [marketing@sepax-tech.com.cn](mailto:marketing@sepax-tech.com.cn)。